

PROFIL PLASMID *Escherichia coli* RESISTEN TERHADAP BEBERAPA ANTIBIOTIKA YANG DIISOLASI DARI PETERNAKAN AYAM KOMERSIAL

PLASMID PROFILE OF ANTIBIOTIC RESISTANT *Escherichia coli* ISOLATED FROM COMMERCIAL POULTRY FARM

Michael Haryadi Wibowo¹, Widagdo Sri Nugroho², Widya Asmara¹

¹Bagian Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

²Bagian Kesehatan Masyarakat Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada,
Yogyakarta

Email: mhwibowo@ugm.ac.id.

ABSTRACT

The aim of this study was to find out the plasmid profile of the antibiotic resistant *E. coli*, to ampicillin, streptomycin and enrofloxacin. Eight of *E. coli* isolates have been identified and further assessed for sensitivity to these antibiotics, which then were isolated their plasmids. The antibiotic resistant *E. coli* were cultured on lactose broth, incubated in a shaker incubator at 37° C overnight. Cell collection has been done by centrifugation at 12.000 rpm for 5 minutes two times. Plasmid isolation was carried out by lyses alkali method, using solution I, II, and III. Plasmid precipitation was done by added of 3 M Na acetate and ethanol absolute. Plasmid profile was performed on 1% agarose on electrophoretic analysis using plasmid marker. The result indicated that the *E. coli* resistant antibiotics have one to three of plasmids and its profile appears as fluorescent pita upon ultraviolet radiation, which indicated as a mega plasmid on the 4268 bp, 4973 bp, 5148 bp, and between 5148 bp - 21226 bp. Each *E. coli* isolate showed 1 to 3 DNA pitas of plasmids.

Key words: *Escherichia coli*, resistance, plasmid profile

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil plasmid *E. coli* yang resisten terhadap ampicilin, streptomisin dan enrofloksasin. Delapan isolat *E. coli* yang telah diidentifikasi dan diuji sensitivitasnya terhadap ketiga antibiotik tersebut, selanjutnya diisolasi plasmidnya. Isolat *E. coli* dipupuk pada kaldu laktosa diinkubasi dalam *shaker incubator* pada suhu 37° C semalam. Sel dipanen dengan sentrifugasi 12.000 rpm, selama 5 menit sebanyak dua kali. Isolasi plasmid dilakukan dengan metode lisis alkali menggunakan larutan lisis I, II, dan III. Presipitasi plasmid dilakukan dengan 3 M Na asetat dan ethanol absolut. Profil plasmid dibaca pada agarosa 1%, setelah dilakukan elektroforesis menggunakan marker plasmid. Hasil penelitian menunjukkan profil plasmid DNA *E. coli* tersebut teramati sebagai pita-pita DNA yang berpendar oleh pendedahan sinar ultraviolet. Plasmid yang terisolasi mempunyai ukuran yang sangat besar atau mega plasmid yaitu terletak pada 4268 bp, 4873 bp, 5148 bp dan terletak di antara 5148 bp dan 21.226 bp. Masing-masing isolat *E. coli* memiliki jumlah plasmid yang bervariasi antar 1 sampai 3 plasmid DNA.

Kata kunci: *Escherichia coli*, resistensi, profil plasmid

PENDAHULUAN

Escherichia coli (*E. coli*) pada ayam, umumnya dikenal sebagai bakteri normal yang ada di dalam saluran pencernaan. Bakteri ini seringkali dikaitkan sebagai infeksi sekunder yang memperburuk kondisi inang setelah adanya infeksi primer oleh agen penyakit lain. Dewasa ini banyak diketahui strain *E. coli* yang diisolasi dari unggas merupakan strain yang patogen, dikenal sebagai *avian pathogenic escherichia coli* (APEC). Serotipe tersebut didominasi 3 serogroup yaitu: O1, O2 dan 78 (Mellata dkk., 2003). Salah satu cirinya mempunyai kemampuan berkolonisasi pada organ internal, di luar sistem pencernaan (Knobl dkk., 2006). Kemampuan menyebar bakteri APEC secara sistemik menyebabkan lesi khas pada berbagai organ, antara lain: perihepatitis, perikarditis, airsakulitis, mesenteritis, ooforitis, salphingitis, arthritis, panopthalmitis dan selulitis (Lafont dkk., 1987; Melata dkk., 2003).

Penanganan kasus kolibasilosis pada umumnya menggunakan antibiotika. Dosis antibiotika yang kurang tepat dan pemakaian yang terlalu sering menimbulkan resistensi (Bogaard dkk., 2001; Brander dkk., 1991). Menurut Black (1999), resistensi adalah berkurangnya pengaruh obat anti infeksi terhadap bakteri atau secara alamiah bakteri tidak sensitif terhadap antibiotika. Gan (1983) mendefinisikan, resistensi merupakan kegagalan pengobatan dengan suatu antibiotika dengan dosis terapi. Ada tiga tipe resistensi yang diketahui yaitu resistensi non genetik, resistensi genetik dan resistensi silang. Resistensi non genetik terdapat pada bakteri dalam keadaan inaktif atau istirahat, resistensi genetik merupakan mutasi gen yang bersifat spontan tanpa dipengaruhi antibakteri,

sedangkan resistensi silang adalah resistensi bakteri terhadap suatu antibiotika tertentu dan antibiotika lain yang mempunyai struktur hampir sama (Gan, 1983; Brander dkk., 1991). Bakteri menjadi resisten terhadap agen antibakteria karena mutasi, transformasi, transduksi maupun konjugasi (Goodman dan Gilman, 1970; Timoney dkk., 1991). Mekanisme resistensi dapat melalui berbagai cara, antara lain: penginaktifan obat, perubahan target atau struktur enzim, penurunan akumulasi obat oleh sel, adanya variasi jalur metabolik maupun peningkatan konsentrasi metabolik (Brander dkk., 1991; Prescott, 2000).

Mekanisme resistensi melalui proses mutasi tidak diketahui karena beberapa spesies mikroorganisme bermutasi secara spontan. Transformasi terjadi pada biakan karena mikroorganisme yang sensitif memperoleh *deoxyribonucleic acid* (DNA) dari mikroorganisme yang bermutasi secara spontan. Transduksi terjadi bila faktor resistensi dipindahkan dari satu mikroorganisme yang resisten ke mikroorganisme yang sensitif dengan perantaraan bakteriofag. Konjugasi terjadi dengan cara kontak langsung antara sel mikroorganisme sehingga terjadi pemindahan resistensi (Gan, 1983; Prescott, 2000). Berdasarkan lokasi gen dikenal resistensi kromosomal dan resistensi ekstra kromosomal. Resistensi kromosomal terjadi secara spontan pada lokus yang bertanggungjawab mengendalikan kepekaan terhadap suatu antibiotika. Resistensi ekstra kromosomal terjadi karena adanya pemindahan gen atau pendukung gen dari satu bakteri ke bakteri yang lain, dari satu keturunan yang sama atau berlainan (Prescott, 2000). Menurut Black (1999) transfer plasmid resistensi, dapat terjadi tidak hanya dalam spesies tetapi dapat terjadi antar spesies

dalam satu genus. Mekanisme resistensi yang berhubungan dengan permeabilitas membran (termasuk membran luar) dikode secara kromosomal (Cookey, 1991).

Plasmid adalah elemen genetik DNA yang stabil untuk diturunkan dan bereplikasi secara independen dari kromosom bakteri. Plasmid mempunyai berat molekul dari 1 MDa sampai ratusan MDa (Black, 1999; Nicklin dkk., 1999; Timoney dkk., 1991). Menurut Nicklin dkk., (1999) ukuran plasmid bervariasi, dari 2,1 kb atau berat 1,8 MDa sampai 213 kb atau berat 142 MDa. Black (1999) maupun Nicklin dkk., (1999) menjelaskan bahwa adanya plasmid baru terlihat apabila gen yang dikandungnya memberikan sifat-sifat baru pada inang. Umumnya plasmid tersebut dinamai sesuai sifat plasmid tersebut, misalnya: plasmid resistensi, plasmid virulensi, plasmid degradatif, seks-plasmid dan Kol-plasmid. Sel bakteri dapat mempunyai satu jenis atau lebih DNA ekstra kromosomal atau plasmid. Secara umum plasmid membawa gen yang penting bagi bakteri tetapi bukan gen yang esensial untuk pertumbuhan dan pembelahan sel bakteri. Di samping itu diketahui ada plasmid bakteri yang tidak mempunyai fungsi yang disebut dengan *cryptic plasmid*.

Escherichia coli yang diisolasi dari kasus kolibasilosis dari sejumlah ayam komersial di Daerah Istimewa Yogyakarta dan Jawa Tengah menunjukkan reaksi positif pada media *congo red* dan patogen terhadap embrio ayam (Nugroho dkk., 2002). Isolat-isolat tersebut juga menunjukkan reaksi resisten terhadap beberapa antibiotika tertentu yang banyak digunakan di lapangan (Nugroho dan Wibowo, 2005). Apabila sifat resistensi (R) tersebut disandi oleh plasmid, ada kekhawatiran sifat tersebut

ditransfer ke bakteri lain yang *compatible* sehingga dapat membahayakan ekologi bakteri di lingkungan. Menurut Black (1999), transfer plasmid R terjadi tidak hanya dalam satu spesies tetapi dapat terjadi dalam satu genus seperti *Klebsiella*, *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*. Transfer plasmid R menjadi penting karena meningkatkan populasi resistensi bakteri di alam dan mengurangi efektifitas pengobatan.

MATERI DAN METODE

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah: delapan isolat bakteri *E. coli* positif *congo red* koleksi Lab. Mikrobiologi, FKH, UGM, (Tabel 1), kaldu laktosa dan larutan kimia, yaitu: larutan lisis I (50 mM glukosa, 25 mM Tris-ce (pH 8,0), 10mM EDTA); larutan lisis II (0,2 N NaOH dan 1 % SDS), larutan lisis III (3 M Kalium asetat pH 4,8); larutan Tris-EDTA (TE): 0,12 g tris, 0,037g EDTA, dalam aquades 100 mL; larutan TEB: 10 mM Tris-HCl + 1 ml Na EDTA, RNase (10 mg/ml): 10 mg RNase + 1 mL Buffer B (10mM Tris-HCl+10 mM EDTA+ 10mM NaCl, pH 7,4); larutan pewarna biru bromfenol terdiri atas: Ficoll 3 %, EDTA 1mM, biru bromfenol 0,025% dan etidium bromida 5 µg/ml, chloroform isoamyl alkohol (CIAA), natrium asetat 3 mol dan 70% etanol dingin; serta agarosa 1% (FMC *bioproduct*). Plasmid marker Lambda DNA/EcoRI+ Hind III.z

Peralatan utama yang digunakan adalah : shaker inkubator, vorteks, ultrasentrifugasi, tabung ependorf (sigma), mikro pipet, perangkat elektroforesis, perangkat deteksi pita DNA yang dilengkapi sinar ultraviolet, kamera pollaroid model MP-4 (Sigma).

Tabel 1. Daftar *Escherichia coli* yang diteliti

No.	Nama Isolat	Jenis peternakan	Lokasi
1.	Ec/Ksg/Bro/1/2002	Broiler	Kasongan, Bantul, DIY
2.	Ec/Wno/Lay/2/2002	Layer	Wonosari, Gunungkidul, DIY
3.	Ec/Sdy/Bro/3/ 2002	Broiler	Sedayu, Bantul, DIY
4.	Ec/Mgl/Bro/4/2002	Broiler	Magelang, Jawa Tengah
5.	Ec/Rosa/Lay/5/2001	Layer	Sleman, DIY
6.	Ec/Swn/Bro/6/2002	Broiler	Sewon, Bantul, DIY
7.	Ec/Smg/Bro/7/2002	Broiler	Semarang, Jawa Tengah
8.	Ec/Kls/8/2002	Broiler	Kalasan, Jawa Tengah

Setiap sampel sebanyak 300 µl dibiakkan dalam 5 mL media kaldu laktosa dan diinkubasi dalam *shacker inkubator* pada suhu 37°C, 24 jam. Sel yang dipanen dengan tabung tabung eppendorf 1,5 ml, disentrifugasi pada kecepatan 1200 rpm 5 menit, diulangi sebanyak dua kali dan selanjutnya diisolasi plasmidnya. Pelet hasil sentrifugasi diresuspensi dengan 200 µl larutan lisis I. Setelah dibiarkan 30 menit, ke dalam suspensi tersebut ditambahkan larutan lisis II sebanyak 500 µL dan dibiarkan selama 5 menit. Larutan lisis III ditambahkan ke dalam suspensi tersebut dan setelah didiamkan selama 30 menit, suspensi disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 5 menit. Supernatan yang diperoleh dipindahkan ke dalam tabung eppendorf baru, ditambah phenol CIAA (1:1 dengan volume supernatan), serta di vortex selama 1 menit kemudian disentrifus lagi 12000 rpm selama 5 menit. Plasmid dalam supernatan dipindahkan ke tabung eppendorf baru.

Sebelum dipresipitasi pada suhu -80°C selama 30 - 60 menit, larutan plasmid ditambah 3 M Na.asetat (1/10 volume supernatan) dan etanol absolut (1:1). Larutan plasmid dicuci dengan cara disentrifugasi 12000 rpm selama 5 menit, dan dikeringkan. Plasmid (endapan) ditambah TE buffer. Pemurnian plasmid dilakukan dengan menambahkan 10 µL Rnase (10 mg/l),

diinkubasikan 37°C selama 1 jam, ditambahkan phenol, divortex selama 1 menit dan disentrifugasi pada kecepatan putar 12000 rpm selama 5 menit. Larutan plasmid diambil dan dimasukkan tabung eppendorf baru ditambah 3 M Na.asetat (1/10 vol. supernatan) dan ditambah etanol absolut (1:1), diinkubasikan -70°C selama 1 jam. Larutan plasmid selanjutnya disentrifus 12000 rpm selama 5 menit. Supernatan dibuang dan endapan (plasmid) dicuci dengan etanol 70 % kemudian disentrifus kembali. Endapan plasmid dikeringkan. Setelah kering ditambahkan TE buffer dan disimpan dalam suhu 4°C sebelum dielektroforesis.

Plasmid yang diperoleh diperiksa dengan elektroforesis gel agarosa. Konsentrasi agarosa yang dipakai adalah 1% (FMC *bioproduct*) dan DNA yang dielektroforesis sebanyak 15 µL. Plasmid diwarnai dengan pewarna biru bromfenol, sebagai pempitaing dipakai penanda berat molekul DNA (marker) produksi Sigma. Elektroforesis dengan larutan penyangga Tris-TBE pH 8,0 dijalankan dengan potensi listrik 110 V selama 60 menit sampai tanda warna biru bromfenol mencapai tanda garis akhir gel. Plasmid diwarnai dengan cara direndam dalam etidium bromida 5 µl/ml selama 10 menit. Plasmid yang terwarnai akan terlihat sebagai pita DNA yang berpendar berwarna *orange fluoresence* oleh sinar ultra violet. Pita-pita DNA tersebut didokumentasi

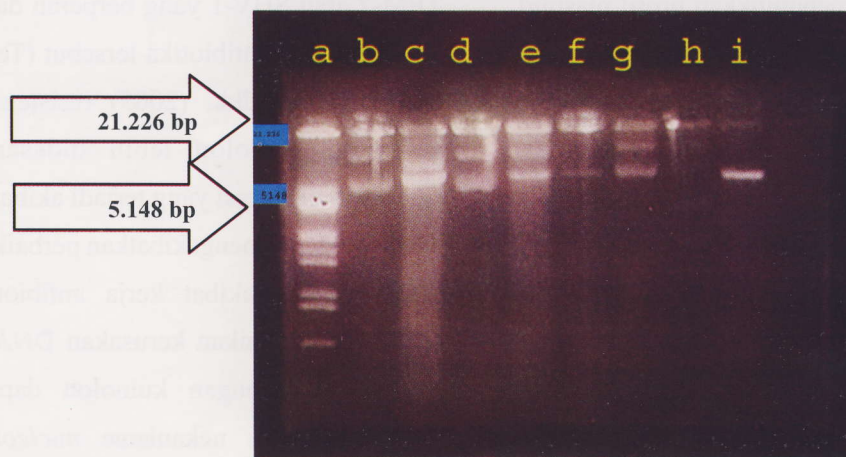
dengan menggunakan kamera foto pollaroid model no. 34-40 MP-4 sistem kamera, film C.276671. Profil plasmid dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolat *E.coli* dalam penelitian ini merupakan isolat ayam yang patogen yaitu yang mampu mengikat zat warna merah kongo serta patogenik pada embrio ayam (Berhoff dan Vinal, 1986; Nugroho dkk., 2002). Bakteri *E.coli* dengan karakter

penotip tersebut telah diuji sensitivitasnya terhadap antibiotika tertentu yang banyak digunakan di peternakan ayam, yaitu: ampisilin, streptomisin, dan enrofloksasin. Hasil sensitivitas terhadap 8 isolat bakteri terhadap ketiga jenis antibiotik tersebut menunjukkan sifat resisten (Nugroho dan Wibowo, 2005).

Hasil isolasi plasmid dan profil elektroforesis plasmid DNA terhadap 8 isolat *E. coli* dalam penelitian ini, dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil elektroforesis plasmid *E.coli* resisten antibiotika. Lane a. plasmid marker; Lane b. EC/KSg/Bro/1/2002; Lane c. Ec/WNo/Lay/2/2002; Lane d. Ec/Sdy/Bro/3/2002; Lane e. Ec/Mgl/Bro/4/2002; Lane f. Ec/Rosa/Lay/5/2002; Lane g. Ec/Swn/Bro/6/2002; Lane h. Ec/Smg/Bro/7/2002; Lane i. Ec/Kls/Bro/8/2002

Plasmid DNA bakteri *E.coli* isolat Ec/Ksg/Bro/1/2002; Ec/Swn/Bro/6/2002; dan Ec/Sdy/Bro/3/2002 masing-masing teramati mempunyai 2 jenis plasmid. Satu plasmid berukuran di antara 5148 bp sampai dengan 21.226 bp dan plasmid lain berukuran 5148 bp. Isolat Ec/Wno/Lay/2/2002 teramati memiliki 3 plasmid, yaitu: 2 plasmid terletak pada posisi antara 5.148 sampai dengan 21.266 bp dan 5.148 bp. Isolat Ec/Mgl/Bro/4/2002 memiliki 3 plasmid, yaitu: 2 plasmid terletak pada posisi di antara 5.148 dengan

21.266 bp dan satu plasmid sedikit diatas 5148 bp. Isolat Ec/Smg/Bro/7/2002 memiliki 2 plasmid yang terletak di 4973 bp dan di 4268 bp. Isolat Ec/Rosa/Lay/5/2002 dan Ec/Kls/Bro/8/2002 masing-masing hanya memiliki 1 plasmid yang terletak pada 5148 bp. Secara umum dapat dilihat bahwa plasmid yang berhasil diisolasi tersebut termasuk ke dalam mega plasmid mengingat ukurannya yang cukup besar. Hasil isolasi plasmid tersebut ditemukan 1 atau lebih plasmid, kondisi tersebut sesuai dengan pernyataan Nicklin dkk.,

(1999) bahwa sel bakteri dapat memiliki satu jenis atau lebih plasmid DNA dengan ukuran yang bervariasi dari ukuran kecil sampai berukuran sangat besar atau disebut mega plasmid. Menurut Czaczulin dkk. (1999), plasmid bakteri *avian enteroagregatif E. coli* (AEAC) mengkode fimbria AA berukuran 60-66 MDa. Menurut Elsave dkk., yang disitasi Czaczulin dkk. (1999) sekuen plasmid yang mengkode enterotoksin pada AEAC mempunyai berat 104 KDa. Islam dkk., (2008) dapat mengisolasi plasmid resistensi ganda pada 10 isolat *E. coli* asal unggas di Bangladesh menunjukkan profil plasmid yang berbeda-beda. Tujuh diantaranya mempunyai plasmid dengan berat molekul (BM) tinggi, 3 sisanya BM rendah, namun demikian tidak disebutkan secara pasti BM plasmid tersebut. Pada elektroforesis tersebut juga teramati bahwa masing-masing isolat yang diteliti hanya mempunyai satu jenis plasmid. Penelitian sejenis yang dilakukan Al-Bahry (2006) terhadap 47 isolat yang diperiksa teramati 100% mempunyai plasmid R, dan mempunyai BM yang bervariasi yaitu: 2,9 sampai 66 kilo base pair (kbp). Sebanyak 15 strain (31,9%) mempunyai satu plasmid, 13 strain (27,7%) mempunyai 2 plasmid, 8 strain (17%) mempunyai 4 plasmid, dan 2 strain (4,3%) mempunyai 5 plasmid. Menurut data penelitian tersebut bakteri resisten terhadap satu jenis antibiotika mempunyai satu plasmid, meskipun juga ditemukan bakteri resisten tetrasiklin mempunyai 2 plasmid.

Data molekuler yang mendasari sifat resistensi *E. coli* pada manusia terhadap streptomisin adalah plasmid pBP1 Wiedemann (1983). Isolasi dan analisis restriksi terhadap plasmid tersebut dapat diketahui *mapping* genetik untuk mengetahui penyebaran plasmid tersebut. Menurut analisis yang

dilakukan peneliti tersebut plasmid pBP1 secara umum merupakan *adapted plasmid* yang secara ekologi tersebar luas di dunia. Disamping itu juga dilaporkan plasmid R yang lain, yaitu RSF1010 yang identik dengan gen yang mampu merubah mekanisme resistensi, meskipun tidak banyak dilaporkan sebagaimana plasmid pBP1. Di sisi lain resistensi *E. coli* terhadap antibiotik kelompok aminopenisilin, yaitu: ampisilin, amoksisilin dan cephalosporin dikarenakan memperoleh plasmid yang mengkode β -laktamase, seperti: TEM-1, TEM-2 atau SHV-1 yang berperan dalam hidrolisa dan inaktivasi antibiotika tersebut (Tenover, 2006). Menurut Cirz dkk. (2005) resistensi antibiotika golongan kuinolon lebih didasarkan adanya peningkatan mutasi yang terjadi akibat rekombinasi gen yang dapat mengakibatkan perbaikan kerusakan DNA bakteri, akibat kerja antibiotika tersebut. Sejauh ini perbaikan kerusakan DNA akibat kerja antibiotika golongan kuinolon dapat dilakukan bakteri, melalui mekanisme *nucleotide excision repair* dan *homologous recombination*. Berdasarkan analisis tersebut tidak semua gene resistensi bakteri berlokasi pada plasmid, tetapi mutasi gen yang terdapat pada kromosom bakteri (Wiedemann, 1983; Cirz dkk., 2005; Tenover, 2006).

Profil plasmid DNA kelompok bakteri enterobakter yang pernah dilaporkan, yaitu *Salmonella* yang menunjukkan sifat resistensi terhadap beberapa antibiotika. Menurut Al-Bahry (2000) *Salmonella* tersebut mempunyai plasmid dengan ukuran yang bervariasi, yaitu 3,1 sampai 32 kbp. Data penelitian tersebut menunjukkan bahwa *Salmonella* yang memperlihatkan sifat resistensi terhadap antibiotika tertentu (dapat lebih dari satu jenis resistensi) terisolasi plasmid dengan ukuran

yang bervariasi.

Beberapa penelitian yang mengkaji transfer plasmid resisten antara lain dilakukan oleh Levy *et.al.* yang disitasi Bogaard dkk., (1999) berhasil membuktikan adanya transfer plasmid R, pSL 2226 pada bakteri *E.coli* isolat ayam ke pekerja unggas. Menurut penelitian Oeniyi yang juga disitasi Bogaard dkk. (1999) dapat diketahui terjadinya penularan secara langsung bakteri *E.coli* resisten terhadap streptomisin, sulfonamid, dan tetrasiklin pada unggas ke orang-orang yang sering berkunjung ke lokasi peternakan di Nigeria.

Data yang diperoleh dari pengamatan di lapangan pada kasus *E.coli* dalam penelitian ini menunjukkan bahwa pemakaian antibiotik di peternakan tersebut cenderung tidak tepat. Sebagai contoh adalah pengobatan dengan antibiotik golongan kuinolon diberikan dosis tunggal pada pagi hari. Disamping itu pengobatan yang tidak tuntas atau menggunakan sub- dosis sering teramati di lapangan. Kondisi tersebut dapat memicu timbulnya resistensi antibiotik. Al-Bahry dkk. (2006) melaporkan bahwa resistensi terhadap berbagai antibiotika yang teramati di Oman dapat terjadi karena penggunaan antibiotik yang berlebihan di perunggasan. Disamping itu penggunaan antibiotik yang tidak tepat juga meningkatkan resistensi bakteri meningkat. Hal yang sama dilaporkan oleh Meyer dkk. (2007); maupun Islam dkk. (2008) resistensi *E.coli* yang diisolasi dari peternakan unggas di Jerman dan di Bangladesh terhadap beberapa antibiotika diduga karena penggunaan antibiotika yang tidak tepat, misalnya bukan sebagai pengobatan tetapi lebih untuk pencegahan atau stimulasi pertumbuhan yang diberikan dalam waktu yang lama.

Berdasarkan data-data yang diperoleh dalam penelitian ini dapat ditarik kesimpulan, bahwa *E. coli* yang menunjukkan resistensi terhadap ampisilin, streptomisin dan enrofloksasin yang diisolasi dari beberapa peternakan ayam komersial di Daerah Istimewa Yogyakarta dan Jawa Tengah menunjukkan profil plasmid DNA *E. coli* yang teramati sebagai pita DNA yang berpendar oleh pendedahan sinar ultraviolet. Secara umum plasmid yang terisolasi mempunyai ukuran yang sangat besar atau mega plasmid yaitu terletak pada 4268 bp, 4873 bp, 5148 bp dan terletak di antara 5148 bp dan 21.226 bp. Masing-masing isolat *E.coli* tersebut memiliki jumlah plasmid bervariasi antar 1 sampai 3 plasmid.

UCAPAN TERIMA KASIH

Publikasi ini didukung oleh dana Hibah Penelitian Dasar pada tahun 2004 dengan Nomor kontrak 71/P21PT/DPPM/PID/111/2004.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Bahry, S. N. 2000. Plasmid Profiles of Antibiotic Resistant Salmonella Species Isolated in Muscat Oman. *Pak. J. of Biol. Sci.* 3 (2): 215-218.
- Al-Bahry, S.N., Al-Mashany, B.M., Elshafie, A.E., Pathare, N., AL-Harthy, A.H. 2006. Plasmid Profile of Antibiotic Resistant *Escherichia coli* Isolated from Chicken Intestine. *J. of Ala. Acad. of Sci.* 77 (3-4): 152-159.
- Berhoff, H.A., Vinal. 1986. Congo Red Medium to Distinguish Invasive and Non-Invasive *E.coli* Pathogenic for Poultry. *Avian Dis.* 30:117-121.
- Bogaard, A.E, London, N., Driessen C., Stobbering, E.E. 2001. Antibiotic Resistance of Faecal *Escherichia coli* in Poultry, Poultry

- farmer and Poultry Slaughterers. *J. of Antimicrobial Chemotherapy* 47:761-771.
- Brander, G.C., Pugh D.M., Baywater, R.J., Jenkins, W.L. 1991, Veterinary Applied Pharmacology and Therapeutics 5 th ed. The English Book Society and Bailliere Tindal, London: 416-450.
- Black, J.G. 1999. Microbiology Principle and Exploration, John Wiley & Sons. Inc. New York: 208-209.
- Cirz, R.T., Chin, J.K., Andes, D.R., Crecy-Lagard, V., Craig, W.A., Romesberg, F.E. 2005. Inhibition of Mutation and Combating the Evolution of Antibiotic Resistance. *PLoS Biol.* 3(6):176.
- Cookey, R.C. 1991 Mechanism of Resistance to Antimicrobial Agents. In: Manual of Clinical Microbiology, Edited by Ballows, A., W.I. Hausler, K.L. Herrmann, H.J. Shadomy (Eds). American Society for Microbiology, Washington, D.C.: 1099-1103.
- Czczulin, J.R., Whittam, T.S., Henderson, I.R., Garcia, F.N., Nataro, J.P. 1999. Phylogenetic Analysis of Enteroaggregative and Diffusely Adherent *Escherichia coli*. *J. of Infec. and Immun.* 67 (6): 2692-2699.
- Gan, V.H.S. 1983. Antimikrobia. Dalam Sulistia Gan (Ed) Farmakologi dan Terapi, Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta: 443-449.
- Goodman, L.S., Gilman, A. 1970. The Pharmacological Basic of Therapeutic. Fourth edition, The Macmillan Company, London, Toronto: 1171-1215.
- Islam, M.J., Sultana, S., Das, K.K., Sharmin, N., Hasan, M.N. 2008. Isolation of Plasmid-mediated Multidrug Resistant *Escherichia coli* from Poultry. *Int. J. Sustain. Crop. Prod.* 3 (5): 46-50.
- Knobl, T., Gomes, T.A.T., Vieira, M.A.M., Bottino, J.A., Ferreira, J.P. 2006. Occurance of Adhesin-encoding Operons in *Escherichia coli* Isolated from Breeder with Salpingitis and Chick with Omphalitis. *Braz. J. Microbiol.* 37.
- Lafont, J.P., Maryvone, D., Elena, M.D., Hauteville, Breed, A., Sansonetti, J.P. 1987. Presence and Expression of Aerobactin Genes in Virulent Avian Strains of *Escherichia coli*. *J. Infect. and Immun.* 55: 193-197.
- Mellata, M., Moulin, M.D., Fairbrother, C.M. 2003. Role of Avian Pathogenic *Escherichia coli* Virulence Factors in Bacterial Infection with Chicken Heterophils and Macrophages. *J. of Infec. and Immun.* 71 (1): 494-503.
- Meyer, E., Lunke, C., Kist, M., Schwab, F., Frank, U. 2007. Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli* Strains Isolated from Food, Animals and Human in Germany. *Infect.* 36 (1): 59- 61.
- Nicklin, J., Cook, K.G., Paget, T., Killington, R.A. 1999. Instant Notes in Mycrobiology. Bios, Scientific Publisher, UK.: 122-128.
- Nugroho, W.S., Wibowo, M.H., Asmara, W. 2002. Patogenisitas *Escherichia coli* Positif Congo Red pada Telur Ayam Berembrio Umur 12 hari, *J. Sain Vet.* 20 (1): 25-29.
- Nugroho, W.S., Wibowo, M.H. 2005. Uji Sensitivitas *Escherichia coli* Isolat Ayam yang Positif Congo Red dan Resisten Terhadap Ampisilin, Streptomisin dan Enrofloksasin. *J. Sain. Vet.*, 20 (1): 19-23.
- Prescott, J.F. 2000. Antimicrobial Drug Resistance and Its Epidemiology. In: Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine, Prescott, J.F.; J.D. Baggot, R.D. Waljer (eds) Third Edition, Iowa State University Press/Amess. : 27-49.
- Timoney, J.F., Gillespie, J.H., Scott, F.W., Barlough, J.E. 1991. Hagan and Bruner's microbiology and Infectious Diseases of Domestic Aimals. 8th ed. Comstock Publishing Associates A Division Cornell University Press, Ithaca and London.: 24-30.
- Tenover, F.C. 2006. Mechanisms of Antimicrobial Resistance in Bacteria. *The American J. of Med.* 119 (6A): S3-S10.
- Wiedemann, B. 1983. Mechanisms of Antibiotic Resistance and Their Dissemination of Resistance Genes in the Hospital Environment. *Infect. Control.* 6 (4): 444-447.