



Tersedia daring pada: <http://ejurnal.undana.ac.id/jvn>

DETECTION OF ANTIBIOTICS RESISTANT *ESCHERICHIA COLI* IN WATER SOURCES FROM POULTRY FARMING ENVIRONMENTS IN KELAPA LIMA DISTRICT, KUPANG CITY

Annisah Lisdewi¹, Novalino H.G. Kallau², Annytha I. R. Detha³

¹*Faculty of Medicine and Veterinary Medicine, Veterinary Study Program, Nusa Cendana University, Kupang*

²*Department of Veterinary Medicine and Veterinary Public Health, Faculty of Medicine and Veterinary Medicine, Nusa Cendana University, Kupang*

* Corresponding author: lisdewiannisah@gmail.com

Abstract

Keywords: <i>Water</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Resistance</i> <i>Antibiotics</i>	<p><i>Clean water is water that can be used for daily purposes whose quality meets health requirements and can be drunk if it has been cooked. The source of origin of the spread of resistant bacteria in addition to human and environmental origin has been reported to also come from animal husbandry. The presence of antibiotic-resistant bacteria such as Escherichia coli on farms is a threat to the health of farm animals and humans around the farm area. This study aims to obtain information about the percentage of E. coli and the incidence of antibiotic resistance in E. coli bacteria isolated from water sources in the poultry farming environment in Kelapa Lima District, Kupang City. A total of 30 water source samples were taken by purposive sampling method, out of 30 samples 16 positive samples of E. coli were found. Samples are tested to obtain E. coli isolates supported by identification test examinations with biochemical tests and subsequently tested their sensitivity patterns to antibiotics. The study was conducted by the Kirby-Bauer method. The type of antibiotic used in this study is based on the type of antibiotic in EFSA (2012) used in the monitoring of Resistant Antimicrobials (AMR) for Salmonella spp and E. coli through food. This guide suggests using a class of antibiotics commonly used in the treatment of bacterial infections in animals as well as humans. The interpretation of the results of this sensitivity test refers to the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI 2012). The results of this study showed that as much as 53.3% (16/30 samples) of the water population in the poultry farming environment in Kelapa Lima District, Kupang City contained E. coli and obtained a percentage of E. coli that was resistant to tetracycline antibiotics, which was 6.25% (1/16 sample).</i></p>
Korespondensi:	

PENDAHULUAN

Air merupakan salah satu kebutuhan hidup yang harus dipenuhi guna kelangsungan hidup manusia, adapun fungsi air adalah digunakan untuk minum, mengolah makanan, mandi, sumber tenaga, transportasi, pertanian, industri dan rekreasi (Hapsari, 2015). Air bersih adalah air yang dapat digunakan untuk keperluan sehari-hari yang kualitasnya memenuhi syarat kesehatan dan dapat diminum apabila telah dimasak (Permenkes No.416 Tahun 1990). Di Indonesia, air bersih yang dikonsumsi oleh masyarakat sebagai air minum umumnya bersumber dari air kemasan, air isi ulang, air PDAM, sumur bor atau pompa, mata air, penampungan air hujan, dan air sungai atau irigasi (Kemenkes RI, 2013). Penyakit yang penularannya terjadi melalui air yang terkontaminasi bakteri atau fungi patogen dan ditularkan kepada manusia melalui mulut atau sistem pencernaan disebut *Waterborne disease*.

Berdasarkan hasil penelitian Pakpahan *et al.* (2015) pengujian terhadap 51 depot air minum di Kecamatan Maulafa, Kota Kupang menunjukkan air minum telah tercemar mikroba sebanyak 26 depot air minum (51%), tercemar *Escherichia coli* 33,33%, dan tercemar total *Coliform* 51%. Hasil pemeriksaan Kantor Kesehatan Pelabuhan Kupang tahun 2013 terhadap tujuh sampel air minum isi ulang di Pelabuhan Kupang menunjukkan semuanya tercemar *E. coli* dan total *Coliform* selanjutnya pada pemeriksaan di laboratorium Unit Pelaksana Teknik Dinas (UPTD) Laboratorium Kesehatan Provinsi

NTT pada tahun 2013 di Kota Kupang menunjukkan bahwa 37,5% DAM tidak memenuhi persyaratan mikrobiologis (Pakpahan *et al.*, 2015).

Ditemukannya bakteri *Coliform* dan *E. coli* dalam air minum menunjukkan bahwa air minum tersebut telah terkontaminasi oleh feces manusia ataupun hewan dan mengandung patogen usus, dimana patogen tersebut dapat menimbulkan keracunan apabila tertelan bersamaan dengan makanan ataupun minuman yang dikonsumsi (WHO, 2008). *E. coli* secara umum merupakan flora normal pada saluran pencernaan manusia dan hewan, sehingga menjadi salah satu indikator yang sering digunakan untuk pengujian kontaminasi di lingkungan (Evans and Evans, 1996; Brooks *et al.*, 2013). *E. coli* menjadi salah satu penyebab infeksi pada manusia dan hewan yang dengan mudah dapat menyebabkan resistensi terhadap antibiotik (Paterson and Bonomo, 2005).

Sumber asal penyebaran bakteri resisten selain berasal dari manusia dan lingkungan telah dilaporkan juga berasal dari peternakan (Kallau *et al.*, 2019). Keberadaan bakteri resisten antibiotik seperti *E. coli* di peternakan merupakan ancaman bagi kesehatan hewan ternak dan manusia di sekitar daerah peternakan. Hal ini sejalan dengan Skockova *et al.* (2015) yang menunjukkan pengaruh resistensi terhadap kesehatan yang muncul di peternakan dapat juga memberi dampak pada kesehatan manusia di sekitarnya.

Antibiotik pada peternakan digunakan dengan tujuan: sebagai pengobatan, *metaphylactic*, *prophylactic* dan pemacu pertumbuhan (Noor dan Poeloengan, 2004). Dosis yang diserap atau dimetabolisme oleh individu hewan atau orang, berkisar 10-80%, dengan sisanya diekskresikan sebagai senyawa aktif melalui urin dan kotoran ke lingkungan yang dapat mengandung mikroorganisme resisten dan gen resistensi antimikroba (FAO 2018). Penggunaan antibiotik yang tidak tepat pemberian dan dosisnya dapat memicu terjadinya resistensi/ketahanan bakteri terhadap berbagai antibiotik sehingga berakibat pada gagalnya pengobatan pada kasus penyakit bakteri pada ternak (Rosyidi *et al.*, 2018). Resistensi antibiotik menyebabkan penurunan efektivitas pengobatan, peningkatan penularan infeksi, kenaikan mortalitas, dan meningkatkan biaya perawatan kesehatan yang signifikan, sedangkan penemuan antibiotik baru semakin lama semakin sedikit (Handayani *et al.*, 2017).

Pengujian air secara mikrobiologi sangat diperlukan untuk mengukur kualitas proses sanitasi dan derajat kontaminasi cemaran mikroba dalam air terutama pada air yang digunakan untuk keperluan sehari-hari. Berdasarkan uraian di atas, maka penelitian mengenai “Deteksi *Escherichia coli* Resisten Antibiotik pada Sumber Air dari Lingkungan Peternakan Unggas di Kecamatan Kelapa Lima Kota Kupang” penting untuk dilakukan.

METODOLOGI

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli sampai Agustus 2022. Pengambilan sampel dilakukan Kecamatan Kelapa Lima Kota Kupang. Analisis Sampel dilakukan di Laboratorium Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner (IPHK), Prodi Kedokteran Hewan Universitas Nusa Cendana

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat tulis, kamera, botol sampel, kertas label, gunting, *gloves*, masker, tissue, *cooler box*, cawan petri, korek api, kompor, ose, timbangan, batang pengaduk, tabung durham, rak tabung, plastik klip, *bluetip*, *stopwatch*, pipet ukur, *cotton bud*, gelas ukur, bunsen, tabung reaksi, kapas, kompor, *object glass*, pinset, lemari es, mikroskop, inkubator, autoklaf, biobase, microwave, penggaris, serta menggunakan aplikasi *epicollect 5*.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *alcohol* 70%, aquades, Isolasi bakteri (*Buffered Peptone Water* (BPW), dan *Mac Conkey Agar* (MCA)). Pewarnaan gram (kristal violet, pewarna safranin, *alcohol aseton*, larutan lugol, dan minyak emersi). Uji biokimia, *Sulfide Indole Motility* (SIM), media MR-VP, larutan alpha-naphthol, larutan KOH 40%, *Simmons Citrate Agar* (SCA)), es batu. Uji sensitivitas (*Mueller Hinton agar* (MHA), larutan NaCl 0.85%, dan cakram antibiotik siap pakai (tetrasiklin, ciprofloxacin dan *blank disk*)).

Metode Penelitian

Penentuan lokasi dan Pengambilan Sampel

Dalam penelitian ini teknik sampling yang digunakan adalah *sampling purposive* yaitu teknik penentuan sampel dengan pertimbangan atau kriteria-kriteria tertentu yang ditetapkan oleh peneliti untuk diteliti dan kemudian ditarik kesimpulannya (Sujarweni, 2016:86). Sampel air diambil dari beberapa titik dengan kriteria sebagai berikut: a). Sumber air berada tidak jauh dari peternakan unggas, b). Sampel air yang digunakan berasal dari sumur gali/bor, tangki dan danau/kali yang digunakan untuk keperluan sehari-hari.

Persiapan Alat dan Bahan Penelitian

Peralatan yang akan digunakan dicuci terlebih dahulu, kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121 °C dan tekanan 15 psi selama 15 menit (Ismail *et al.*, 2017).

Pengambilan Sampel

Metode pengambilan sampel mengacu pada SNI-2897-2008. Pengambilan sampel dilakukan dengan tata cara sebagai berikut: alat dan bahan disiapkan terlebih dahulu. Alat yang akan digunakan untuk pengambilan sampel dipastikan dalam keadaan steril. Dilakukan pengambilan sampel pada sumber air yang sudah ditentukan. Sampel air yang telah didapatkan, kemudian dimasukkan ke dalam botol sampel. Selanjutnya diberi label dengan mencantumkan nomor sampel, tanggal, waktu dan tempat pengambilan sampel. Kemudian sampel diawetkan dengan diberikan perlakuan pendinginan. Sampel dimasukkan ke dalam *cooler box*, kemudian dibawa ke laboratorium untuk dilanjutkan ke proses isolasi.

Isolasi dan Identifikasi Sampel

Isolasi sampel dilakukan pada sumber air yang diambil dari sekitar lingkungan peternakan unggas skala rumah tangga di Kecamatan Kelapa Lima Kota Kupang. Sebanyak 1 ml sampel air dan 9 mL larutan BPW dihomogenkan. Diambil sebanyak satu ose, diinokulasi ke dalam media MCA sebagai isolasi primer, kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Koloni berbentuk bulat dan berwarna merah bata diduga bakteri *E. coli* (Artha, 2017). Koloni *E. coli* pada MCA berwarna merah bata diambil sebanyak 4-5 koloni yang dicurigai *E. coli* dan diinokulasi ulang pada media MCA sebagai isolasi sekunder, diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18- 24 jam (Januari *et al.*, 2019). Koloni yang diduga *E. coli* diambil, selanjutnya dilakukan pewarnaan Gram. Koloni yang dinyatakan positif *E. coli* dimurnikan kembali pada media biakan MCA (inkubasi pada suhu 37 °C selama 18-24 jam dan disimpan sampai penggunaan berikutnya. Isolat yang diduga *E. coli* diuji lanjut menggunakan uji biokimia indol (SIM), *methyl red*, *voges proskauer*, dan sitrat (IMVIC). Hasil uji berupa isolat yang diduga *E. coli* kemudian dikonfirmasi dengan menganalisis data dari hasil isolasi dan identifikasi kemudian dilanjutkan untuk pengujian sensitivitas terhadap antibiotik.

Uji Resistensi Isolat Terhadap Antibiotik

Stok bakteri *E. coli* pada media MCA diambil 4-5 koloni bakteri dengan ose, dimasukkan ke dalam larutan NaCl 0.85% dan dihomogenkan. Diamati kekeruhan yang terjadi dan bandingkan tingkat kekeruhannya menggunakan standar 0,5 *McFarland*. Larutan diambil menggunakan *cotton bud* steril dicelupkan kedalam suspensi bakteri, kemudian

dibuat goresan pada media MHA hingga rata. Disk antibiotik (tetrasiklin, ciprofloxacin dan *blank disk*) diletakkan di atas media MHA, diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam (Januari *et al.*, 2019). Setelah 24 jam dilakukan pengukuran diameter zona hambat yang terjadi.

Penentuan kategori *susceptible*, *intermediate*, dan *resistance* ditentukan melalui ukuran daya hambat yang terbentuk berdasarkan standar *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI 2012).

Analisis Data

Data yang diperoleh akan dianalisis secara deskriptif dan disajikan dalam bentuk tabel dan gambar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kondisi Fisik Sampel

Berdasarkan beberapa hasil penelitian diperoleh dari ke-30 sumber sampel didapatkan hasil bahwa terdapat 3 sampel yang memiliki kondisi fisik air yang berbeda yaitu pada sampel dengan kode S1, S11, dan S15 yang memiliki kondisi fisik air yang berbau dan berkeruh sedangkan pada 27 sampel dengan kondisi fisik air tidak keruh dan tidak berbau.

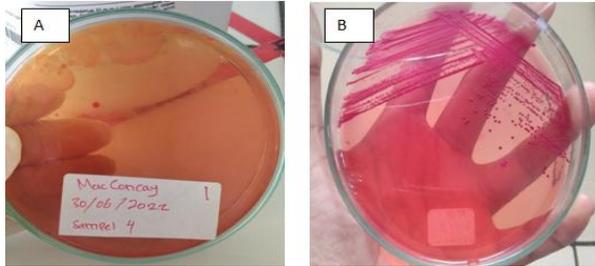


Gambar 1: Gambaran makroskopis sampel air

Air yang memiliki bau yang tidak normal (bau busuk) dan berwarna (keruh), maka air tersebut memiliki kualitas yang tidak baik dan dapat membahayakan kesehatan. Adanya bau busuk pada air disebabkan oleh bahan-bahan organik yang mengalami dekomposisi oleh mikroorganisme air (Slamet, 2011; Sutrisno dan Suciastuti, 2010) sedangkan pada kekeruhan air disebabkan karena adanya zat organik dan anorganik yang menyerap cahaya dengan frekuensi yang berlainan sehingga mengganggu penetrasi cahaya yang masuk ke dalam air (Mudatsir, 2007).

Isolasi sampel

Isolasi merupakan proses pemisahan satu jenis mikroba dengan mikroba lainnya dari berbagai macam campuran mikroba dengan tujuan untuk mendapatkan biakan murni (Putri dan Endang 2018). Media MCA merupakan salah satu media yang direkomendasikan untuk pengujian bakteri *Coliform* pada makanan, tumbuhan, dan air. Media ini direkomendasikan untuk mengkultur dan mengidentifikasi *E. coli* (Downes dan Ito, 2001; Eaton dkk., 2005; Wehr dan Frank, 2004). Pertumbuhan koloni berwarna merah menandakan bahwa bakteri tersebut dapat memfermentasi laktosa dan memproduksi asam dari hasil fermentasi laktosa sehingga dapat merubah warna indikator menjadi merah apabila pH dibawah 6,8. Pada media MCA terlihat juga pertumbuhan koloni tidak berwarna yang menandakan bakteri tersebut tidak dapat memfermentasi laktosa (Zimboru dan Power, 2003).



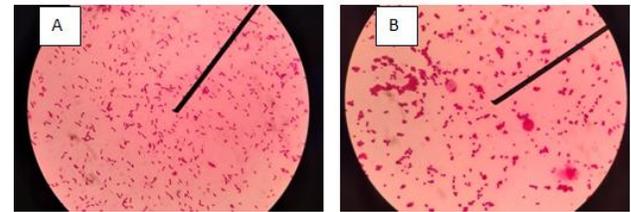
Gambar 2 (A) Isolasi koloni pada MCA yang diduga *E. coli* pada isolasi primer, (B) isolat koloni pada MCA yang diduga *E. coli* pada isolasi sekunder.

Pada isolasi koloni bakteri menggunakan media MCA didapatkan hasil ke-30 sampel menunjukkan pertumbuhan koloni bakteri. Temuan warna merah muda didapatkan karena kemampuan *E. coli* sebagai bakteri Gram negatif memfermentasi laktosa mengakibatkan pH media bernilai di bawah 6,8 menjadikan media berwarna merah netral namun oleh *E. coli* warna merah netral tersebut diserap sehingga pada akhirnya yang tersisa nampak pada media berwarna merah muda. Akan tetapi warna merah muda bukanlah satu-satunya warna yang spesifik untuk *E. coli*, sehingga butuh pemeriksaan lanjut untuk dapat mengidentifikasi adanya *E. coli* dengan melakukan uji pewarnaan Gram dan uji biokimia pada sifat-sifat *E. coli* untuk lebih memastikannya (Allen, 2005).

Identifikasi

Pewarnaan gram

Prinsip pewarnaan Gram yaitu saat bakteri diwarnai dengan kristal violet, bakteri Gram-positif akan menyerap zat warna tersebut sehingga berwarna ungu. Sedangkan bakteri Gram-negatif akan melepas zat warna kristal violet setelah dicuci dengan alkohol dan kemudian akan menyerap zat warna terakhir yang diberikan yaitu safranin sehingga berwarna merah (Putri dan Endang, 2018).



Gambar 3. Keterangan: (A) Hasil positif (+) *E. coli*, (B) Hasil negatif (-) *E. coli*. AB Perbesaran 1000X.

Hasil pewarnaan Gram terlihat adanya koloni berbentuk batang pendek/kokobasil dan berwarna merah karena dinding sel bakteri Gram-negatif menyerap zat pewarna kedua yaitu safranin (Gambar 3) sesuai dengan pernyataan Widiasih (2012) bahwa *E. coli* adalah bakteri Gram-negatif yang termasuk keluarga *enterobacteriaceae*, berwarna merah, berbentuk batang pendek (kokobasil) dengan ukuran panjang 0,4-0,7 μm dan lebar 1,4 μm .

Berdasarkan pengamatan di bawah mikroskop didapatkan hasil bahwa dari ke-30 sampel merupakan kelompok bakteri Gram-negatif. Hasil pewarnaan Gram memperlihatkan bahwa koloni bakteri yang diamati berwarna merah, 17 sampel dengan bakteri berbentuk batang/basil dan 13 sampel berbentuk bulat/coccus. *E. coli* berwarna merah dan berbentuk batang pendek berwarna pink, hal ini disebabkan karena *E. coli* memiliki komposisi dinding sel mengandung lipopolisakarida yang lebih banyak dibandingkan bakteri kelompok Gram-positif sehingga bakteri tersebut tidak mempertahankan zat kristal violet, namun saat diwarnai dengan safranin bakteri tersebut akan mempertahankan warna safranin menjadi warna pink (Baehaqi *et al.*, 2015).

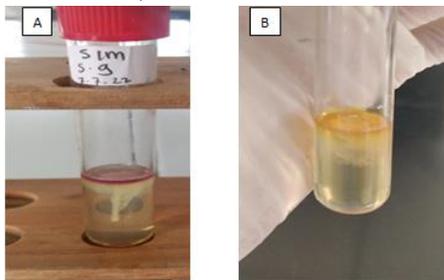
Uji Biokimia

Uji biokimia merupakan salah satu uji untuk identifikasi bakteri, uji-uji tersebut digunakan untuk mengetahui aktivitas metabolisme mikroorganisme. Uji biokimia

terdiri dari uji indol, uji merah metil, uji *Voges-Proskauer*, dan uji sitrat (Arifin, 2013).

a. Uji indol

Uji indol dilakukan pada media *Sulfide Indole Motility* (SIM). Uji ini bertujuan untuk mengidentifikasi kemampuan bakteri menghasilkan indol dengan menggunakan enzim tryptophanase menghidrolisis tryptophan, menjadi indol, piruvat dan amonia. Hal ini digunakan sebagai bagian dari prosedur IMViC, sebuah tes yang dirancang untuk membedakan antara anggota keluarga *Enterobacteriaceae* (Wulandari, 2020).



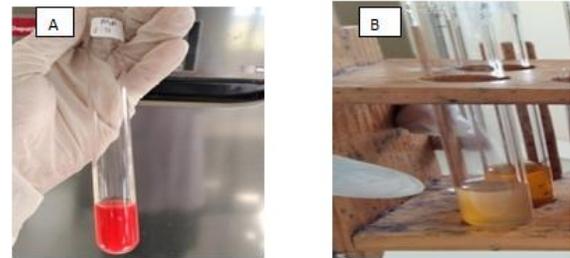
Gambar 4. Keterangan: (A) Hasil identifikasi uji indol positif (B) Hasil identifikasi *E. coli* pada uji indol negatif.

Berdasarkan hasil uji indol dapat dilihat pada Gambar 4 didapatkan hasil bahwa uji indol pada kode sampel S5 setelah ditetesi *reagen kovac* menunjukkan hasil reaksi negatif ditandai dengan terbentuknya lapisan cincin kuning pada permukaan media. Uji indol menunjukkan hasil negatif karena ditandai larutnya senyawa amino benzaldehida dalam air sehingga tidak membentuk warna merah seperti cincin sebagai pembentukan indol (Lumantouw *et al.*, 2013). *E. coli* memiliki kemampuan untuk memecah asam amino, hasil pengujian menunjukkan lapisan merah yang ditunjukkan dengan penambahan *reagen kovac* seperti pada Gambar 4A diatas (Hemraj *et al.*, 2013).

b. Uji methyl red

Uji MR dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri memproduksi mixed-acid

dengan menambahkan reagen methyl red. Hasil uji methyl red pada isolat bakteri *E. coli* adalah positif yang ditunjukkan dengan larutan berwarna merah ataupun *orange* sedangkan kuning berarti negatif (Rahayu dan Gumilar, 2017).



Gambar 5. Keterangan: (A) Hasil identifikasi uji MR positif, dan (B) Hasil identifikasi uji MR negatif (-).

c. Uji voges proskauer

Uji VP merupakan pengujian untuk mendeteksi asetoin dalam kultur bakteri. Pengujian ini dilakukan dengan penambahan alpha-naftol pada media VP yang telah diinokulasikan bakteri. Hasil positif akan menunjukkan perubahan warna menjadi merah, sedangkan warna kuning-coklat menunjukkan hasil negatif (Hemraj, 2013). Uji VP negatif untuk *E. coli* karena *E. coli* memfermentasikan karbohidrat menjadi produk asam dan tidak menghasilkan produk netral seperti aseton (Rahayu dan Gumilar, 2017).



Gambar 6. Hasil identifikasi uji VP negatif

d. Uji sitrat

Uji sitrat menggunakan media *Simmons Citrate Agar* (SCA). Media SCA merupakan salah satu medium yang digunakan untuk menguji kemampuan bakteri dalam menggunakan sitrat sebagai satu-satunya

sumber karbon yang digunakan (Cicilia *et al.*, 2019). Menurut Sudarsono, (2008) hasil positif ini ditandai dengan adanya perubahan warna medium dari warna hijau menjadi warna biru. Hasil pengamatan uji sitrat adalah negatif pada *E. coli* karena *E. coli* tidak memanfaatkan sitrat sebagai sumber karbon yang ditunjukkan tidak adanya perubahan warna pada media uji sitrat (Rahayu dan Gumilar, 2017).



Gambar 7. Hasil identifikasi *E. coli* pada uji sitrat negatif.

Tabel 1. Hasil uji Biokimia

Kode isolat <i>E. coli</i>	Uji Biokimia				Keterangan
	Uji Indol	Uji MR	Uji VP	Uji Sitrat	
S1	+	+	-	-	Positif <i>E. coli</i>
S2	-	+	-	-	Negatif
S3	+	+	-	-	Positif <i>E. coli</i>
S4	+	+	-	-	Positif <i>E. coli</i>
S5	-	-	-	-	Negatif
S6	-	-	-	-	Negatif
S7	-	-	-	-	Negatif
S8	+	+	-	-	Positif <i>E. coli</i>
S9	+	+	-	-	Positif <i>E. coli</i>
S10	+	+	-	-	Positif <i>E. coli</i>
S11	+	+	-	-	Positif <i>E. coli</i>
S12	+	+	-	-	Positif <i>E. coli</i>
S13	-	-	-	-	Negatif
S14	+	+	-	-	Positif <i>E. coli</i>
S15	+	+	-	-	Positif <i>E. coli</i>
S16	+	+	-	-	Positif <i>E. coli</i>
S17	+	+	-	-	Negatif
S18	+	+	-	-	Positif <i>E. coli</i>
S19	-	+	-	-	Negatif
S20	-	-	-	-	Negatif
S21	-	-	-	-	Negatif
S22	+	+	-	-	Positif <i>E. coli</i>
S23	-	-	-	-	Negatif
S24	+	+	-	-	Positif <i>E. coli</i>
S25	-	-	-	-	Negatif
S26	-	-	-	-	Negatif
S27	-	-	-	-	Negatif
S28	+	+	-	-	Positif <i>E. coli</i>
S29	-	+	-	-	Negatif
S30	+	+	-	-	Positif <i>E. coli</i>

Keterangan: * S = Sampel, (+) = positif, (-) = negatif

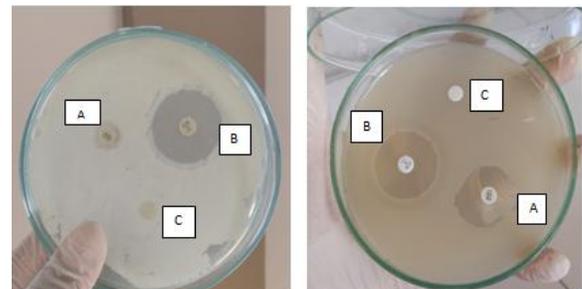
Berdasarkan SNI, 1992 *E. coli* dinyatakan positif apabila uji indol dan metil merah menunjukkan hasil positif, sedangkan uji *Voges-Proskauer* dan uji sitrat menunjukkan hasil negatif. Jika salah satu interpretasi hasil

tidak sesuai maka biakan yang diuji dinyatakan tidak mengandung *E. coli*.

Berdasarkan hasil yang didapatkan, presentasi kemiripan dari *E. coli* yang diujikan dengan literatur sebanyak 53,3% (16 sampel) yaitu ada pada sampel nomor 1, 3, 4, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 16, 18, 22, 24, 28 dan 30. Maka dari ke-16 sampel uji positif tersebut dilanjutkan untuk pengujian sensitivitas terhadap antibiotik tetrasiklin dan ciprofloxacin.

Pengujian kepekaan *E. coli* terhadap antibiotik

Pengujian kepekaan bakteri *E. coli* terhadap antibiotik dilakukan menggunakan metode difusi cakram (*disc diffusion method*). Antibiotik yang digunakan adalah tetrasiklin 30µg, dan ciprofloxacin 5µg. Hasil uji resisten antibiotik bakteri *E. coli* terhadap kedua antibiotik menunjukkan adanya hambatan pertumbuhan bakteri dengan terbentuknya zona hambat di sekitar cakram seperti pada Gambar 8.



Gambar 8. Diameter zona hambat (A) tetrasiklin (30µg), (B) ciprofloxacin (5µg) dan blank disk sebagai kontrol positif (C).

Sifat resistensi dan sensitif bakteri terhadap beberapa antibiotik yang ditentukan oleh diameter zona hambat yang terbentuk. Semakin besar diameter zona bening menunjukkan sensitivitas bakteri, sehingga diperlukan standar acuan untuk menentukan apakah bakteri tersebut termasuk resisten atau

sensitif terhadap suatu antibiotik (Panagan dan Syarif, 2009).

Tabel 11. Rata – rata diameter zona hambat dengan metode difusi cakram

Isolat <i>E. coli</i>	Antibiotik			
	TE (30 µg)	Keterangan	CIP (5 µg)	Keterangan
S1	23	Sensitif	35	Sensitif
S3	22	Sensitif	34	Sensitif
S4	20	Sensitif	28	Sensitif
S8	28	Sensitif	40	Sensitif
S9	27	Sensitif	35	Sensitif
S10	25	Sensitif	34	Sensitif
S11	22	Sensitif	27	Sensitif
S12	30	Sensitif	21	Sensitif
S14	35	Sensitif	33	Sensitif
S15	30	Sensitif	45	Sensitif
S16	10	Resisten	26	Sensitif
S18	23	Sensitif	35	Sensitif
S22	23	Sensitif	26	Sensitif
S24	23	Sensitif	25	Sensitif
S28	25	Sensitif	35	Sensitif
S30	20	Sensitif	32	Sensitif

Keterangan S = Sampel, TE = Tetrasiklin (S: ≥ 15 mm, I: 12-14mm, R: ≤ 11 mm) ; CIP = Ciprofloxacin (S: ≥ 21 mm, I: 16-20mm, R: ≤ 15 mm) (*Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2012)).

Pengujian terhadap antibiotik tetrasiklin (30µg), dan ciprofloxacin (5µg) didapatkan hasil bahwa antibiotik ciprofloxacin memiliki diameter zona hambat terbesar yaitu 45 mm dan tetrasiklin sebesar 35 mm. Hasil data pada Tabel 2 menunjukkan bahwa ke-16 isolat *E. coli* bersifat sensitif 100% (16) terhadap antibiotik ciprofloxacin dan tetrasiklin menunjukkan sensitivitas sebesar 93,8% (15/16) dan 1 isolat masuk kategori resisten (S16) sebesar 6,25% terhadap antibiotik tetrasiklin.

Didapatkan hasil persentase *E. coli* memiliki sifat sensitif sebesar 93,8% dan

resisten 6,25% terhadap antibiotik tetrasiklin. Tetrasiklin merupakan kelompok antibiotika yang dihasilkan oleh jamur *streptomyces aureofaciens* bersifat bakteriostatik dengan jalan menghambat sintesis protein dengan cara mengikat unit ribosom sel kuman 30S hingga mencegah terbentuknya amino-asetil RNA. Hal tersebut mencegah perpanjangan rantai peptida yang sedang tumbuh dan berakibat terhentinya sintesis protein sehingga dapat menghambat pertumbuhan *E. coli* (Setiabudy, 2016). Tetrasiklin merupakan antibiotika dengan daya jangkauan luas. Bakteri Gram negatif yang peka meliputi *E. coli*, *Shigella*, *salmonella*, *proteus* dan *pseudomonas* (Yuriadi, 2003).

Resistensi terhadap tetrasiklin disebabkan adanya gen yang mengkode resistensi yaitu gen ekstrakromosomal yang mampu bereplikasi dan mensintesis protein untuk kebutuhan plasmid itu sendiri (Agustanty & Andre, 2022). Kejadian resistensi dapat juga terjadi akibat terjadinya perpindahan materi resisten dari lingkungan luar kandang ke dalam lingkungan kandang. Lingkungan sekitar kandang dapat menyimpan berbagai materi resisten yang dapat berpindah antar bakteri. Lingkungan merupakan sumber utama bakteri resisten akibat dari penggunaan antibiotik di hewan maupun manusia. Penyebaran gen resistensi juga dapat terjadi melalui kontak langsung atau tidak langsung, melalui makanan, air, dan kotoran hewan ke lahan pertanian (Marshall dan Levy, 2011).

Uji sensitivitas antibiotik ciprofloxacin dari ke-16 isolat *E. coli* didapatkan hasil 100% sensitif dan 0% resisten terhadap antibiotik ciprofloxacin. Hal ini bisa dilihat pada zona hambat yang terbentuk pada media MHA. Ciprofloxacin ini efektif dalam melawan bakteri Gram-negatif maupun Gram-positif dengan cara

kerja mempengaruhi metabolisme asam nukleat pada bakteri. Ciprofloxacin merupakan antibiotik golongan fluoroquinolon. Antibiotik ini bekerja dengan cara menghambat enzim topoisomerase II (DNA gyrase) dan topoisomerase IV yang berperan dalam replikasi DNA. Antibiotik ini akan membentuk ikatan kompleks dengan masing-masing enzim dan DNA bakteri, sehingga mengakibatkan sitotoksik pada sel target (Nurmala *et al.*, 2015; Raini, 2016; Vidyavathi & Srividya, 2018). Mekanisme inilah yang mungkin menyebabkan ciprofloxacin masih sensitif terhadap isolat uji karena antibiotik ini memiliki dua target dalam sel bakteri, yaitu DNA girase dan topoisomerase IV. Apabila terdapat salah satu enzim bermutasi dan menyebabkan tidak terjangkaunya enzim tersebut, obat ini masih dapat menyerang enzim lain. Oleh sebab itu, ciprofloxacin tidak terlalu terpengaruh adanya mutasi tunggal (*single mutation*) serta masih mampu membunuh bakteri. Akan tetapi, penggunaan ciprofloxacin harus tetap rasional agar mencegah terjadinya resistensi terhadap kedua enzim dalam bakteri yang dapat menyebabkan tidak bekerjanya obat tersebut (Jacoby, 2005).

Menurut jurnal penelitian Kepel (2015) menyebutkan bahwa bakteri *E. coli* sensitif terhadap ciprofloxacin. Penelitian yang dilakukan oleh Mulia (2015) hasil yang didapatkan yaitu *E. coli* sensitif terhadap ciprofloxacin dengan persentase 100% dan mengatakan bahwa ciprofloxacin bukan termasuk antibiotik golongan β -laktam sehingga masih sensitif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*. Dari hasil penelitian yang didapatkan hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan Syafriana *et al.* (2020), pada uji resistensi *E. coli* dari air danau ISTN Jakarta terhadap antibiotik didapatkan hasil bahwa air

danau ISTN Jakarta positif mengandung *E. coli* yang 100% sensitif terhadap ciprofloxacin dan menunjukkan sensitivitas sebesar 75% pada tetrasiklin. Hasil yang sama Pada penelitian Hamida *at al.* (2019) pada uji *E. coli* resisten antibiotik asal air keran di kampus ISTN menunjukkan bahwa seluruh isolat *E. coli* menunjukkan sensitif terhadap tetrasiklin, kloramfenikol, dan ciprofloxacin.

Beberapa hasil penelitian yang telah dilakukan berbanding terbalik dari hasil isolasi yang dilakukan oleh *Antimicrobial Resistance in Indonesia (AMRIN-Study)* dengan perolehan hasil bahwa *E. coli* dinyatakan resisten terhadap berbagai pengobatan antibiotik, salah satunya terhadap antibiotik ciprofloxacin (Permenkes, 2015). Hasil penelitian Agustin *et al.* (2022) uji resistensi terhadap *E. coli* yang diisolasi dari swab kloaka ayam layer, di peternakan ayam petelur di desa Sesaot Kabupaten Lombok Barat menunjukkan bahwa antibiotik dikategorikan resisten terdiri dari *Tetracycline* (66.6%), Penicillin G (100%), dan *Oxytetracycline* (100%). Hal ini berjalan dengan Januari (2019) hasil pengujian resistensi antibiotik terhadap *E. coli* pada daging ayam dari pasar tradisional Kota Bogor menunjukkan tingkat resistensi yang cukup tinggi pada antibiotik tetrasiklin yaitu sebesar (86%).

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan terlihat adanya perbedaan prevalensi resisten *E. coli* yaitu ciprofloxacin resisten 0% dan pada tetrasiklin sebesar 6,25%. Terlihat bahwa kedua jenis antibiotik ini masih cukup sensitif pada isolat bakteri dengan daya hambat sensitivitas sebesar 100% pada ciprofloxacin dan tetrasiklin sebesar 93,8%. Rendahnya jumlah persentase resisten pada penelitian ini kemungkinan saja karena faktor penggunaan

antibiotik tetrasiklin dan ciprofloxacin yang masih rendah dalam peternakan-peternakan tersebut dalam hal pengobatan untuk hewan maupun manusia sehingga menimbulkan bakteri-bakteri yang berada di lingkungan peternakan tersebut masih cukup sensitif terhadap kedua jenis antibiotik. Menurut Srivani *et al.* (2017) adanya variasi yang muncul pada pola sensitivitas antibiotik disebabkan karena perbedaan lokasi geografis dan manajemen peternakan yang berbeda dalam kaitannya dengan manajemen pemberian antibiotik di peternakan unggas serta kondisi hygiene.

Resistensi antibiotik terjadi ketika bakteri memperoleh gen resisten yang memungkinkan untuk bertahan hidup saat terpapar antibiotik (WHO 2017). Pada umumnya bakteri yang resisten dapat mentransmisikan gen resistensinya ke flora usus manusia dan hewan yang bertindak sebagai reservoir untuk gen tersebut. Hewan juga dapat bertindak sebagai sumber patogen resisten antibakteri, sehingga menimbulkan ancaman berbahaya bagi kesehatan masyarakat. Misalnya, resistensi tinggi *E. coli* terhadap tetrasiklin yang dikaitkan dengan penggunaan tetrasiklin di bidang peternakan. Fleksibilitas genetik dan kemampuan beradaptasi *E. coli* pada lingkungan yang berbeda, bakteri ini telah mengembangkan banyak mekanisme untuk melawan aksi antibiotik. Hal ini menyebabkan bakteri memperoleh banyak gen resistensi dan/atau mengembangkan mutan resisten untuk bertahan hidup (Samy *et al.*, 2022).

Resistensi antibiotik berhubungan kuat antara penggunaan antibiotik dan resistensi. Semakin banyak kita menggunakan antibiotik, semakin cepat strain resisten muncul dan menyebar, dan bakteri mungkin ditularkan dari

manusia ke hewan dan sebaliknya. Resistensi antibiotik adalah dinamika proses yang melibatkan pertukaran gen antara patogen manusia dan hewan (Sobierajski *et al.*, 2022). Hal ini tentu menjadi perhatian karena resistansi dapat ditularkan ke lingkungan dan dapat berpindah ke bakteri lain, sehingga ke depan tantangan terhadap resistansi antibiotik semakin besar.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan terhadap isolat *E. coli* asal sumber air dari lingkungan peternakan unggas, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Ditemukan sebanyak 53,3% (16/30 sampel) populasi air dari lingkungan peternakan unggas di Kecamatan Kelapa Lima Kota Kupang mengandung *E. coli*.
2. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh persentase *E. coli* yang resisten terhadap antibiotik tetrasiklin yaitu sebesar 6,25% (1/16 sampel).

SARAN

1. Tingginya cemaran *E. coli* pada sumber air di Kota Kupang maka diperlukan penanganan hygiene dan sanitasi air bersih.
2. Perlunya penggunaan antibiotik secara bijak agar tidak mencemari lingkungan termasuk air bersih.
3. Diperlukan uji lanjutan dengan uji MPN *E. coli* pada sumber air di lingkungan peternakan unggas skala besar.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustanty A dan Andre B. (2022). Pola Resistensi Bakteri *Vibrio Cholerae* Terhadap Antibiotik Ciprofloxacin dan Tetracycline. *Journal Health and Science*. 6(1): 73-78.
- Agustin, A. L. D., Ningtyas, N. S. I. I., & Tirtasari, K. (2022). Resistensi Antibiotik Terhadap *Escherichia coli* yang Diisolasi dari Ayam Layer di Desa Sesaot Kabupaten Lombok Barat. *Media Kedokteran Hewan*, 33 (2): 87-95.
- Allen, M. E. (2005). MacConkey agar plates protocols. *American society for microbiology*, 1-4.
- Arifin, IN. (2013). *Analisis Mikrobiologi pada Makanan*. [SKRIPSI]. Program Studi Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Baehaqi, Mif, Sunardi, Akhlan, Riksmas, N. Ridalti, Heryati, Euis. (2015). *Psikiatri: Konsep Dasar dan Gangguan-Gangguan*. Bandung: PT. Refika Aditama
- Clinical Laboratory Standards Institute. (2012). Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. 22th ed. CLSI 2012 document M100-S22 Vol.32 No.3. USA: *Clinical Laboratory Standards Institute, Wayne, PA*. 45-48.
- Downes, F. P. dan K. Ito. 2001. *Compendium of Methods For the Microbiological Examination of Food*, 4th ed. APHA. Washington D.C.
- Eaton A. D., L. S. Clesceri, dan A. W. Greenberg. 2005. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 21st ed. APHA. Washington D.C.
- [FAO] Food and Agriculture Organization. (2018). Antimicrobial Resistance in the Environment. [Internet]. [diunduh 2018 Sept 8]. Tersedia pada: <http://www.fao.org/3/BU656en/bu656en.pdf>
- Hamida, F., Aliya, L. S., Syafriana, V., & Pratiwi, D. (2019). *Escherichia coli* Resistensi Antibiotik Asal Air Keran Di Kampus Istn. *Jurnal Kesehatan*, 12(1): 63-72.
- Handayani, R. S., S. Siahaan, & M. J. Herman. (2017). Resistensi Antimikroba dan Penerapan Kebijakan Pengendalian di Rumah Sakit di Indonesia. *Jurnal penelitian dan pengembangan pelayanan kesehatan*. 1:131-140.
- Hapsari, D. (2015). Kajian Kualitas Air Sumur Gali dan Perilaku Masyarakat di Sekitar Pabrik Semen Kelurahan Karangtalun Kecamatan Cilacap Utara Kabupaten Cilacap. *Jurnal Sains dan Teknologi Lingkungan*. 1(7):01-17.
- Hemraj, V., S. Diksha, dan G. Avneet. (2013). A Review on Commonly Used Biochemical Tests for Bacteria. *Innovare Journal of Life Science*. 1(1): 1-7.
- Ismail, Y. S., Yulvizar, C., & Putriani, P. (2017). Isolasi, karakterisasi dan uji aktivitas antimikroba bakteri asam laktat dari fermentasi biji kakao (*Theobroma cacao* L.). *Jurnal Bioleuser*, 1(2):45-53.
- Jacoby, G.A. (2005). Mechanism of Resistance to Quinolones. Oxford Journals: *Clinical Infectious Diseases*. Massachusetts: *Oxford Journals*, 41: S120-S126.
- Januari, C., Sudarwanto, M. B., Purnawarman, T. (2019). Resistensi Antibiotik pada *Escherichia coli* yang Diisolasi dari Daging Ayam pada Pasar Tradisional di Kota Bogor. *Jurnal veteriner* maret, 20 (1): 125-131.
- Kallau, N., Wibawan, I. W. T., Lukman, D. W., & Sudarwanto, M. B. (2019). Studi Pemetaan Multidrug resistant (Mdr) *Escherichia coli* pada Peternakan Babi di Kota Kupang. *Jurnal Kajian Veteriner*, 7(1): 70-90.
- Kemkes RI. (2013). *Riset Kesehatan Dasar*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.

- Kepel, L., Fatima Wali., dan Budiarmo, F. (2015). Uji Resistensi Bakteri *Escherichia coli* yang Diisolasi dari Plak Gigi Terhadap Merkuri dan Antibiotik Ciprofloxacin. *Jurnal e-Biomedik (eBm)*. 3(1).
- Lumantouw SF, Febby EFK, Sendy BR, Marina FOS. (2013). Isolasi dan identifikasi bakteri yang toleran terhadap fungisida mankozeb pada lahan pertanian tomat di Desa Tempok, Kecamatan Tomposo, Sulawesi Utara. *Bios Logos*. 3(2):73-77.
- Marshall, B. M., & Levy, S. B. (2011). Food animals and antimicrobials: impacts on human health. *Clinical microbiology reviews*, 24(4): 718-733.
- Mudatsir, M. (2007). Faktor-faktor yang Mempengaruhi Kehidupan Mikroba dalam Air. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*, 7(1): 23-30.
- Noor, S. M., & Poeloengan, M. (2005). Pemakaian antibiotik pada ternak dan dampaknya pada kesehatan manusia. Prosiding lokakarya nasional keamanan pangan produk peternakan. Bogor (ID): Puslitbang Peternakan, 18-22.
- Nurmala, Virgiani, ISN, Andriani, & Liana, D.F. (2015). Resistensi dan Sensitivitas Bakteri terhadap Antibiotik di RSUD dr. Soedarso Pontianak Tahun 2011-2013. *eJKI*, 3(1).
- Pakpahan, R. S., Picauly, I., & Mahayasa, I. N. W. (2015). Cemaran mikroba *Escherichia coli* dan total bakteri koliform pada air minum isi ulang. Kesmas: *Jurnal Kesehatan Masyarakat Nasional (National Public Health Journal)*, 9(4): 300-307.
- Panagan, A. T., & Syarif, N. (2009). Uji daya hambat asap cair hasil pirolisis kayu pelawan (*Tristania abavata*) terhadap bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Penelitian Sains*, Edisi Khusus 09. 12(6): 30-32.
- Peraturan Menteri Kesehatan R.I, No. 416/Menkes/Per/IX/1990 tentang syarat-syarat dan pengawasan kualitas air, Jakarta.
- Permenkes. (2015). Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 8 Tahun 2015 Tentang Program Pengendalian Resistensi Antimikroba di Rumah Sakit.
- Peterson, L. R. (2005). Squeezing The Antibiotic Balloon: The Impact of Antimicrobial Classes On Emerging Resistance. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. *The Feinberg School of Medicine, North Western University, USA*. 11: 4-16
- Putri, A. L., & Kusdiyantini, E. (2018). Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat dari pangan fermentasi berbasis ikan (Inasua) yang diperjualbelikan di Maluku-Indonesia. *Jurnal Biologi Tropika*, 1(2): 6-12
- Rahayu, S. A., & Gumilar, M. M. H. (2017). Uji cemaran air minum masyarakat sekitar Margahayu Raya Bandung dengan identifikasi bakteri *Escherichia coli*. *Indonesian journal of pharmaceutical science and technology*, 4(2): 50-56.
- Raini, M. (2016). Antibiotik Golongan Fluorokuinolon: Manfaat dan Kerugian. National Institute of Health Research and Development, Indonesian Ministry of Health. 26(3): 163-174.
- Rosyidi A, Sriasih M, Sukartajaya IM. (2008). Deteksi *Escherichia Coli* Sumber Ayam Kampung dan Resistensinya Terhadap Berbagai Antibiotik. Maduranch: *Jurnal Ilmu Peternakan*, 3(1): 17-22.
- Samy, A. A., Mansour, A. S., Khalaf, D. D., & Khairy, E. A. (2022). Development of multidrug-resistant *Escherichia coli* in some Egyptian veterinary farms. *Veterinary World*, 15(2): 488-495.
- Setiabudy, 2016 : Setiabudy, R., & Gunawan, S.G., (2016). Farmakologi dan Terapi, hal. 725, FKUI, Jakarta.
- Skočková A, Koláčková I, Bogdanovičová K, Karpišková R. (2015). Characteristic and antimicrobial resistance in *Escherichia coli*

- from retail meats purchased in the Czech Republic. *Food Control*. 47:401-406.
- Sobierajski, T., Mazińska, B., Chajęcka-Wierzchowska, W., Śmiałek, M., & Hryniewicz, W. (2022). Antimicrobial and antibiotic resistance from the perspective of polish veterinary students: An inter-university study. *Antibiotics*, 11(1): 115.
- Srivani, M., Reddy, Y. N., Subramanyam, K. V., Reddy, M. R., & Rao, T. S. (2017). Prevalence and antimicrobial resistance pattern of Shiga toxigenic *Escherichia coli* in diarrheic buffalo calves. *Veterinary World*, 10(7): 774-778.
- Standar Nasional Indonesia (SNI). SNI-2897-2008. Metode pengujian cemaran mikroba dalam daging, telur dan susu, serta hasil olahannya. *Standar Nasional Indonesia*, 1-32.
- Sudarsono, A, 2008, 'Isolasi dan Karakterisasi Bakteri pada Ikan Laut dalam Spesies Ikan Gindara (*Lepidocibium flavobronneum*), Skripsi, Institut Pertanian Bogor, Bogor
- Sujarweni, V. Wiratna. (2015) Metodologi Penelitian Bisnis & Ekonomi, Cetakan Pertama. Yogyakarta: Pustaka Baru Press.
- Vidyavathi, M., & Srividya, G. (2018). A review on ciprofloxacin: dosage form perspective. *Int J Appl Pharmaceut*, 10(4): 6-10.
- WHO. 2008. Microbial Fact Sheets : Guidelines For Drinking-Water Quality 3th. Switzerland: WHO.
- World Health Organization. (2017). Global Antimicrobial Resistance Surveillance System. (GLASS). Report: early implementation 2017.
- Yuriadi. (2003). Resistensi dan sensitivitas bakteri pada kuda penderita pneumonia di wilayah DIY. *J. Sain Vet*. 21: 6-13.
- Zimbro, M. J., Power, D. A., Miller, S. M., Wilson, G. E., & Johnson, J. A. (2003). Difco & BBL manual. Manual of Microbiological Culture Media, 7.