

Isolasi, Identifikasi, dan Uji Resistensi *Escherichia coli* Terhadap Antibiotik Di Peternakan Ayam Pedaging Ujung Berung

Isolation, Identification, and Resistance Test of Escherichia coli to Antibiotics in Ujung Berung Broiler Poultry

Fatia Nasyna¹, Roostita L. Balia^{2*}, Wendry Setiyadi Putranto³

¹Program Studi Kedokteran Hewan, Fakultas Kedokteran, Universitas Padjadjaran, Bandung, Jawa Barat, Indonesia

²Departemen Kesehatan Masyarakat Fakultas Kedokteran, Universitas Padjadjaran, Bandung, Jawa Barat, Indonesia

³Departemen Teknologi Hasil Peternakan Fakultas Peternakan, Universitas Padjadjaran, Bandung, Jawa Barat, Indonesia

*Corresponding author; Email: roostita.balia@unpad.ac.id

Naskah diterima: 30 Desember 2023, direvisi: 15 Februari 2024, disetujui: 10 Juli 2024

Abstract

Escherichia coli is commensal bacteria in the intestinal of broiler chickens with low virulence. However, mostly pathogenic and cause colibacillosis illness. Inappropriate use of antibiotics in broiler chickens has been widely reported. This research aims to determine the presence of *E. coli* contamination in the poultry environment and determine the levels of antibiotics resistance of erythromycin, doxycycline, oxytetracycline and neomycin. The research was carried out through isolation and identification of *E. coli* using EMB media, Gram staining, and biochemical tests. Then, an antibiotic resistance test was carried out using by Kirby-Bauer method. From a total of 10 samples (3 coops), 7 (70%) were positive for *E. coli*. The positive of 7 which for *E. coli*, 43% of the isolates came from fresh feces obtained from coops 1, 2, and 3; 43% of the isolates came from litter from coops 1, 2, and 3; and 14% of isolates from soil outside the coop 3. The antibiotic resistance results by Kirby-Bauer method showed that *E. coli* was 100% resistant to erythromycin, 100% to neomycin, 66.7% to doxycycline, and 66.7% to oxytetracycline throughout isolates from feces and litter. Other results showed that isolates from soil outside coop 3 showed resistance to all antibiotics. Taken together, we concluded the *E. coli* has been contamination which is proven by antibiotic resistance.

Keywords: Antibiotic; APEC; chicken broiler; *E. coli*; environment; resistance

Abstrak

Escherichia coli merupakan bakteri komensal pada usus ayam pedaging dengan virulensi rendah, tetapi dapat menjadi patogen dan menyebabkan penyakit diantaranya kolibasilosis pada unggas akibat *Avian Pathogenic E.coli* (APEC). Penggunaan antibiotik secara tidak tepat guna di lingkungan ayam pedaging telah banyak dilaporkan. *E.coli* menjadi perhatian penting karena mengalami resistensi terhadap antibiotik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya cemaran *E.coli* di lingkungan peternakan ayam pedaging serta mengetahui tingkat resistensinya terhadap antibiotik eritromisin, doksisisiklin, oksitetrasiklin, dan neomisin. Penelitian dilakukan melalui isolasi dan identifikasi *E.coli* menggunakan media EMB, pewarnaan Gram, dan uji biokimia. Kemudian, dilakukan uji resistensi antibiotik dengan metode Kirby-Bauer. Dari total 10 sampel (3 kandang), didapatkan 7 (70%) positif *E.coli*. Dari 7 positif *E.coli*, 43% isolat asal feces segar didapatkan dari kandang 1,2, dan 3; 43% isolat asal litter dari kandang 1,2,dan 3; dan 14% isolat asal tanah luar kandang 3. Hasil uji resistensi antibiotik dengan metode Kirby-Bauer menunjukkan *E.coli* resisten 100%

terhadap eritromisin, 100% terhadap neomisin, 66,7% terhadap doksisisiklin, dan 66,7% terhadap oksitetrasiklin pada seluruh isolat asal feses dan *litter*. Hasil lain menunjukkan isolat asal tanah luar kandang 3 menunjukkan resistensi terhadap seluruh antibiotik. Keseluruhan hasil dapat disimpulkan bahwa terdapat cemaran *E.coli* yang dibuktikan adanya resistensi antibiotik.

Kata kunci : Antibiotik; APEC; ayam pedaging; *E.coli*; lingkungan; resistensi

Pendahuluan

Konsumsi global antimikroba (antibiotika) dalam proses produksi paangan asal hewan diperkirakan mencapai 63.151 (± 1.560) ton pada tahun 2010 dan diproyeksikan meningkat sebesar 67% menjadi 105.596 (± 3.065) ton pada tahun 2030. Indonesia (202%) tergolong dalam lima negara dengan konsumsi antimikroba tertinggi pada ternak tahun 2023 (Van Boeckel *et al.*, 2015). Meningkatkan konsumsi global antibiotik tersebut dapat menyebabkan resiko terjadinya resistensi antibiotik pada mikroba.

Resistensi antibiotik merupakan masalah kesehatan di seluruh dunia karena dapat menghambat proses pengobatan infeksi bakteri yang berakibat pada meningkatnya jumlah bakteri patogen. Organisme resistensi antibiotik didapati pada manusia, hewan, makanan, tumbuhan, dan lingkungan. Penyebarannya dapat melalui manusia ke manusia atau manusia dengan hewan, termasuk pangan asal hewan (WHO, 2021). Terjadinya resistensi antibiotik dapat disebabkan oleh penggunaan antibiotik yang tidak tepat guna berupa penggunaan berlebihan, berkepanjangan, kurang, dan/atau disalahgunakan (Naipospos, 2021).

Berdasarkan praktik di bidang peternakan, banyak peternak yang memberikan antibiotik secara mandiri karena antibiotik sangat mudah didapat dan tidak ada yang peduli terhadap praktik tersebut (Siahaan *et al.*, 2022). Selain itu, antibiotik sebagai *growth promoter* di dalam pakan masih sering ditemukan. Tipe AGP yang sering digunakan yaitu *bacitracin*, *spiramycin*, *virginiamycin*, *bambermycin*, *tylosin phosphate*, *avilamycin*, dan *enramycin* (Tangendjaja, 2018 dalam Varhan *et al.*, 2022). Pemberian antibiotik sebagai *feed additive* dan penggunaan yang tidak tepat pada ayam hidup dapat memicu resistensi patogen dan bakteri komensal di saluran pencernaan. Oleh karena itu dosisnya harus ditingkatkan saat pengobatan dengan

antibiotik (Widhi dan Saputra, 2021). Salah satu bakteri komensal dengan kasus resistensi antibiotik yang sering dilaporkan di Indonesia adalah *E.coli*.

E.coli merupakan flora normal pada saluran pencernaan yang dapat menyebabkan penyakit baik hewan maupun manusia. Bakteri ini telah banyak dilaporkan mengalami kasus resistensi. Salah satu kasus resistensi *E.coli* di Indonesia terdapat di Kabupaten Subang, Jawa Barat yang diisolasi dari lingkungan peternakan ayam pedaging. Dilaporkan bahwa *E.coli* dari lingkungan tersebut mengalami resistensi terhadap beberapa antibiotik seperti tetrasiklin sebesar 97,3% dan resistensi terendah pada kloramfenikol sebesar 10,8% (Niasono *et al.*, 2019). Selain itu, *E.coli* yang diisolasi dari sampel *swab* kloaka ayam pedaging didapatkan 100% resisten terhadap sulfametoksazol-trimetoprim, 87,5% resisten terhadap sefopodoksim, sefoksitin, seftizoksim, dan aztreonam, serta 50% resisten terhadap nitrofurantoin (Andriyani *et al.*, 2020). *E.coli* resisten tersebut memiliki dampak yang berbahaya baik terhadap ternak maupun lingkungan.

Bahaya *E.coli* pada unggas dapat menyebabkan penyakit *Avian colibacillosis*. Penyakit ini merupakan penyakit infeksius yang dianggap sebagai salah satu penyebab utama morbiditas dan mortalitas di peternakan unggas. Selain itu, penyakit ini menjadi masalah ekonomi yang merugikan bagi industri perunggasan karena hubungannya dengan berbagai kondisi penyakit, baik sebagai patogen primer maupun sebagai patogen sekunder (Kabir, 2010). Kerugian yang diakibatkan oleh Kolibasilosis di Indonesia sebesar 13,10% dari total aset perunggasan baik secara langsung (penurunan berat badan, produksi telur berkurang, dan peningkatan kematian total) atau tidak langsung (pembersihan, disinfeksi, dan kompensasi tenaga kerja) apabila terjadi

penyakit (Effendi, 2022). Disisi lain, *E.coli* dalam jumlah berlebih dapat berbahaya untuk manusia karena dapat menyebabkan diare, terutama *E.coli* dengan patotipe O157:H7 yang menyebabkan keracunan makanan dengan diare berdarah akibat eksotoksin yang dikeluarkannya (Sutiknowati, 2016).

Praktik penggunaan antibiotik dengan kandungan eritromisin, doksisisiklin, oksitetrasiklin, dan neomisin ditemukan di salah satu peternakan ayam di Ujung Berung. Penggunaan antibiotik tersebut bukan digunakan sebagai terapeutik, melainkan sebagai bentuk pencegahan yang dibuktikan oleh data program antibiotik dan vitamin milik peternakan tersebut. Antibiotik yang diberikan pada minggu ke-1 yaitu Neotax dengan kandungan oksitetrasiklin dan neomisin dan pada minggu ke-2 yaitu Dactryl dengan kandungan eritromisin dan doksisisiklin. Berdasarkan hal tersebut, maka penelitian ini penting untuk dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui adanya cemaran *E.coli* dan tingkat resistensinya terhadap empat antibiotik yang digunakan peternakan tersebut. Adapun manfaat penelitian diantaranya hasil penelitian dapat dijadikan sebagai informasi dan bahan referensi untuk penelitian selanjutnya, menerangkan dan mensosialisasikan kepada peternak agar menggunakan antibiotik sesuai dengan standar dan aturan yang benar, serta menerangkan terkait bahaya akibat cemaran dari *E.coli* yang resisten kepada peternak.

Materi dan Metode

Materi penelitian menggunakan sampel asal feses segar ayam pedaging, *litter*, tanah luar kandang, dan sumber air untuk dilakukan tahap isolasi, identifikasi, dan uji resistensi.

Isolasi *E.coli* dilakukan dengan mengencerkan sampel yang telah dikoleksi melalui pengenceran seri (1:10) menggunakan *sterile phosphate buffer* (pH 7,2) atau air destilasi steril. Hasil pengenceran sampel ditanam pada media *eosin methylene blue agar* (EMBA) dengan metode sebar dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Suardana *et al.*, 2016). Koloni *E.coli* pada media EMB akan dicirikan dengan warna hijau metalik. Perubahan warna hijau metalik tersebut disebabkan karena *E.coli* mampu memfermentasikan laktosa dengan

cepat dan memproduksi banyak asam (Khakim dan Rini, 2018).

Identifikasi *E.coli* dilakukan dengan uji pewarnaan Gram (Putri, 2017) dan konfirmasi lebih lanjut dilakukan dengan uji biokimia konvensional (IMViC) yakni *Indole* (I), *Methyl red* (MR), *Voges-Proskauer* (VP), dan *Citrate* (C) (Arshad *et al.*, 2006) serta *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA) untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menggunakan karbohidrat khusus dan kemampuan bakteri menghasilkan gas H₂S (Tantu *et al.*, 2013). Karakteristik *E.coli* pada uji biokimia yaitu terdapat cincin merah setelah diteteskan reagen Kovach pada uji indol, terjadinya perubahan warna menjadi merah pada uji MR, tidak terdapat perubahan warna pada uji VP dan uji sitrat, serta menghasilkan *butt* dan *slant* berwarna kuning pada uji TSIA.

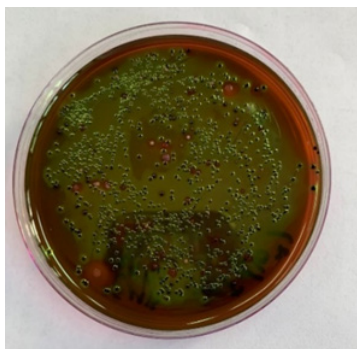
Setelah teridentifikasi positif *E.coli*, maka penelitian dilanjutkan pada tahap uji resistensi menggunakan metode *Kirby-Bauer*. Pada penelitian ini digunakan 4 jenis antibiotik yaitu; Eritromisin 15 µg, Neomisin 30 µg, Doksisisiklin 30 µg, dan Oksitetrasiklin 30 µg. Bakteri positif *E.coli* ditanam pada media MH selama 24 jam pada suhu 37°C. *E.coli* yang tumbuh pada media MH pertama kemudian dilanjutkan pada tahap preparasi inokulum dengan menyesuaikan kekeruhan suspensi menggunakan standar 0,5 McFarland. Suspensi yang sudah sesuai, maka diinokulasi pada media MH kedua menggunakan goresan *swab* sebanyak tiga kali pada seluruh permukaan agar. Selanjutnya, tempatkan disk antibiotik pada permukaan agar menggunakan pinset steril. Pelat media diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dengan posisi terbalik (Hudzicki, 2009).

Hambatan pertumbuhan bakteri yang terbentuk berupa zona terang di sekitar disk antibiotik. Zona terang yang terbentuk diukur menggunakan penggaris atau jangka sorong. Hasil yang diperoleh diinterpretasikan sesuai dengan standar CLSI (2022).

Hasil dan Pembahasan

Hasil penelitian ini menunjukkan 7 (70%) isolat positif *E.coli* dari 10 isolat yang diambil. Dari total isolat positif sebanyak 3 isolat (43%) merupakan isolat asal sampel feses segar dengan kode F1, F2, F3; 3 isolat (43%) lainnya

merupakan isolat asal *litter* dengan kode L1, L2, L3; dan 1 isolat (14%) merupakan isolat asal tanah luar kandang dengan kode T3. Identifikasi *E.coli* tahap awal dilakukan dengan pengamatan morfologi pada koloni yang tumbuh di media agar. Koloni *E.coli* pada setiap media memiliki karakteristik yang berbeda-beda. Pada media EMB, *E.coli* dicirikan dengan koloni hitam dengan pancaran kilap hijau metalik (Khakim & Rini, 2018), pendapat tersebut serupa dengan penelitian ini yang menemukan adanya koloni hitam dengan kilap hijau metalik pada seluruh isolat feses segar (F1, F2, F3) dan *litter* (L1, L2, L3). Hal tersebut mengindikasikan bahwa bakteri mampu memfermentasikan laktosa dan/ atau sukrosa (Wulandari *et al.*, 2022). Namun, dalam penelitian ini ditemukan juga beberapa koloni hitam yang tidak berpancar hijau metalik pada media EMB. Menurut Jamrin *et al.*, (2022), koloni pada media EMB yang tidak memancarkan kilap hijau metalik dapat berupa *E.coli* dengan kemampuan laktosa yang lemah atau bukan merupakan bakteri *E.coli*. Bakteri yang dapat tumbuh pada media EMB selain *E.coli* yakni koloni *Aerobacter aerogenes* dengan ciri-ciri bagian tengah berwarna coklat, dan bakteri gram negatif yang tidak memfermentasi laktosa tampak berwarna merah muda (Lal & Cheeptham, 2016).



Gambar 1. Pertumbuhan Koloni *E.coli* Asal Sampel Feses pada Media EMB. Jenis: APEC, Warna media : ungu gelap, Warna koloni : hitam dengan metalik hijau

Tahap identifikasi dilanjutkan dengan uji pewarnaan Gram untuk memastikan apakah koloni yang tumbuh merupakan bakteri gram negatif atau gram positif. *E.coli* memiliki karakteristik bakteri gram negatif berupa batang lurus, silindris, dengan ujung akhir membulat

yang berdiameter kurang lebih $0,5\mu\text{m}$ dan panjang $1.0-3.0\mu\text{m}$ berwarna merah (McVey *et al.*, 2022). Warna merah pada *E.coli* dihasilkan dari kemampuannya sebagai bakteri gram negatif yang mampu menyerap zat pewarna safranin (Tripathi & Sapra, 2023). Ciri-ciri tersebut sesuai dengan penelitian ini yang menemukan batang lurus pendek dengan ujung akhir membulat berwarna merah pada seluruh isolat feses segar, *litter*, tanah luar kandang, dan sumber air.

Identifikasi terakhir dilanjutkan dengan uji biokimia konvensional (IMViC) dan TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*) untuk melihat karakteristik bakteri melalui reaksi biokimia. Uji indol digunakan untuk mendeteksi kemampuan bakteri dalam menguraikan asam amino triptofan menjadi indol yang terakumulasi dalam medium. Hasil positif pada uji indol akan dicirikan dengan terbentuknya cincin berwarna merah setelah ditetesi reagen Kovach dan hasil negatif akan terlihat dengan tidak adanya perubahan pada media (Parija, 2012). *E.coli* memiliki kemampuan untuk memecah asam amino triptofan sehingga terbentuknya cincin merah yang menghasilkan hasil positif pada uji indol (Lewerissa dan Kaihena, 2014 dalam Ummamie *et al.*, 2017). Hal tersebut sesuai dengan penelitian ini yang menunjukkan hasil positif pada isolat F1, F2, F3, L1, L2, L3, dan T3. Sedangkan, pada isolat T1, T2, dan A menunjukkan hasil yang negatif.

Pada uji MR, hasil positif ditandai dengan terjadinya perubahan larutan dari kuning menjadi merah akibat bakteri mampu memproduksi dan mempertahankan produk akhir asam yang stabil selama fermentasi glukosa, sehingga mempertahankan pH yang berkelanjutan di bawah 4,5 (Parija, 2012). *E.coli* memiliki kemampuan untuk memfermentasikan karbohidrat menjadi produk asam, sehingga hasil pada uji MR yang didapat merupakan hasil positif (Rahayu dan Gumilar, 2017 dalam Kartikasari *et al.*, 2019). Hal ini serupa dengan penelitian ini yang menunjukkan perubahan warna merah pada seluruh isolat.

Pada uji VP, hasil positif ditandai dengan perubahan warna menjadi merah muda akibat dari kemampuan bakteri dalam memproduksi asetil metil karbinol (asetoin), produk alami

yang terbentuk dari asam piruvat selama fermentasi glukosa (Parija, 2012). *E.coli* tidak mampu memproduksi asetoin, sehingga pada uji VP ditandai dengan hasil negatif (Rahayu dan Gumilar, 2017 dalam Kartikasari *et al.*, 2019). Dalam penelitian ini, seluruh isolat menunjukkan hasil negatif dengan tidak adanya perubahan warna pada larutan.

Pada uji sitrat, bakteri yang mampu menggunakan sitrat sebagai sumber karbonnya akan menaikkan pH sehingga mengubah warna media dari hijau menjadi biru (Fatimawati, 2014 dalam Ummamie *et al.*, 2017). *E.coli* tidak memiliki kemampuan untuk menggunakan sitrat sebagai sumber karbonnya, sehingga pada uji sitrat akan menghasilkan hasil yang negatif. Dalam penelitian ini, terdapat 3 isolat dengan hasil positif sitrat dan 7 isolat dengan hasil negatif sitrat.

Uji biokimia terakhir yaitu TSIA yang bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menggunakan karbohidrat khusus dan kemampuan bakteri menghasilkan gas H₂S (Tantu *et al.*, 2013). Menurut Apriyanthi *et al.*, (2022), *E.coli* akan menghasilkan *butt* dan *slant* berwarna kuning (A/A) karena *E.coli* pada media TSIA mampu untuk memfermentasikan laktosa, glukosa, dan sukrosa. Dalam penelitian ini, seluruh isolat asal feses segar, *litter*, dan tanah luar kandang menghasilkan hasil

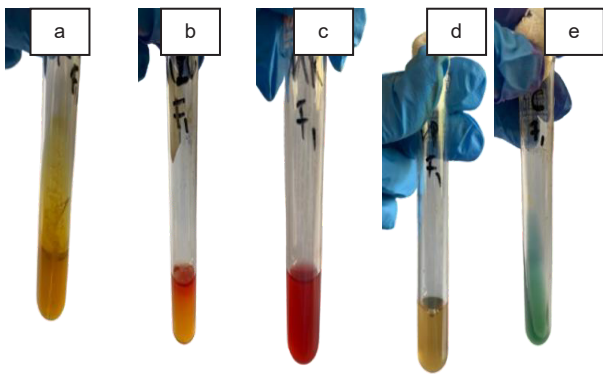
A/A, kecuali isolat asal sumber air yang menghasilkan K/A yaitu *butt* berwarna kuning dan *slant* berwarna merah. Menurut Darna *et al.* (2018), bagian miring media berwarna merah menunjukkan sifat alkalis (K) dan pada bagian tusukan berwarna kuning menunjukkan senyawa glukosa bersifat asam (A). Sehingga hasil yang ditunjukkan pada isolat sumber air hanya mampu memfermentasikan glukosa saja.

Atas dasar tahap identifikasi yang dilakukan, maka penelitian ini menunjukkan bahwa *E.coli* dapat ditemukan pada feses segar ayam pedaging, *litter*, dan tanah luar kandang. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Mohamed *et al.* (2017) yang berhasil mengidentifikasi *E.coli* asal feses segar ayam pedaging di Algeria sebanyak 32 isolat *E.coli*. Selain itu, penelitian ini serupa dengan Khong *et al.* (2023) yang menemukan 68 isolat *E.coli* asal *litter* dan serupa dengan Sonola *et al.* (2021) yang mengisolasi *E.coli* asal tanah sebesar 31%.

E.coli merupakan flora normal yang berhabitat primer dan sekunder di usus hewan berdarah panas dan lingkungan. Pada unggas, *E.coli* berada di saluran pencernaan bawah yang kemudian berkolonisasi dalam 24 jam setelah menetas. *E.coli* yang berasal dari usus ayam akan menyebar ke lingkungan melalui kendaraan berupa feses (Stromberg *et al.*, 2017). Berdasarkan pendapat tersebut, maka *E.coli*

Tabel 1. Tabel Identifikasi *E.coli* dan Uji resistensi Isolat *E.coli* pada Seluruh Jenis Sampel

Sampel	Kode Sampel	Isolasi pada Media EMB (Koloni hitam dengan hijau metalik)	Uji Pewarnaan Gram	Uji Biokimia					Hasil Deteksi <i>E.coli</i>
				TSIA	Indole	MR	VP	Citrate	
Tanah	T1	Koloni hitam	Batang, merah	A/A	-	+	-	+	-
	T2	Koloni hitam	Batang, merah	A/A	-	+	-	+	-
	T3	Koloni hitam	Batang, merah	A/A	+	+	-	-	+
<i>Litter</i>	L1	Koloni hitam dengan hijau metalik	Batang, merah	A/A	+	+	-	-	+
	L2	Koloni hitam dengan hijau metalik	Batang, merah	A/A	+	+	-	-	+
	L3	Koloni hitam dengan hijau metalik	Batang, merah	A/A	+	+	-	-	+
Feses Segar	F1	Koloni hitam dengan hijau metalik	Batang, merah	A/A	+	+	-	-	+
	F2	Koloni hitam dengan hijau metalik	Batang, merah	A/A	+	+	-	-	+
	F3	Koloni hitam dengan hijau metalik	Batang, merah	A/A	+	+	-	-	+
Sumber Air	A	Koloni hitam	Batang, merah	K/A	-	+	-	+	-



Gambar 4.3 Uji Biokimia pada Sampel Feses. Dengan TSIA : A/A (a), Indol : + (b), MR : + (c), VP : - (d), Sitrat : - (e)

yang terdapat pada *litter* dan tanah luar kandang dalam penelitian ini berasal dari feses yang telah tercemar oleh *E.coli* resisten. Selain itu, dalam penelitian ini tidak ditemukannya tanda cemaran *E.coli* dari sumber air yang digunakan oleh peternakan yang diteliti, sehingga penyebaran *E.coli* resisten hanya berasal dari *E.coli* yang keluar bersama feses.

Jenis *E.coli* komensal pada unggas yang dapat menyebabkan kerugian akibat timbulnya penyakit kolibasilosis adalah APEC (*Avian Pathogenic Escherichia coli*). Faktor virulensi APEC ditentukan oleh kemampuannya dalam adhesi, invasi, sistem perolehan zat besi, protektin, toksin, sistem dua komponen, sistem sekresi, sistem quorum sensing (QS), regulator transkripsional, dan gen yang terkait dalam metabolisme. Faktor-faktor ini memainkan berbagai peran dalam infeksi APEC, termasuk perlekatan pada sel inang, invasi sel inang, kelangsungan hidup di dalam sel fagositik (makrofag), kolonisasi jaringan, persistensi dalam aliran darah, proliferasi/replikasi di dalam sel, lisis dan kerusakan sel, mengasingkan logam dari cairan tubuh untuk pertumbuhan, ketahanan terhadap aktivitas bakterisida serum dan tekanan oksidatif dan lingkungan, motilitas, dan pembentukan biofilm (Kathayat *et al.*, 2021).

Menurut McVey *et al.* (2022), kolibasilosis menampilkan manifestasi klinis berupa *air sacculitis, perihepatitis, omphalitis, pericarditis, egg peritonitis, salpingitis, coligranuloma, osteomyelitis, arthritis, dan cellulitis* pada unggas dan spesies avian lainnya. Kolibasilosis sendiri sudah menjadi penyakit yang sering terjadi di dunia industri perunggasan. Di Indonesia, kerugian yang disebabkan oleh

kolibasilosis mencapai 13,10% dari total aset perunggasan baik secara langsung maupun tidak langsung (Effendi, 2022).

Patotipe APEC dilaporkan telah mengalami banyak resistensi akibat penggunaan antibiotik yang tidak tepat guna. Menurut Tohmaz *et al.* (2022) penyalahgunaan antibiotik telah berkontribusi terhadap munculnya dan penyebaran resistensi antimikroba (AMR), serta evolusi patogen terhadap *multidrug resistance* (MDR). Potensi genetik resistensi terhadap antibiotik dapat diperoleh melalui mutasi atau *horizontal gene transfer* (HGT). Hal tersebut sesuai dengan penelitian ini sebab peternak memberikan antibiotik sebagai tindakan profilaksis.

Pada minggu pertama, peternak memberikan antibiotik dengan kandungan oksitetrasiklin dan neomisin sebagai tindakan pencegahan dari penyakit saluran pencernaan unggas. Kemudian pemberian antibiotik dilanjutkan dengan kandungan eritromisin dan doksisisiklin pada minggu kedua sebagai tindakan pencegahan dari penyakit saluran pernapasan unggas. *E.coli* sebagai bakteri komensal yang terpapar antibiotik terus menerus akan bermutasi dengan mengembangkan mekanisme resistensinya sesuai dengan antibiotik yang diberikan.

Antibiotik eritromisin termasuk ke dalam golongan makrolida dengan aktivitas antibakteri spektrum luas yang memiliki efek terhadap bakteri gram negatif dan gram positif. Eritromisin bekerja dengan pengikatan ireversibel pada subunit 50s ribosom dan penghambatan selektif sintesis protein dengan memblokir transpeptidasi dan perpindahan mRNA (Wang *et al.*, 2022). Antibiotik golongan makrolida ini sering digunakan sebagai pengobatan penyakit kronis pernapasan akibat *Mycoplasma pneumonia* (Robert, 2014) serta penyakit akibat *Campylobacter* sp. pada peternakan unggas (Lim *et al.*, 2016). Resistensi terhadap eritromisin dalam penelitian ini dapat disebabkan karena *E.coli* memiliki beberapa mekanisme resistensi. Berdasarkan penelitian Gomes *et al.*, (2019), *E.coli* mampu bertahan dari golongan makrolida dengan adanya mutasi kromosom (*rplD, rplV* dan 23S rRNA), 10 gen resistensi makrolida (MRGs), dan ekspresi berlebih *efflux pump*.

Antibiotik kedua yang diujikan dalam penelitian berasal dari golongan aminoglikosida yakni neomisin. Neomisin memiliki sifat polikationik sehingga dapat membantu untuk mengikat gugus fosfat bermuatan negatif dari RNA 16S di situs A subunit ribosom 30S yang mampu menghambat sintesis protein (Bhattacharjee, 2016). Dalam penelitian ini, *E.coli* 100% resisten terhadap neomisin sebab *E.coli* memiliki dua mekanisme resisten terhadap golongan aminoglikosida. Mekanisme pertama yakni menggunakan modifikasi target yang melibatkan 16S RNA dan/atau S5 dan S12 protein ribosom. Mekanisme kedua yaitu menggunakan inaktivasi enzimatis yang dilakukan oleh enzim yang memodifikasi molekul sehingga tidak dapat mencapai atau berikatan dengan situs target. Adapun 3 tipe enzim pengubah aminoglikosida tersebut yaitu asetiltransferase, nukleotidiltransferase, dan fosfotransferase (Poiler *et al.*, 2018).'

Antibiotik ketiga dan keempat yang diujikan dalam penelitian ini berasal dari golongan tetrasiklin yakni oksitetrasiklin dan doksisisiklin. Kedua antibiotik ini memiliki farmakodinamik serupa yaitu berperan sebagai bakterostatik yang dapat menghambat sintesis protein dengan mengikat subunit ribosom 30S. Dalam industri unggas, oksitetrasiklin digunakan untuk mengobati penyakit seperti *chronic respiratory disease*, *infectious coryza*, dan *fowl cholera* (Sudha *et al.*, 2022). Doksisisiklin juga sering digunakan dalam industri perunggasan untuk mengobati infeksi akibat gram negatif dan gram positif terutama infeksi saluran pernapasan, saluran pencernaan, dan saluran urinaria (Solimat *et al.*, 2015 dalam Ariyani *et al.*, 2018).

Berdasarkan Poiler *et al.*, (2018) resistensi yang terjadi pada golongan tetrasiklin dapat disebabkan oleh gen resisten yang dimiliki oleh *E.coli*. Terdapat 9 *efflux genes* tetrasiklin [*tet(A)*, *tet(B)*, *tet(C)*, *tet(D)*, *tet(E)*, *tet(G)*, *tet(J)*, *tet(L)*, dan *tet(Y)*], 2 gen resisten yang mengkodekan protein proteksi ribosom [*tet(M)* dan *tet(Y)*], dan 1 gen pengkode oksidoreduktase [*tet(X)*]. *Efflux genes* merupakan gen yang memicu terjadinya pengeluaran berbagai macam antibiotik karena spesifisitas poli-substratnya dan mendorong perolehan mekanisme resistensi tambahan dengan menurunkan konsentrasi antibiotik

intraseluler serta mendorong akumulasi mutasi (Sun *et al.*, 2014).

Penelitian ini menunjukkan adanya *multidrug resistance* (MDR) yaitu keadaan ketika bakteri menjadi resisten terhadap berbagai senyawa sitotoksik yang tidak berhubungan secara struktural (Catalano *et al.*, 2022). Adapun definisi lain dari MDR merupakan ketidakpekaan suatu mikroorganisme terhadap obat antimikroba atau antibiotik yang diberikan (yang secara struktural tidak berhubungan dan memiliki target molekuler yang berbeda) meskipun sebelumnya sudah sensitif terhadap obat tersebut (Tanwar *et al.*, 2014). Atas dasar definisi tersebut, *E.coli* yang diisolasi dari feses segar (F1, F2, F3), litter (L1, L2, L3), dan tanah luar kandang (T3) mengalami MDR karena terjadi resistensi terhadap empat jenis antibiotik yakni eritromisin, neomisin, doksisisiklin, and oksitetrasiklin.

Berdasarkan penelitian ini, maka ada beberapa solusi yang dapat dilakukan dalam menanggulangi kejadian MDR di peternakan Ujung Berung yakni menggunakan antibiotik diluar golongan yang telah dipakai, menambahkan dosis maksimum obat yang sudah ada, dan upaya meningkatkan sensitivitas terhadap obat yang sudah resisten.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan pada peternakan ayam pedaging di daerah Ujung Berung dapat disimpulkan bahwa terdapat cemaran *E.coli* yang berasal dari feses segar, litter, dan tanah luar kandang 3 dengan jenis APEC (*Avian Pathogenic Escherichia coli*). Isolat asal feses dan litter memiliki tingkat resistensi 100% terhadap eritromisin, 100% terhadap neomisin, 66,7% terhadap doksisisiklin, dan 66,7% terhadap oksitetrasiklin. Selain itu, isolat asal tanah yang terbukti positif *E.coli* menunjukkan hasil resisten terhadap seluruh antibiotik yang diuji.

Ucapan Terima Kasih

Peneliti ingin mengucapkan terima kasih kepada laboran yang ada di Laboratorium Mikrobiologi Gedung C4, Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran serta kepada penanggung jawab manajemen produksi dan

manajemen kandang di Peternakan Ayam Pedaging Ujung Berung.

Daftar Pustaka

- Andriyani, M., Afiff, U., Tiuria, R. (2020). Gambaran kepekaan *Escherichia coli* dari peternakan ayam broiler di Desa Bojongkerta Kabupaten Sukabumi terhadap antibiotik. *ARSHI Vet Lett*, 4(1), pp. 19-20.
- Apriyanthi, R., Widayanti, N. (2022). Identifikasi Bakteri Kontaminan Pada Gelang Tri Datu. *Bioma : Jurnal Biologi Makassar*, 7(2), pp. 24-33.
- Ariyani, N., Nurhidayah, Istianingsih, Ambarwati, Sari, R. (2018). *Doxycycline and Ciprofloxacin Resistance in Escherichia coli Isolated From Layer Feces*. Surabaya, Airlangga University.
- Bhattacharjee, M. K. (2016). *Chemistry of Antibiotics and Related Drugs*. New York: Springer International Publishing.
- Catalano, A. Lacopetta, D., Caramella, J., Scumaci, D., Giuzio, F., Saturnino, C., Aquaro, S., Rosano, C. Sinicropi, M. (2022). Multidrug Resistance (MDR): A Widespread Phenomenon in Pharmacological Therapies. *Mdpi*, 27(3), p. 616.
- CLSI. (2022). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 33rd ed. CLSI supplement M100. Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Darna, Turnip, M., Rahmawati. (2018). Identifikasi Bakteri Anggota Enterobacteriaceae pada Makanan Tradisional Sotong Pangkong. *Jurnal Labora Medika*, 2(2), pp. 6-12.
- Effendi, M. H. (2022). *Kejadian, Resistensi Antimikroba, dan Potensi Risiko Zoonosis Avian Pathogenic Escherichia Coli*. [Online] Available at: <https://unair.ac.id/kejadian-resistensi-antimikroba-dan-potensi-risiko-zoonosis-avian-pathogenic-escherichia-coli/> [Accessed Wednesday June 2023].
- Gomes, C., Roldan, L., Mateu, J., Ochoa, T., Riuz, J. (2019). *Azithromycin resistance levels and mechanisms in Escherichia coli*, UK: Scientific Reports.
- Hudzicki, J. (2009). Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. *American Society For Microbiology*. pp. 1-23.
- Jamrin, N., Suhaimi, N., Zulkifli, M., Yusof, N. (2022). Presumptive Multidrug-Resistant *Escherichia coli* Isolated in Drinking Water and Soil Sources from Kadamaian, Sabah. *medRxiv*, pp. 1-16.
- Kabir, S. L. (2010). Avian Colibacillosis and Salmonellosis: A Closer Look at Epidemiology, Pathogenesis, Diagnosis, Control and Public Health Concerns. *Int J Environ Res Public Health*, 7(1), pp. 89-114.
- Kartikasari, A., Hamid, I., Damayanti, R., Praja, R. (2019). Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* Kontaminan Pada Daging Ayam Broiler Di Rumah Potong Ayam Kabupaten Lamongan. *Jurnal Medik Veteriner*, 2(1), pp. 66-71.
- Khakim, L., Rini, C.S. (2018). Identifikasi *Escherichia coli* dan *Salmonella sp.* pada Air Kolam Renang Candi Pari. *Medrica*, 1(2), pp. 84-93.
- Khong, M., Synder, A., Magnaterra, A., Young, M., Barbieri, W, S. (2023). Antimicrobial resistance profile of *Escherichia coli* isolated from poultry litter. *Poultry Science*, 102(1), p. 102305.
- Lal, A., Cheeptham, N. (2016). Eosin-Methylene Blue Agar Plates Protocol. *American Society For Microbiology*, pp. 1-7
- Lim, S.K., Moon, D.C., Chae, M.H., Kim, H.J., Nam, H.M., Kim, S.R., Jang, G.C., Lee, K., Jung, S.C.,
- Lee, H.S. (2016). Macrolide resistance mechanisms and virulence factors in erythromycin-resistant *Campylobacter* species isolated from chicken and swine feces and carcasses. *The Journal of Veterinary Medical Science*, pp. 1-15.
- McVey, D.S., Kennedy, M., Chengappa, M.M. McVey, D.S., Kennedy, M., Chengappa,

- M.M. Wilkes, R. (2022). *Veterinary Microbiology*. 4th ed. New York: John Wiley & Sons, Inc.
- Mohamed, L., Ge, Z. Yuehue, L., Yubin, G., Rachid, K., Mustapha, O., Junwei, W., Karine, O. (2018). Virulence traits of avian pathogenic (APEC) and fecal (AFEC) *E. coli* isolated from broiler chickens in Algeria. *Tropical Animal Health and Production*, Volume 50, pp. 547-553
- Parija, S.C. 2012. *Microbiology Immunology* 2nd Edition. Elsevier, India
- Poiler, L., Madec, J.Y., Lupo, A., Schink, A.K., Kieffer, N., Nordmann, P., Schwarz, S. (2018). Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli*. *Microbial Spectrum*, 6(4), pp. 1-27.
- Putri, A.R. (2017). Resistensi *Escherichia coli* dari Isolat Daging Ayam *Broiler* Terhadap Tetrasiklin Di Peternakan Kecamatan Summersari Kabupaten Jember. Universitas Jember.
- Tantu, W, Tumbel, R., Londong, S. (2013). Deteksi keberadaan bakteri *Aeromonas* sp pada ikan nila yang dibudidayakan di karamba jaring apung danau Tondano. *Budidaya Perairan*, 1(3), pp. 74-80.
- Tanwar, J., Das, S., Fatima, Z., Hameed, S. (2014). Multidrug Resistance: An Emerging Crisis. *Interdiscip Perspect Infect Dis*, p. 541340.
- Tohmaz, M., Badouei, M., Rahmani, H., Tabar, G. (2022). Antimicrobial resistance, virulence associated genes and phylogenetic background versus plasmid replicon types: the possible associations in avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC). *BMC Veterinary Research*, 18(421), pp. 1-15.
- Tripathi, N. S. A. (2023). *Gram Staining*. St.Petersburg, Florida, US: StatPearls.
- Naipospos, T.S.P., Sunandar, Nurbiyanti, N. (2021). Laporan Studi Resistensi Antimikroba Dalam Rantai Pangan Ayam Potong. *CIVAS*. Bogor
- Niasono, A.B., Latif, H., Purnawarman, T. 2019 Resistensi Antibiotik Terhadap Bakteri *Escherichia coli* yang Diisolasi dari Peternakan Ayam Pedaging di Kabupaten Subang, Jawa Barat. *Jurnal Veteriner Jurnal Veteriner*; 20(2), pp. 187 – 195.
- Siahaan, S., Herman, M.J., Fitri, N. (2021). Antimicrobial Resistance Situation in Indonesia: A Challenge of Multisector and Global Coordination. *Journal of Tropical Medicine*, pp. 1-10.
- Sonola, V., Katakweba, A., Misinzo, G., Matee, M. (2021). Occurrence of Multi-Drug-Resistant *Escherichia coli* in Chickens, Humans, Rodents and Household Soil in Karatu, Northern Tanzania. *MDPI*, 10(9), p. 1137.
- Stromberg, Z., Johnson, J., Fairbrother, J., Kilbourne, J., Goor, A., Curtiss, R., Mellata, M. (2017). Evaluation of *Escherichia coli* isolates from healthy chickens to determine their potential risk to poultry and human health. *Plos One*, pp. 1-18.
- Suardana, I.W., Sumiarto, B., Widaya, L.D. (2016). Isolasi dan Identifikasi *Escherichia coli* O157:H7 pada Feses Sapi di Kecamatan Petang, Kabupaten Badung-Bali. *Buletin Veteriner Udayana*, 8(1), pp. 30-35.
- Sudha, S., Parthasarathi, N., Prabha, D., Velmurugan, P., Sivakumar, S., Anitha, V., Shrestha, A., Chinnathambi, A., Alharb, S.A., Lakshmanaperumalsamy, P. (2022). Oxytetracycline Degrading Potential of *Lysinibacillus* sp. Strain 3+I Isolated from Poultry Manure. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, pp. 1-10.
- Sun, J. D. Z. Y. A. (2014). Bacterial multidrug efflux pumps: Mechanisms, physiology and pharmacological exploitations. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 453(2), pp. 254-267.
- Sutiknowati, L.I. (2016). Bioindikator pencemar, bakteri *Escherichia coli*. *Oseana Majalah Ilmiah Semi Populer*, 41(4), pp. 63-71.
- Ummamie, L., Rastina, E. (2017). Isolasi dan Identifikasi *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Pada Keumamah

- Di Pasar Tradisional Lambaro, Aceh Besar. *JIMVET*, 1(3), pp. 574-583.
- Van Boeckel, T.P., Brower, C., Gillbert, M., Grenfell, B.T., Levin, S.A., Robinson, T.P., Teillant, A., Laxminarayan, R. (2015). Global trends in antimicrobial use in food animals. *PNAS*, 112(18), p. 5649–5654.
- Varhan, H.Z., Sumiati, Astuti, D.A. (2022). Evaluasi Suplementasi Probiotik dan Asam Organik dalam Air Minum Ayam Petelur di Mega Farm Sukabumi. *Jurnal Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan*, 20(2), pp. 83-88.
- Wang, B., Nam, S., Kim, E., Jeon, H., Lee, K., Xie, K. (2021). Identification of Erythromycin and Clarithromycin Metabolites Formed in Chicken Liver Microsomes Using Liquid Chromatography–High-Resolution Mass Spectrometry. *Foods*, 10(7), p. 1504.
- WHO, (2021). Antimicrobial resistance. [Online] Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance> [Accessed Tuesday May 2023]
- Widhi, A.P.K.N., Saputra, I.M.Y. (2021). Residu Antibiotik Serta Keberadaan *Escherichia Coli* Penghasil ESBL pada Daging Ayam Broiler di Pasar Kota Purwokerto. *Jurnal Kesehatan Lingkungan Indonesia*, 20(2), p. 137 – 142.
- Wulandari, W., Nasution, M., Sidabutar, H., Pulungan, A. (2022). *Coliform* and *Escherichia coli* test in the air of wells of village Sido Makmur Kuala Distret Langkat Distret. *Jurnal Biosains*, 8(1), pp. 39-43.