

Melacak Gen Faktor Virulensi *Escherichia coli* yang Tahan Terhadap Siprofloksasin asal Usap Kloaka Ayam Petelur

Detection of Ciprofloxacin Resistant Escherichia coli Virulence Factor Genes Isolated from Cloacal Swab of Laying Hens

Joen Firmanta Peranginangin^{1,3*}, Safika², Maria Fatima Palupi³

¹Program Studi Ilmu Biomedis Hewan, Sekolah Pascasarjana Insitut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia

²Departemen Mikrobiologi Medik, Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis Institut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia

³Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan Kementerian Pertanian Republik Indonesia

*Email: joenfp@gmail.com

Naskah diterima: 3 November 2023, direvisi: 15 November 2023, disetujui: 2 Januari 2024

Abstract

Avian Pathogenic *Escherichia coli* (APEC) is a cause of extraintestinal infections, particularly respiratory infections, pericarditis, and septicemia in poultry (colibacillosis). Research aimed at uncovering the virulence factors responsible for colibacillosis in poultry, especially laying hens in Indonesia, is still quite rare. The purpose of this study is to identify the virulence factors responsible for colibacillosis in *E. coli* strains resistant to ciprofloxacin. The virulence factors targeted in this research are *iss*, *iutA*, *iroN*, *ompT*, and *hlyF* genes. The study utilized 327 *E. coli* isolates from the archives of the National Veterinary Drug Assay Laboratory (NVDAL), which were collected in 2021 in seven provinces. All isolates were tested for pathogenicity using Congo Red. Subsequently, *E. coli* strains determined to be pathogenic were tested for their sensitivity to ciprofloxacin using the agar dilution method. Isolates that were both resistant and pathogenic were then examined for the presence of the virulence genes using polymerase chain reaction (PCR). Based on the results of the Congo Red test, it was found that 59 isolates (18%) were pathogenic *E. coli*. Among the 59 pathogenic *E. coli* isolates subjected to sensitivity testing, 30 isolates were found to be resistant to ciprofloxacin. Subsequently, PCR analysis of these 30 ciprofloxacin-resistant pathogenic *E. coli* isolates revealed the presence of the *iss* gene in 29 isolates (96%), *iutA* in 23 isolates (76.7%), *ompT* in 19 isolates (63%), *hlyF* in 14 isolates (46.7%), and *iroN* in 11 isolates (36.7%). Eight isolates showed the presence of all five virulence genes, while the rest had one to three virulence genes. This study demonstrates that virulence genes are commonly found in ciprofloxacin-resistant pathogenic *E. coli*. This suggests a potential threat to the effectiveness of ciprofloxacin in managing colibacillosis in laying hens.

Keywords: Ciprofloxacin resistance; laying hens; pathogenic *E. Coli*; virulence factors

Abstrak

Avian Patogenic *Escherichia coli* (APEC) merupakan penyebab infeksi ekstraintestinal terutama infeksi pernapasan, perikarditis, dan septikemia pada unggas atau kolibasilosis. Penelitian untuk mengungkapkan faktor virulensi penyebab kolibasilosis pada unggas, khususnya ayam layer di Indonesia masih sangat jarang. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui faktor virulensi penyebab kolibasilosis dan sensitivitas siprofloksasin. Faktor virulensi yang menjadi target penelitian ini adalah gen *iss*, *iutA*, *iroN*, *ompT* dan *hlyF*. Penelitian ini menggunakan 327 isolat *E. coli* arsip Balai Besar Pengujian Mutu dan Serifikasi Obat Hewan (BBPMSOH) yang diisolasi pada tahun

2021 dari tujuh provinsi. Semua isolat diuji patogensitasnya dengan menggunakan Congo Red. Selanjutnya, *E. coli* yang dinyatakan patogen diuji sensitivitasnya terhadap siprofloksasin dengan menggunakan metoda agar dilusi. Isolat yang resistan dan patogen diuji keberadaan gen virulensinya dengan menggunakan *polymerase chain reaction* (PCR). Berdasarkan hasil uji Congo Red didapatkan sebanyak 59 (18%) adalah *E. coli* patogen. Berdasarkan hasil uji sensitivitas dari 59 isolat *E. coli* patogen, didapatkan 30 isolat resistan siprofloksasin. Selanjutnya, dari hasil PCR terhadap 30 isolat *E. coli* patogen resistan siprofloksasin didapatkan adanya gen *iss* pada 29 isolat (96%), *iutA* pada 23 isolat (76,7%), *ompT* pada 19 isolat (63%), *hlyF* sebanyak 14 isolat (46,7%), dan *iroN* pada 11 isolat (36,7%). Sebanyak delapan isolat menunjukkan memiliki lima gen virulensi dan sisanya memiliki satu-tiga gen virulen. Penelitian ini menunjukkan bahwa gen virulensi banyak ditemukan pada isolat *E. coli* patogen resistan siprofloksasin. Hal ini menunjukkan adanya ancaman terhadap efikasi siprofloksasin untuk menanggulangi kolibasilosis pada ayam layer.

Kata Kunci: Ayam layer; *E. coli* patogen; gen virulensi; resistan siprofloksasin

Pendahuluan

Ayam layer merupakan salah satu komoditas ternak yang banyak dipelihara di Indonesia. Kementerian Pertanian Republik Indonesia mencatat jumlah ayam layer nasional adalah sebanyak 378 juta ekor pada tahun 2022 (DJKH 2022). Penyakit bakteri merupakan salah satu penyebab paling banyak terjadi pada peternakan ayam layer dan antibiotik adalah pilihan yang paling banyak digunakan dalam pengobatannya. Penggunaan antimikrob yang tidak bijak dan tepat pada ayam layer merupakan salah satu penyebab meningkatnya jumlah bakteri yang resistan terhadap antimikrob (Furtula *et al.*, 2010). Van Boeckel *et al.*, (2015) memperkirakan pada tahun 2030, jika tidak ada intervensi penggunaan antimikrob, maka Indonesia akan menjadi salah satu dari lima negara yang akan mengalami peningkatan penggunaan antimikrob paling tinggi di hewan produksi. Hal ini menjadikan Indonesia memiliki peranan yang sangat penting dalam pengendalian resistansi antimikrob, khususnya pada hewan produksi.

Escherichia coli (*E. coli*) merupakan bakteri komensal dan bioindikator resistansi antibiotik pada hewan maupun manusia (Furtula *et al.*, 2010; WOA 2022). Selain bersifat komensal dan beberapa kelompok *E. coli* bersifat patogen, serta dapat menjadi reservoir *multi drug resistant* (MDR). Kaper *et al.*, (2005) menyatakan berdasarkan klasifikasi virulensinya, *E. coli* terbagi atas intestinal pathogenic *E. coli* (IPEC) dan extra intestinal pathogenic *E. coli*

(ExPEC). ExPEC terdiri atas uropathogenic *E. coli* (UPEC), neonatal meningitis associated *E. coli* (NMEC), dan avian pathogenic *E. coli* (APEC). APEC merupakan penyebab infeksi ekstraintestinal terutama infeksi pernapasan, perikarditis, dan septikemia pada unggas. Salah satu antibiotik yang digunakan dalam pengobatan penyakit yang disebabkan oleh APEC adalah siprofloksasin.

Siprofloksasin merupakan antibiotik golongan fluoroquinolon generasi kedua yang mempunyai spektrum luas sehingga dapat digunakan untuk mengobati infeksi akibat bakteri Gram positif dan Gram negatif (Best *et al.*, 2010). Mekanisme kerja dari siprofloksasin adalah dengan menghambat *deoxyribonucleic acid* (DNA) *gyrase* atau *topoisomerase IV* sehingga tidak terjadi replikasi DNA. Resistansi siprofloksasin dapat disebabkan oleh mekanisme pompa efluks, resistansi yang dimediasi oleh plasmid, dan mutasi pada DNA *gyrase* atau *topoisomerase IV* (Kapoor *et al.*, 2017).

Siprofloksasin merupakan salah satu antibiotik yang digunakan di manusia dan hewan. Badan Kesehatan Hewan Dunia (*World Organization Animal Health/WOAH*) memasukkan fluoroquinolon generasi kedua dalam kategori *Critically Important Antibiotics for Veterinary Medicine* (WOAH 2022). Ditkeswan (2018) juga menyatakan bahwa siprofloksasin masih banyak digunakan di peternakan unggas untuk pencegahan (76,6%) dibandingkan dengan untuk pengobatan (22,5%). Adapun Badan Kesehatan Dunia memasukkan fluoroquinolon dalam daftar *Highest*

Critically Important Antimicrobial for Human (WHO 2019) . Oleh sebab itu, siprofloksasin merupakan antibiotik yang sangat penting bagi kesehatan hewan maupun kesehatan manusia.

Resistensi siprofloksasin pada unggas merupakan ancaman yang nyata bagi keberhasilan pengobatan infeksi bakteri di hewan produksi, khususnya unggas. Dalam penelitian Palupi *et al.*, (2020) menunjukkan tingkat resistansi siprofloksasin pada *E. coli* yang diisolasi pada ayam broiler mencapai 59,12%. Adapun hasil penelitian Tyaningsih *et al.*, (2021) tingkat resistansi siprofloksasin *E. coli* asal broiler yang diambil dari pasar mencapai 67%. Resistansi antimikrob merupakan hal yang kompleks. Salah satunya adalah dengan adanya resistansi dapat meningkatkan virulensi dari infeksi *E. coli* patogen karena akan sangat sulit diobati. Hal ini akan semakin mempertinggi dampak risiko resistansi pada hewan (EMA 2018). Mengingat hasil tersebut maka perlu dilakukan penelitian mengenai deteksi gen virulen dan resistansi siprofloksasin terhadap *E. coli* patogen APEC yang berasal dari ayam layer. Data ini dibutuhkan dalam melakukan evaluasi penggunaan siprofloksasin pada hewan produksi khususnya ayam petelur.

Materi dan Metode

Escherichia coli yang digunakan berasal dari 327 isolat arsip BBPMSOH yang diisolasi pada tahun 2021 . Isolat berasal dari peternakan ayam layer dari 7 provinsi yaitu Jawa Timur, Sumatera Utara, Jawa Tengah, Jawa Barat, Banten, Sumatera Barat dan Sulawesi Selatan dengan diambil dari swab kloaka. Karakterisasi virulensi isolat secara invitro dilakukan menggunakan media *congo red agar* (Berkhoff dan Vinyl 1986). Isolat dikultur pada media *congo red agar* dan diinkubasikan di dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 18–24 jam dan selanjutnya diinkubasi pada suhu 25°C selama 48 jam. Koloni yang berwarna merah karena mengikat Congo Red diidentifikasi sebagai isolat *E. coli* patogen. Apabila koloni yang tumbuh berwarna putih karena tidak mengikat *congo red*, maka diidentifikasi sebagai *E. coli* non patogen. Uji *congo red* tiap isolat diulang tiga kali.

Uji resistansi dilakukan dengan menggunakan metode agar dilution. Media yang digunakan adalah *Muller Hinton Agar* (MHA) (*Difco/DB-FRA*) yang mengandung standar siprofloksasin (*Sigma-USA*) dengan konsentrasi pengenceran kelipatan dua. Konsentrasi standar siprofloksasin dalam media MHA dari 0,25 µg/ml hingga 4 µg/ml. *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dan *S. aureus* ATCC 29213 digunakan sebagai isolat kontrol dan MHA tanpa standar digunakan sebagai kontrol media. Uji resistansi dilakukan dengan mengambil 1-2 koloni *E. coli* yang tumbuh di *heart infusion agar* (HIA) dan dimasukkan ke dalam NaCl fisiologis steril. Ukur kekeruhan NaCl fisiologis sehingga setara dengan *McFarland 0,5%*. Larutan isolat kemudian diencerkan sehingga mendapatkan konsentrasi *E. coli* 1,5 x 10⁷-10⁸ CFU/ml. Selanjutnya sebanyak 500 – 1000 µl larutan tersebut dimasukkan dalam plate microwell 96. Sampel kemudian diinokulasikan dengan menggunakan *multipoint inoculator* ke media MHA yang telah mengandung siprofloksasin. Media MHA yang telah diinokulasi kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37 °C. Isolat dinyatakan resistan terhadap siprofloksasin jika nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ≥ 1 µg/mL (CLSI 2021).

Isolat bakteri yang positif *E. coli* patogen dan resistan diperkaya dengan *heart infusion broth* (HIB) selama 18–24 jam pada suhu 37°C, selanjutnya ditumbuhkan pada HIA selama 18–24 jam pada suhu 37°C. Koloni pada HIA selanjutnya diekstraksi untuk uji identifikasi gen penyandi faktor virulen. Ekstraksi DNA menggunakan metode boiling dengan *Buffer PrepMan®* (*Applied Biosystems, USA*). Identifikasi gen penyandi faktor virulen dilakukan sesuai metode Westhuizen *et al.*, (2012) dan Johnson *et al.*, (2008b), dengan target gen *Iss* (survival in host serum), *iutA* (synthesis and regulation of aerobactin uptake system), *hlyF* (hemolysis, outer membrane vesicle regulation), *ompT* (outer membrane protease secretion) dan *iroN* (salmochelin iron acquisition system).

Kelima gen tersebut berada dalam plasmid. Target gen sekuen primer, panjang ampikon, serta suhu annealing ditampilkan pada Tabel 1.

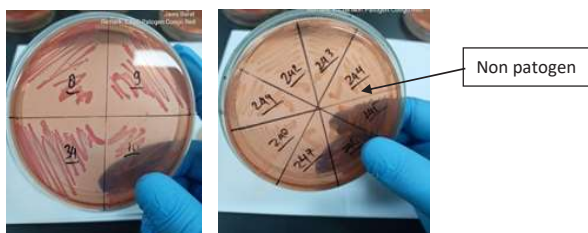
Taget gen	Sekuen Primer	Amplikon Ta (°C) □
Iss ^b □	(F) 5'- AAGTCAAAGCAGGGGTTGCCCG -3'	550 bp □ 63
	(R) 5'- GATCGCCGACATTAAGACGCAG -3'	
IutA ^c □	(F) 5'- GGCTGGACATCATGGGAACTGG -3'	302 bp □ 63
	(R) 5'- CGTCGGGAACGGGTAGAAATCG -3'	
IroN ^b □	(F) 5'- AAGTCAAAGCAGGGGTTGCCCG -3'	667 bp □ 63
	(R) 5'- GATCGCCGACATTAAGACGCAG -3'	
OmpT ^b □	(F) 5'- TCATCCCGGAAGCCTCCCTCACTACTAT-3'	496 bp □ 63
	(R) 5'- TAGCGTTTGCTGCACTGGCTTCTGATAC -3'	
HlyF ^c □	(F) 5'- GGCCACAGTCGTTTAGGGTGCTTACC -3'	450 bp □ 63
	(R) 5'GGCGGTTTAGGCATTCCGATACTCAG -3'	

^b Westhuizen *et al.* 2012, ^c Morales *et al.*, 2004. ^c Johnson *et al.*, 2008b.

Amplifikasi DNA menggunakan KAPA2G Fast ReadyMix PCR Kit (KAPABIOSYSTEMS) dengan total volume reagen PCR 25 µl yang terdiri atas 12.5 µl KAPA2G *Fast ReadyMix* PCR Kit (KAPABIOSYSTEMS), 1 µl dari tiap primer, 5.5 uL dH2O, dan 5 uL DNA template. Proses PCR dilakukan dengan siklus predenaturasi 95°C selama 15 menit. Proses selanjutnya adalah 30 siklus yang terdiri atas denaturasi 94°C selama 1 menit, annealing 63°C selama 1 menit, ekstensi pada suhu 72°C selama 1 menit, dan akhir amplifikasi dilanjutkan dengan ekstensi akhir pada suhu 72°C selama 1 menit. Amplikon PCR divisualisasi pada 2.0% agarose gel dengan pewarnaan *SYBR safe DNA Gel Stain* dan menggunakan marker *DNA Ladders* 100 bp.

Hasil dan Pembahasan

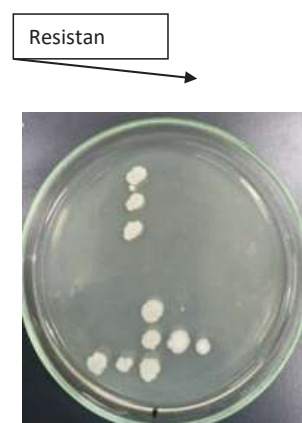
Setelah dilakukan karakterisasi virulensi isolat *E. coli* menggunakan *congo red agar*,



Gambar 1. Karakterisasi virulensi isolat *Escherichia coli* pada *Congo Red* agar. (a) isolat positif *E. coli* patogen ditunjukkan dengan koloni berwarna merah. (b) isolat negatif *E. coli* non patogen ditunjukkan dengan koloni berwarna putih.

didapatkan sampel *E. coli* patogen sebanyak 59 isolat (18%) dari 327 isolat arsip. Hasil karakterisasi dapat dilihat pada Gambar 1.

Lima puluh sembilan isolat *E. coli* patogen yang ditemukan diuji resistansi dan didapatkan 30 sampel yang resistan terhadap siprofloksasin (pada Gambar 2 dan Tabel 2) dengan konsentrasi hambat minimum $\geq 1 \mu\text{g/mL}$ (CLSI 2021). *E. coli* patogen dan resistan siprofloksasin dilakukan deteksi gen virulensi APEC yaitu gen *iss*, *iutA*, *ompT*, *hlyF* dan *iroN*. Hasil deteksi gen virulensi disajikan pada Gambar 3.

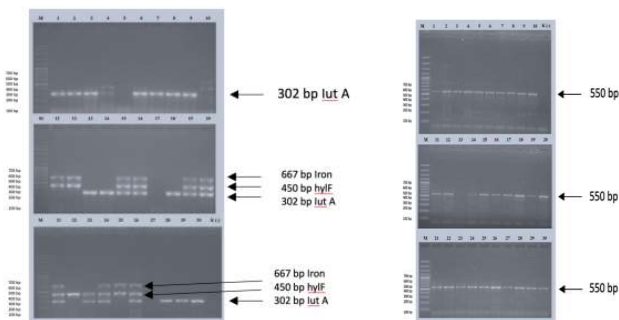


Gambar 2. Hasil uji resistansi siprofloksasin dengan menghitung nilai konsentrasi hambat minimum pada media *Muller Hinton Agar* dengan konsentrasi 1 µg/mL. Koloni yang tumbuh dinyatakan resistan dan sedangkan yang tidak tumbuh dinyatakan sensitif.

Pada penelitian ini ditemukan 59 sampel *E. coli* patogen (18%) dari 327 sampel isolat

Tabel 2. Nilai konsentrasi hambat minimum siprofloksasin terhadap *E. coli* patogen

No sampel	Konsentrasi Hambat Minimum	No sampel	Konsentrasi Hambat Minimum	No sampel	Konsentrasi Hambat Minimum
1	4	11	4	21	4
2	4	12	4	22	4
3	4	13	4	23	2
4	4	14	4	24	4
5	4	15	4	25	4
6	4	16	4	26	4
7	4	17	4	27	4
8	4	18	4	28	4
9	4	19	4	29	4
10	4	20	4	30	4

**Gambar 3.** Hasil elektroforesis gabungan tiga gen yaitu *iutA*, *hlyF* dan *iroN* (a) dan satu gen *iss* (b)

arsip BBPMSOH 2021. Tingkat virulensi ini lebih rendah dibandingkan dengan penelitian Palupi *et al.*, 2022. Pada penelitian Palupi *et al.*, 2022 ditemukan sebanyak 156 (43%) isolat *E. coli* patogen dari 356 isolat sampel asal usap kloaka ayam layer dengan provinsi yang berbeda dengan arsip BBPMSOH 2021. Isolat patogen ditunjukkan dengan koloni berwarna merah sedangkan koloni berwarna putih non patogen atau komensal. Berkhoff dan Vinal 1986 menyatakan adanya korelasi antara penyerapan warna merah pada agar dengan faktor virulensi bakteri *E. coli* patogen. Pada penelitian Widagdo *et al.*, 2002 mengenai patogenitas isolat *E. coli* positif *congo red* pada telur ayam berembrio menyatakan isolat *E. coli* patogen yang positif *congo red* memiliki kemampuan membunuh embrio ayam pada umur 12 hari. Isolat *E. coli* patogen positif *congo red* juga menyebabkan perubahan anatomi embrio berupa pendarahan pada embrio, lesi pada hati dan jantung hingga sepsitemia.

Pada penelitian ini didapatkan 30 sampel dari 327 isolat atau 9,2 % merupakan isolat patogen dan resistan terhadap siprofloksasin.

Prevalensi ini lebih kecil dibandingkan dengan penelitian Palupi *et al.*, 2022. Pada penelitian Palupi *et al.*, 2022 ditemukan 74 sampel *E. coli* patogen dan resistan siprofloksasin dari 356 sampel atau 16,98 %. Prevalensi *E. coli* patogen dan resistan terhadap antibiotik berdasarkan EMA 2018 terdapat 4 kategori yaitu tinggi, sedang dan rendah. Kategori tinggi berada pada >20 %, sedang pada kisaran >10-20 % dan rendah antara 1-10 % dan sangat rendah pada <1 %. Berdasarkan kategori tersebut dapat disimpulkan prevalensi *E. coli* patogen dan resistan siprofloksasin pada penelitian ini dalam kategori rendah. WOA 2022 menyatakan siprofloksasin masuk dalam kategori *Critically Important Antibiotics for Veterinary Medicine*. Hal ini dilihat dari dua kriteria yaitu 50 % digunakan di manusia dan hewan serta penyakit penting yang ditanganin. Siprofloksasin menjadi obat penting karena aplikasi penggunaan yang luas dan mengobati penyakit penting seperti sepsitemia, penyakit pernapasan dan pencernaan. Siprofloksasin banyak digunakan pada hewan unggas, sapi dan babi. Berdasarkan data Index Obat Hewan Indonesia 2023 terdapat 22 merek dagang antibiotik siprofloksasin. Temuan lapangan dan hasil wawancara menggunakan kuisioner yang diisi oleh peternak, menyebutkan bahwa tidak ada sama sekali pemakaian antibiotik siprofloksasin dalam melakukan pengobatan penyakit kolibasilosis (Palupi *et al.*, 2022). Hal ini menunjukkan bahwa adanya kemungkinan terjadinya *cross-resistance* dari antibiotik lainnya yang digunakan.

Gen virulensi pada APEC merupakan salah satu faktor penyebab kolibasilosis pada

unggas. Pada penelitian ini ditemukan lima gen penyandi APEC yaitu gen *iss*, *iutA*, *hlyF*, *ompT* dan *iroN*. Delapan sampel mengandung kelima gen virulensi APEC dan dua puluh dua sisanya mengandung diantara 1-3 gen virulensi APEC. Gen *iss*, *iutA*, *hlyF*, *ompT* dan *iroN* menurut Johnson *et al.*, (2008), ditemukan pada plasmid pAPEC-O2-ColV. Gen *iss* paling banyak ditemukan pada penelitian ini yaitu 29 sampel dari 30 atau 96,7%. Gambi *et al.*, 2022 juga melakukan penelitian terhadap 74 sampel isolat APEC asal ayam layer dan menemukan 64 atau 90 % gen *iss*. Hal ini menunjukkan bahwa gen *iss* merupakan salah satu gen virulensi yang sangat penting. Gen *iss* merupakan protein yang berfungsi melindungi bakteri dari aktivitas serum antibakteri inang dan proses fagositosis. Gen *iss* membuat bakteri dapat melakukan adhesi, invasi, *intracellular survival*, kolonisasi dan proliferasi. Gen *iutA* merupakan gen virulen terbanyak kedua yang dapat dideteksi yaitu sejumlah 23 isolat (76.7%), kemudian *ompT* 19 isolat (63 %), *hlyF* 14 isolat (46.7%), dan *iroN* 11 isolat (36.7%). Menurut Johnson *et al.*, (2008), lebih dari 80% isolat-isolat *E. coli* patogen yang memiliki gen *iutA*, *iroN* dan *hlyF* dalam plasmidnya berperan terhadap kejadian kolibasilosis pada unggas. Gen *iutA* berfungsi dalam mendaptkan iron atau zat besi dari tubuh inangnya. Zat besi sangat berperan penting dalam pertumbuhan dan perkembangan bakteri didalam sel inang setelah berhasil melakukan invasi dan kolonisasi. Ion iron juga berperan dalam proses pembentukan energi, transport oksigen, dan replikasi DNA (Skaar 2010). Gen *iroN* mengkode suatu komponen pengikat iron dari tubuh inangnya yang disebut dengan molekul *siderophore*. Penelitian Filho *et al.*, (2015) juga menemukan 83% gen *iroN* dan *hlyF* dari 994 sampel APEC yang diuji. *HlyF* berperan dalam memecah dan menghancurkan sel, menginduksi vakuolisasi terhadap sel inang, kolonisasi, motilitas, dan membentuk biofilm. Hal ini membuat APEC bertahan lama di sel inang maupun lingkungan. *OmpT* merupakan protektin atau protein dari bakteri yang berfungsi melindungi bakteri dari serum bakterisidal inang dan juga melindungi bakteri selama proses fagositosis, adhesi, invasi, kolonisasi dan proliferasi.

APEC juga memiliki potensi menjadi zoonosis karena memiliki gen virulensi yang sama dengan ExPec dan Nmec yang menyebabkan meningitis pada manusia (Ahmed *et al.*, 2013 dan Murase *et al.*, 2016) yaitu gen *iutA* dan *iroN*. Gen *iutA* mengkode reseptor aerobactin siderophore sedangkan gen *iroN* mengkode *salmochelin siderophore* (Searle *et al.*, 2015). Pemeliharaan ayam layer yang sangat lama dan kontak dengan peternak yang sangat tinggi menjadikan APEC sangat berpotensi menular ke manusia. Korelasi virulensi dengan resistansi antimikrob sangat kompleks untuk dijelaskan (Schroeder *et al.*, 2017). Terdapat banyak faktor pemicunya dan salah satunya adalah komunikasi antar bakteri (*quorum sensing*). Regulasi ini menyebabkan transfer informasi terkait resistansi dan virulensi. Bakteri saling berkomunikasi melalui molekul dalam menghindari mekanisme kerja antibiotik dan menyebarkan faktor virulensi ke bakteri lain. *Autoinducer* (AI) merupakan molekul yang berfungsi sebagai protein dalam melakukan komunikasi antar sel (Miller dan Bassler 2001). Bhatnagar dan Wong 2019 mengatakan resistansi antibiotik dapat disebabkan karena adanya *cross-resistance* terhadap antibiotik lainnya. Resistansi silang sering terjadi pada antibiotik dengan kelas dan golongan yang sama. Melalui mekanisme *quorum sensing* hal ini dapat terjadi dan menyebabkan terjadinya *cross-resistance*.

APEC penyebab penyakit kolibasilosis pada unggas juga menyebabkan kerugian ekonomi yang besar. Amerika Serikat mengalami kerugian ekonomi hingga ratusan juta dolar akibat kolibasilosis dan diperkirakan mencapai \$40 juta per tahun (Norton *et al.*, 1997). Untuk Indonesia sendiri APEC menyebabkan hilangnya pendapatan bulanan sebesar Rp 13 miliar atau setara dengan 86 juta USD setiap tahunnya (Wibisono *et al.*, 2018). Denmark juga mengalami hal yang sama yaitu hilangnya pendapatan sebesar 3,3 juta Euro di industri ayam petelur (Landman dan Eck 2015). Olsen *et al.*, 2012 melaporkan hampir 50% kematian anak ayam awal pada kelompok ayam petelur di Denmark disebabkan sebagian besar oleh *E. coli* dan *Enterococcus faecalis*. Srinivasan *et al.*, 2013 juga melakukan penelitian terhadap 6572 ayam petelur dari 85 peternakan komersial di

wilayah Namakkal India dan menemukan bahwa APEC menyebabkan kematian ayam layer 3%-20% dalam populasi tersebut. Selanjutnya hampir 15,39% menyebabkan gangguan saluran reproduksi sehingga menyebabkan penurunan produksi telur sebesar 0,5% –7,0%. Hal ini menunjukkan bahwa APEC sangat penting untuk diperhatikan dalam kesehatan unggas terutama ayam layer.

Kesimpulan

Sebagai simpulan, ditemukan sebanyak 30 dari 327 isolat arsip BBPMSOH 2021 merupakan isolat *E. coli* patogen dan resistan siprofloksasin. Gen penyandi virulensi yang ditemukan yaitu gen *iss* sejumlah 29 isolat (96,7%) kemudian diikuti gen *iutA* sejumlah 23 isolat (76.7%), gen *ompT* 19 isolat (63 %), gen *hlyF* 14 isolat (46.7%), dan gen *iroN* 11 isolat (36.7%). Keberadaan gen virulensi *E. coli* patogen resistan siprofloksasin ini akan meningkatkan kejadian kolibasilosis pada unggas karena kegagalan pengobatan siprofloksasin.

Daftar Pustaka

- Ahmed AM, Shimamoto Toshi, Shimamoto Tadashi. 2013. Molecular characterization of multidrug-resistant avian pathogenic *Escherichia coli* isolated from septicemic broilers. *Int J Med Microbiol.* 303(8):475–483. doi: 10.1016/j.ijmm.
- Berkhoff HA dan Vinal AC. 1985. Congo Red Medium to Distinguish Between Invasive and NonInvasive *Escherichia coli* Pathogenic for Poultry. *Avian diseases* Vol 30 No. 1, pp: 117-121
- Best A, La Ragione RM, Cooley WA, O'Connor DC, Velge P, Woodmard MJ. 2003. Interaction with avian cells and colonization of specific pathogen free chicks by shigatoxin negative *Escherichia coli* O157:H7 (NCTC 12900). *Vet Microbiol.* 93: 207–222. doi: 10.1016/s0378-1135(03)00031-2
- [Ditkeswan] Direktorat Kesehatan Hewan. 2018. Survey AMU (Penggunaan Antimikrob). Kementerian Pertanian Republik Indonesia. [ID]: Jakarta.
- [DJPKH] Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan. 2022. Statistik Peternakan dan Kesehatan Hewan. Kementerian Pertanian. [ID]: Jakarta
- [EMA] European Medicine Agency. 2018. Guideline on the assessment of the risk to public health from antimicrobial resistance due to the use of an antimicrobial veterinary 36 medicinal product in food producing animals (Draft 2). [Internet] [Diunduh 14 Maret 2023]. Terdapat dalam www.ema.europa.eu/docs/en_gb/document_library/scientific_guideline/2018/07/WC500252679.pdf
- Filho HCK, Brito KCT, Cavalli LS, Brito BG. 2015. Avian Pathogenic *Escherichia coli* (APEC)- an update on the control. *Portadilla Inicial* Vol.2.docx.
- Furtula V, Farrell VG, Diarrassouba F, Rempel H, Pritchard J, Diarra MS. 2010. Veterinary pharmaceuticals and antibiotic resistance of *Escherichia coli* isolates in poultry litter from commercial farms and controlled feeding trials. *Poultry Sci* 89(1):180-188.
- Gambi L, Rossini R, Menandro ML, Franzo G, Valantini F, Tosi G, D'Incau M dan Fiorentini L. 2022. Virulence Factors and Antimicrobial Resistance Profile of *Escherichia coli* Isolated from Laying Hens in Italy. *Animals.* doi.org/10.3390/ani12141812IOHI. 2023.
- IOHI. Index Obat Hewan Indonesia Edisi X. [Internet] [Diunduh 14 Maret 2023] <https://iohi.ditjenpkh.pertanian.go.id/e-book>.
- Johnson TJ, Wannemuehler Y, Doetkott C, Johnson SJ, Rosenberger SC, Nolan LK.2008b. Identification of minimal predictors of avian pathogenic *Escherichia coli* virulence for use as a rapid diagnostic tool. *J Clin Microbiol.* 46(12): 39873996. doi:10.1128/JCM.00816-08.
- Kaper JB. 2005. Patogenic *Escherichia coli*. *Int J Med Microbiol.* 295:355– 356. doi: 10.1016/j.ijmm.

- Kapoor G, Saigal S, Elongavan A. 2017. Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians. *J Anaesthesiol Clin Pharmacol.* 33(3): 300-305. doi: 0.4103/ joacp.
- Olsen RH, Frantzen C, Christensen H. 2012. An investigation on firstweekmortality in layers. *Avian Dis;* 56:51–57. doi: 10.1637/9777-051011-Reg.1
- Palupi MF, Nugraha E, Hayati M, Atikah N. 2020. Evaluasi Nilai Konsentrasi Hambat Minimum Siprofloksasin terhadap Isolat *E. coli* dari Usap Kloaka Broiler. Prosiding Penyidikan Penyakit Hewan Rapat Teknis dan Pertemuan Ilmiah (Ratekpil) dan Sulveilans Kesehatan Hewan. Hal: 403-412.
- Palupi MF, Ariyani N, Ambarwati, Nurhidayah, Khomariah S, Sari R, Indriyana, Rusmiati E, Anna MJN, Nafisah I, Fika A, Fanani, Nugraha E. 2021. Laporan Pengkajian BBPMSOH Tahun Anggaran 2021; Pengkajian Mutu dan Evaluasi Risiko Resitansi pada *Escherchia coli* Terhadap Siprofloksasin Berdasarkan Farmakokinetik/Farmakodinamik (PK/PD) Pada Ayam Layer Tahun 2021. Unit Uji Farmasetik dan Premiks. Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan.
- Palupi MF, Ariyani N, Ambarwati, Nurhidayah, Khomariah S, Sari R, Indriyana, Rusmiati E, Anna MJN, Nafisah I, Fika A, Fanani, Nugraha E. 2022. Laporan Pengkajian BBPMSOH Tahun Anggaran 2022; Pengkajian Mutu Obat Hewan, Evaluasi Resitansi Berdasarkan Mutant Selection Windows serta Deteksi Gen Resistan Obat Hewan Golongan Kuinolon Terhadap *Escherichia coli* Pada Ayam Layer Tahun 2022. Unit Uji Farmasetik dan Premix. Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan.
- Landman WJM, van Eck JHH. 2015. The incidence and economic impact of the *Escherichia coli* peritonitis syndrome in Dutch poultry farming. *Avian Pathol;* 44:370–8. doi:10.1080/03079457.2015.1060584
- Miller MB dan Bassler BL. 2001. Quorum sensing in bacteria. *Annu. Rev. Microbiol.* 55, 165–199. [CrossRef][PubMed]
- Murase K, Martin P, Porcheron G, Houle S, Helloin E, Pénary M, Nougayrède J. 2016. hlyF produced by extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* is avirulence factor that regulates outer membrane vesicle biogenesis. *J Infect Dis.* 213:856–865. doi:10.1093/infdis/jiv506.
- Norton RA. Avian cellulitis – a review. In: Proceedings of the 38th Southern Conference on Avian Diseases. Atlanta, GA: U.S. Poultry and Egg association, 1997a. Abstract no. S170.
- Schroeder M, Brooks BD, Brooks AE. 2017. The Complex Relationship between Virulence and Antibiotic Resistance. *MDPI.* Basel, Switzerland.
- Searle A et al. 2015. Exercise Interventions for The Treatment Of Chronic Low Back Pain: A Systematic Review And Meta-Analysis Of Randomised Controlled Trials. *Clinic Rehabilitation*
- Skaar EP. 2010. The battle for iron between bacterial pathogens and their vertebrate hosts. *PLoS Pathog.* 6(8):1–4. DOI: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1000949>
- Srinivasan P, Balasubramaniam GA, Murthy TR. 2013. Bacteriological and pathological studies of egg peritonitis in commercial layer chicken in Namakkal area. *Asian Pacif J Trop Biomed;* 3:988–94. doi: 10.1016/S2221-1691(13)60191-4.
- Tyaningsing WY, Yurianti A, Rahmahani J, Setiawan B, Harijani N, Budiarto, Effendi MH, Salamah dan Witaningrum AM. 2021. Antimicrobial Resistance Profile of *Escherichia coli* Bacteria Collected from Cloacal Swab of Broiler Chicken at Surabaya Traditional Market, Indonesia. *Poll Res.* 40 (1): 317-321.
- Van Boeckel TP, Brower C, Gilbert M, Grenfell BT, Levin SA, Robinson TP, Teillant A, Laxminarayan R. 2015. Global Trends in Antimicrobial Use in Food Animal. *Proc Natl Acad Sci.* 112(18):5649-54. doi: 10.1073/pnas.1503141112.

- Westhuizen WD, Bragg RR. 2012. Multiplex polymerase chain reaction for screening avian pathogenic *Escherichia coli* for virulence genes. doi:10.1080/03079457.2011.631982.
- Wibisono FJ, Sumiarto B, Kusumastuti TA. 2018. Economic losses estimation of pathogenic *Escherichia coli* infection in Indonesian poultry farming. *Buletin Peternakan*; 42:341-6. doi: 10.21059/buletinpeternakv42i4.37505
- Widagdo SN, Wibowo MH, Asmara W. 2002. Patogenitas Isolat *Escherichia coli* Positif Congo Red Pada Telur Ayam Berembrio Umur 12 Hari. *J Sain Vet*. Vol.XX No. 1
- [WHO] World Health Organization. 2019. Critically Important Antimicrobials for Human Medicine 6th Revision 2018. World Health Organization.
- [WOAH] World Organization for Animal Health. 2022. OIE list of antimicrobial agents of veterinary importance.