

Identifikasi Kolibasilosis dan Uji Resistensi Antibiotik pada Ayam Kampung

Identification of Colibacillosis and Antibiotic Resistance Test in Free-range Chicken

Indah Amalia Amri^{1*}, Eka Wulandari²

¹Laboratorium Mikrobiologi dan Imunologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya, Malang

² Mahasiswa Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya, Malang

*Email: indahamaliaamri@gmail.com

ABSTRAK

Bakteri *Escherichia coli* merupakan flora normal di dalam saluran pencernaan hewan dan manusia namun dapat bersifat oportunistik pada kondisi tertentu. Selain flora normal, terdapat juga strain patogen bakteri *E. coli* yang dapat menyebabkan penyakit. Penyakit yang dapat ditimbulkan oleh bakteri *E. coli* adalah kolibasilosis yang sering terjadi pada unggas. Salah satu gejala klinis yang muncul pada ayam yang menderita kolibasilosis adalah diare yang dapat timbul karena adanya enteritis. Studi ini bertujuan untuk mengidentifikasi kejadian kolibasilosis dan resistensi antibiotik dari bakteri *E. coli* pada Ayam Kampung. Temuan klinis menunjukkan hewan tampak lemas, diare, dan terdapat kotoran disekitar kloaka. Hasil nekropsis menunjukkan adanya hemoragi pada bagian duodenum dan sekum. Sampel swab organ yang mengalami hemoragi selanjutnya dilakukan pengujian isolasi dan identifikasi bakteri *E. coli* dan pengujian resistensi antibiotik menggunakan metode Kirby-Bauer 5 jenis antibiotik yaitu *penicillin*, *bacitracin*, *gentamicin*, *cefadroxil*, dan *ciprofloxacin*. Hasil pengujian menunjukkan bahwa Ayam Kampung mengalami kolibasilosis. Bakteri *E. coli* yang menjadi penyebab kolibasilosis mengalami resistensi terhadap antibiotik *penicillin* dan *bacitracin*, *intermediet* terhadap *cefadroxil*, serta sensitif terhadap *ciprofloxacin* dan *gentamicin*.

Kata Kunci: ayam kampung, *E. coli*, resistensi antibiotik

ABSTRACT

Escherichia coli are normal flora in the digestive tract of animals and humans but can be opportunistic under certain conditions. Apart from normal flora, there are also pathogenic strains of the *E. coli* bacteria that can cause disease in the hospes. The disease that can be caused by *E. coli* bacteria is colibacillosis which often occurs in poultry. One of the clinical symptoms that appear in chickens suffering from colibacillosis is diarrhea which can arise due to enteritis. This study aims to identify the incidence of colibacillosis and antibiotic resistance of *E. coli* bacteria in Free-range Chicken. Clinical symptoms showed that the animal looked weak, had diarrhea, and had feces around the cloaca. The necropsy results showed the presence of hemorrhage in the duodenum and caecum. Samples of organ swabs that experienced hemorrhage were then tested for isolation and identification of *E. coli* bacteria and antibiotic resistance using the Kirby-Bauer method for five types of antibiotics, penicillin, bacitracin, gentamicin, cefadroxil, and ciprofloxacin. The test results showed that the Free-range Chicken had colibacillosis. The *E. coli* bacteria that cause colibacillosis were resistant to penicillin and bacitracin antibiotics, intermediates to cefadroxil, and sensitive to ciprofloxacin and gentamicin.

Keywords: antibiotic resistance, *E. coli*, free-range chicken

PENDAHULUAN

Ayam kampung atau ayam buras adalah salah satu jenis ayam yang cukup dikenal oleh masyarakat di Indonesia. Data Kementerian Pertanian Republik Indonesia menyatakan bahwa pada tahun 2019 daging ayam kampung mampu menyediakan kebutuhan protein hewani nasional sebesar 6,01% dengan jumlah populasi mencapai 311.912.000 ekor (Kementerian Pertanian Republik Indonesia, 2019). Namun sama halnya dengan peternakan ayam pedaging pada umumnya, ayam kampung juga mengalami permasalahan utama yaitu munculnya penyakit. Penyakit yang dapat menyerang pada ayam kampung cukup banyak dan beragam, namun memiliki gejala yang mirip. Sehingga peternak membutuhkan pengetahuan dan pengalaman terkait penyebab penyakit pada ayam kampung secara umum sehingga peternak mampu membedakan ciri-ciri dari ayam yang sakit dengan ayam sehat. Sebagai negara tropis, penyakit pada ayam di Indonesia sangat mudah untuk berkembang. Penyakit yang sering menyerang ayam di Indonesia dapat disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya adalah karena infeksi baik dari virus, bakteri, parasit, maupun jamur dan kekurangan unsur nutrisi atau kombinasi dari berbagai agen infeksi (Wiedosari dan Sutiastuti, 2015). Salah satu penyakit bakterial yang terjadi pada ayam adalah kolibasilosis. Efek dari kejadian kolibasilosis ini adalah kerugian secara ekonomi yang cukup tinggi.

Kolibasilosis merupakan penyakit infeksius pada ayam ataupun unggas

karena disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* (*E. coli*) (Jamin dkk. 2015). Cara pengobatan ayam yang mengalami kolibasilosis adalah dengan penggunaan antibiotik. Namun penggunaan antibiotik harus sangat diperhatikan. Penggunaan antibiotik yang tidak tepat dan terus menerus dapat menyebabkan terjadinya resistensi antibiotik (Kusumaningsih, 2012). Selain itu, penggunaan antibiotik dapat meninggalkan residu pada jaringan (Haryati dan Supriyati, 2010). Residu antibiotik yang terdapat pada produk pangan asal hewan dapat masuk ke dalam tubuh manusia yang mengonsumsi pangan tersebut dan dapat berakibat pada kejadian *antimicrobial resistance*.

Pemeriksaan resistensi antibiotik terhadap bakteri *E.coli* sangat diperlukan untuk mengetahui tingkat resistensi bakteri terhadap berbagai jenis antibiotik yang kedepannya dapat digunakan untuk langkah pengobatan yang tepat terhadap penyakit kolibasilosis pada ayam kampung. Studi ini bertujuan untuk mengidentifikasi kejadian kolibasilosis dan resistensi antibiotik dari bakteri *E. coli* pada Ayam Kampung yang terserang kolibasilosis.

MATERI DAN METODE

Sampel

Sampel merupakan Ayam Kampung berumur 10 minggu yang menunjukkan gejala sakit seperti lesu, kurus, tampak adanya kotoran yang mengering dan menempel pada bulu disekitar kloaka dan mengalami gejala klinis diare. Sampel diperoleh dari salah satu pasar di Kota

Malang, Jawa Timur. Pemeriksaan patologi dilakukan dengan bedah bangkai (nekropsi) guna mengamati adanya perubahan patologi pada organ pencernaan yang selanjutnya dilakukan pemeriksaan mikrobiologis.

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam studi ini diantaranya yaitu adalah pinset, tabung reaksi, tabung erlenmeyer, gelas beker, rak tabung reaksi, mikroskop, kertas pembungkus, bunsen, inkubator, *needle*, *autoclave*, spatula, kompor, *object glass*, ose, cawan petri, dan kulkas. Bahan untuk studi ini yaitu ayam kampung, media *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB), *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA), *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), *Methyl Red Voges Proskeuer* (MRVP), *Simon Citrat Agar* (SCA), *Mueller Hinton Agar* (MHA), pewarnaan gram (kristal violet, lugol, alkohol, dan safranin), alfa naftol 5%, KOH 40%, reagen *Methyl Red*, alkohol 70%, aquades steril, kapas, spritus, minyak emersi, antibiotik Penisilin, Basitrasin, Gentamisin, Siprofloksasin, dan Sefadrokasil.

Isolasi dan Identifikasi *E. Coli*

Sampel organ ayam yang sakit dan diduga kolibasilosis diswab, diisolasi secara aseptis dan diinokulasikan dengan cara menumbuhkan pada media BHIB dan EMBA. Kemudian media diinkubasi 24 jam suhu 37°C dan dilakukan pewarnaan gram. Selanjutnya dilakukan pengujian biokimia dengan tes IMVIC (*Indol* (SIM), *Methyl Red*, *Voges Proskouer*, *Citrate*) dengan menggunakan media *Tryptone*

Broth untuk uji Indol dan MR-VP medium untuk uji *Methyl Red* dan *Voges Proskouer*, *Simon Citrate Medium* untuk uji sitrat. Bakteri positif *E. coli* akan menunjukkan kokobasil Gram negatif pada pewarnaan gram, menunjukkan pertumbuhan koloni berwarna hijau metalik pada media EMBA. Bakteri positif *E. Coli* pada tes IMVIC ditandai dengan perubahan SIM (Sulfit : (-), Indol : merah (+), Motility : motil (koloni putih menyebar), MR : Merah (+), VP : putih (-), dan Citrat (-) pada media SCA) (Suryani dkk, 2014).

Uji Resistensi Antibiotik

Pengujian terhadap resistensi antibiotik dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Imnuologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya dengan menggunakan metode Kirby-Bauer dengan standar CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*). Koloni bakteri dari media EMBA ditanam pada media BHIB dan diinkubasi suhu 37°C selama 24jam. Media BHIB dihomogenisasi dengan vortex dan ditambahkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 1 ml PBS untuk selanjutnya dibandingkan dengan standar *Mc Farland* 0,5 (1×10^7 sel/ml). Setelah suspensi dari media BHIB memiliki kekeruhan yang sama dengan standar *Mc Farland* 0,5 maka suspensi diinokulasikan pada media MHA dengan *streak plate method* dan dilakukan penempelan *disc antibiotic* (*ciprofloxacin*, *gentamicin*, *cefadroxil*, *penicillin*, *bacitracin*) dan selanjutnya diinkubasi 24 jam pada dengan suhu 37°C, untuk selanjutnya diamati zona hambat yang terbentuk.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemeriksaan Fisik Ayam

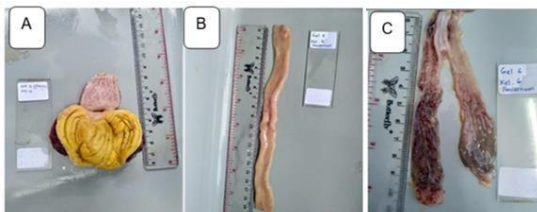
Ayam mengalami gejala sakit seperti lesu, kurus, tampak adanya kotoran yang mengering dan menempel pada bulu disekitar kloaka. Ayam diketahui mengalami diare selama 3 hari, dimana konsistensi feses nampak cair berwarna kecoklatan dan disekitar kloaka terlihat kotor (**Gambar 1**).



Gambar 1. Ayam terlihat lesu dan kloaka kotor

Nekropsi dan Pengambilan Sampel

Berdasarkan pemeriksaan patologi, ditemukan adanya hemoragi pada duodenum dan sekum sedangkan pada proventrikulus tidak ditemukan adanya kelainan (**Gambar 2**).



Gambar 2. Gambaran makroskopik patologi anatomi (A) Proventrikulus tidak mengalami perubahan patologis; (B) Duodenum mengalami hemoragi; (C) Sekum mengalami hemoragi

Pemeriksaan Mikrobiologi

Pemeriksaan mikrobiologi diawali dengan penanaman sampel organ pada media BHIB. Organ yang ditanam adalah organ pencernaan berupa Proventrikulus, Duodenum, Sekum, dan Kloaka. Media BHIB merupakan salah satu medium cair yang memiliki kandungan karbohidrat dan protein yang berfungsi sebagai media penyubur untuk pertumbuhan bakteri *E. coli* (Indrayati dan Akma, 2018). Hasil inkubasi dari BHIB menunjukkan bahwa ke empat sampel yang ditanam menunjukkan hasil positif (+) (**Gambar 3**). Hal ini menandakan adanya pertumbuhan bakteri pada media tersebut (Kartikasari dkk, 2019)

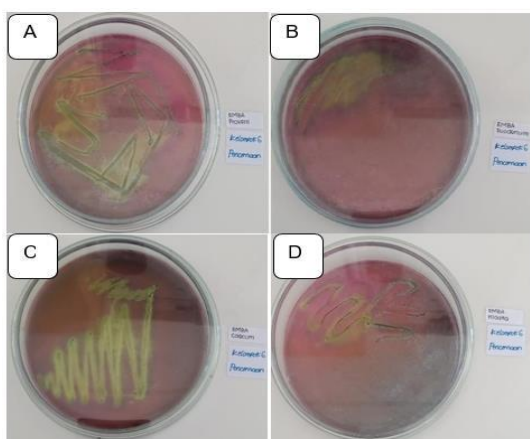


Gambar 3. Media BHIB positif (+)

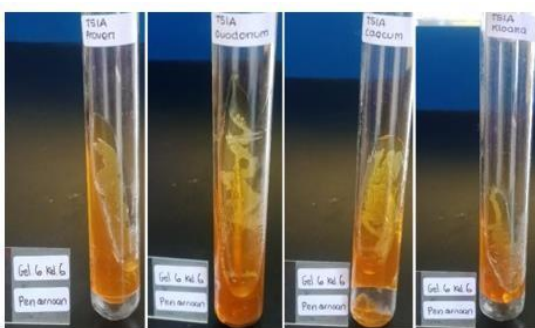
Tahapan selanjutnya adalah inokulasi sampel positif *E.coli* pada media EMBA dan pengujian biokimia metode IMVIC. Hasil pengujian tersaji pada **Gambar 4** hingga **Gambar 8** dan **Tabel 1**.

Hasil isolasi dan identifikasi bakteri pada saluran pencernaan ayam kampung dapat disimpulkan bakteri yang tumbuh merupakan *E. coli*. Hal tersebut didukung dari hasil pewarnaan gram dan pengujian biokimia. Isolat bakteri menunjukkan hasil berupa bakteri gram negatif.

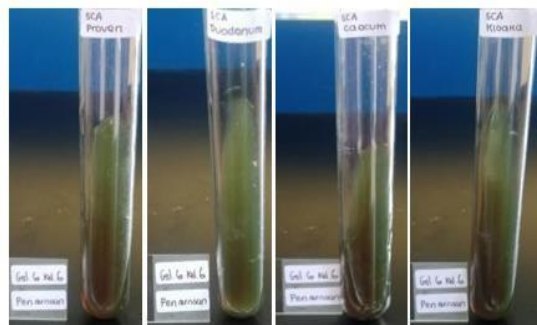
Pengujian biokimia menunjukkan bahwa penanaman pada berbagai media pertumbuhan bakteri yang di gunakan sesuai dengan pendapat (Suryani dkk, 2014) dimana bakteri positif *E. coli* akan menunjukkan pertumbuhan koloni yang berwarna hijau metalik pada media EMBA, tes IMVIC ditandai dengan perubahan SIM (Sulfit : (-), Indol : merah (+), Motility : motil (koloni putih menyebar), MR : Merah (+), VP : putih (-), dan Citrat (-) pada media SCA).



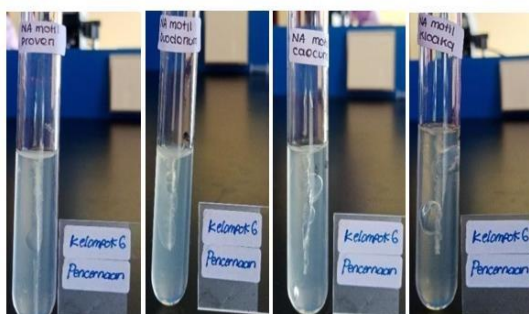
Gambar 4. Pertumbuhan bakteri pada media EMBA pada organ: (A) Proventrikulus, (B) Duodenum, (C) Sekum, (D) Kloaka.



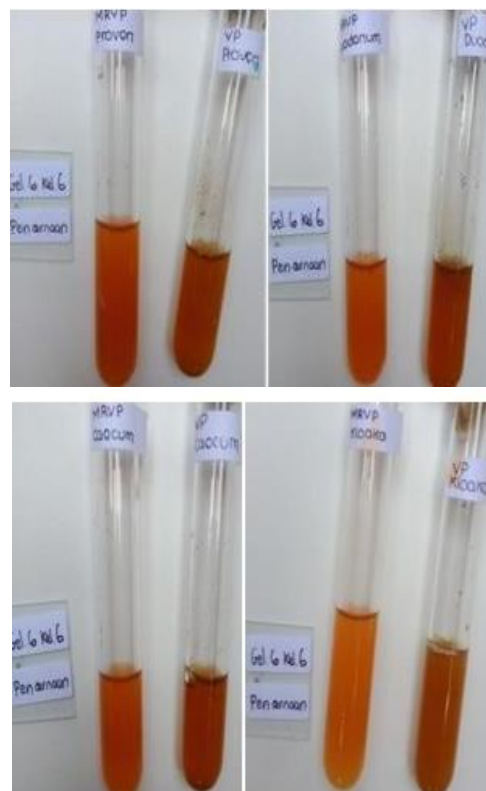
Gambar 5. Media TSIA dimana terlihat agar terangkat yang menandakan adanya gas H_2S



Gambar 6. Media SCA tidak mengalami perubahan



Gambar 7. Tampak bakteri membentuk koloni menyebar pada uji motilitas



Gambar 8. Media MRVP dimana terlihat tidak ada perubahan warna pada media agar

Setelah bakteri teridentifikasi sebagai *E. coli*, dilanjutkan pada pengujian resistensi antibiotik. Antibiotik merupakan pengobatan yang dilakukan untuk penanganan kolibasilosis. Uji resistensi antibiotik dilakukan guna melihat kemampuan antibiotik untuk melawan bakteri *E. coli*. Hasil menunjukkan (**Gambar 9**) bahwa antibiotik *ciprofloxacin* dan *gentamicin* sensitif terhadap bakteri *E. coli*, *cefadroxil* bersifat intermediet, sedangkan *penicillin* dan *bacitracin* bersifat resisten berdasarkan kinerja pengujian kerentanan antimikroba (CLSI, 2016).



Gambar 9. Uji sensitivitas antibiotik pada media MHA. P = *Penicillin*; B = *Bacitracin*; CIP = *Ciprofloxacin*; CFR = *Cefadroxil*; Cn = *Gentamicin*

Tabel 1. Hasil uji sensitivitas bakteri dengan media MHA dengan standar CLSI

Antibiotik	Hasil(mm)	Standar Kerentanan Antimikroba (mm)			Keterangan
		Susceptibility	Intermediet	Resistent	
<i>Penicillin</i>	9	≥ 17	14-16	≤ 13	Resisten
<i>Bacitracin</i>	0	≥ 8	6-8	≤ 5	Resisten
<i>Ciprofloxacin</i>	25	≥ 21	20-21	≤ 20	Sensitif
<i>Cefadroxil</i>	17	≥ 18	14-17	≤ 13	Intermediet
<i>Gentamicin</i>	15	≥ 15	13-14	≤ 12	Sensitif

Resistensi antibiotik didasarkan dari sifat bakteri dan cara kerja antibiotik berdasarkan golongan serta target antibiotik dalam membunuh bakteri. Penentuan kategori *sensitive*, *intermediet*, dan *resisten* berdasarkan dari *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) yang ditentukan dari ukuran zona hambat yang terbentuk. Bakteri *E. coli* resisten terhadap *penicillin* dan *bacitracin* dan sensitif terhadap *gentamicin* serta *ciprofloxacin*. Hasil tersebut sesuai dengan studi penelitian yang dilakukan oleh Maulana dkk, (2018) yang menyatakan bahwa 100% *E. coli* sensitif terhadap antibiotik *ciprofloxacin*. Penelitian ini juga menunjukkan hasil

yang sejalan penelitian yang dilakukan oleh Kepel dkk (2015) dimana 100% bakteri *E. coli* yang diuji *sensitive* terhadap antibiotik *ciprofloxacin*. Menurut Jacoby (2005) *ciprofloxacin* memiliki 2 target enzim dalam membunuh sel bakteri, yaitu DNA gyrase dan topoisomerase IV. *Ciprofloxacin* tidak terlalu terpengaruh dengan adanya *single mutation* karena apabila salah satu enzim mengalami mutasi dan tidak dapat terjangkau, maka masih dapat menyerang enzim yang lain.

Resistensi bakteri *E. coli* terhadap beberapa jenis antibiotik dapat disebabkan karena penggunaan antibiotik di dunia peternakan yang semakin

meningkat dan tidak terkendali. Penggunaan antibiotik sebagai pakan tambahan untuk memacu pertumbuhan ternak yang digunakan secara terus-menerus akan meningkatkan tingkat resistensi mikroba terhadap antibiotik (Kusumaningsih, 2012). Resistensi *E. coli* pada unggas juga ditemukan di Iran pada tahun 2012, dimana terdapat 154 isolat *E. coli* yang diuji resistensi antibiotik menunjukkan hasil sebesar 91,60% dan 62,03% resisten terhadap kloramfenikol dan florfenicol serta 96,10% dan 87,00% mengalami resisten terhadap *erythromycin* dan tiamulin (Braykov *et al.*, 2016; Oluduro, 2012). Kejadian resistensi antibiotik pada *E. coli* yang ditemukan pada unggas di Mesir juga menunjukkan angka yang tinggi, dimana isolat resisten terhadap amoksisilin (87,80%), enrofloxacin (72,20%), doxycycline (98,30%), ampicilin (84,50%), neomycin (75,00%), asam nalidiksik (96,700%), dan trimethoprim-sulfamethoxazole (82,20%) (Messaium *et al.*, 2013).

Kejadian resistensi terhadap antibiotik disebabkan karena bakteri sering terpapar antibiotik. Hal ini menyebabkan bakteri beradaptasi dengan membentuk selaput sel yang memiliki kemampuan untuk mencegah pengaruh antibiotik dan menghambat antibiotik masuk ke dalam sel bakteri. Terjadinya perubahan sifat resistensi dari bakteri akan semakin meningkat seiring dengan tidak terkontrolnya penggunaan antibiotik seperti kesalahan pemilihan antibiotik, penggunaan dosis yang tidak sesuai, dan lama pemberian antibiotik. Adanya resistensi terhadap antibiotik akan

menyebabkan kegagalan pengobatan (Besung dkk., 2018).

KESIMPULAN

Hasil dari berbagai pengujian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa Ayam Kampung mengalami kolibasilosis. Bakteri *E. coli* yang menjadi penyebab kolibasilosis mengalami resistensi terhadap antibiotik *penicillin* dan *bacitracin*, *intermediet* terhadap *cefadroxil*, serta sensitif terhadap *ciprofloxacin* dan *gentamicin*.

DAFTAR PUSTAKA

- Besung, N. K., Ketut, S. I., dan Gusti, T. P.G, K. 2018. Resistensi Antibiotik pada *Escherichia coli* yang Diisolasi dari Ayam Petelur. *Buletin Veteriner Udayana*.
- Braykov, N. P., Eisenberg, J. N., Grossman, M., Zhang, L., Vasco, K., and Cevallos, W. 2016. Antibiotic resistance in animal and environmental samples associated with small-scale poultry farming in northwestern Ecuador. *Applied and Environmental Science*, 1(1) : 1-15.
- CLSI. 2016. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. 26 Ed. Wayne: Clinical and Laboratory Standart Institute.
- Haryati, T., dan Supriyati. 2010. Pemanfaatan Senyawa Oligosakarida dari Bungkil Kedelai dan Ubi Jalar pada Pakan Ayam Pedaging. *JITV*, 15(4) : 253-260.
- Kementerian Pertanian Republik Indonesia. 2019. *Statistik Peternakan dan Kesehatan*

- Hewan. Jakarta: Kementerian Pertanian Republik Indonesia.
- Indrayati, S. dan Akma, S. F. 2018. Peranan Monosodium Glutamat sebagai Media Penyubur Alternatif Pengganti Brain Heart Infusion-Broth (BHIB) untuk Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Prosiding Seminar Kesehatan Perintis*, 1(1) : 1–6.
- Jacoby, G. A. 2005. Mechanisms of Resistance to Quinolones. *CID* , 41 (Suppl 2) : 120-126.
- Jamin, F., Abrar, M., Dewi, M., S.V.S, Y., Fakhrurrazi, Manaf, Z. H., dan Syafruddin. 2015. Infeksi Bakteri *Escherichia coli* pada Anak Ayam Kampung (*Gallus domesticus*) di Pasar Lambaro Aceh Besar. *Jurnal Medika Veterinaria*, 9(1) : 54-56.
- Kartikasari, A. M., Hamid, I. S., Purnama, M. T., Damayanti, R., Fikri, F., dan Praja, R. N. 2019. Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* Kontaminan Pada Daging Ayam Broiler di Rumah Potong Ayam Kabupaten Lamongan. *Jurnal Medik Veteriner*, 2(1) : 66-71.
- Kepel, L., Fatimawali, dan Budiarmo, F. 2015. Uji Resistensi Bakteri *Escherichia coli* yang Diisolasi dari Plak Gigi Terhadap Bakteri dan Antibiotik Siprofloksasin. *Jurnal e- Biomedik*.
- Kusumaningsih, A. 2012. Faktor pemicu foodborne diseases asal ternak. *Wartazoa*, 22(3): 107-112.
- Maulana, Rastina, dan Ferasyi, R. 2018. Resistensi *Escherichia coli* terhadap Antibiotik dari Telur Ayam Ras di Minimarket Darussalam Banda Aceh. *JIMVET*, 2(3), 335–340.
- Messaum, C., Boukhors, K., Khelef, and Hamdi, H. 2013. Antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* strains isolated from broiler chickens affected by colibacillosis in Setif. *J. Microbiol. Res*, 7(21): 2668-2672.
- Oluduro, A. 2012. Evaluation of Antimicrobial Properties and Nutritional of *Moringa oleifera* Lam. Leaf in South-Western Nigeria. *Malaysian Journal of Microbiology*, 8(2) : 59-67.
- Suryani, S., Rodesia, M., dan A, M. 2014. Seleksi dan Uji Antibakteri *Aktinomyces* Asal Tanah Gambut Rimbo Panjang Kampar Riau terhadap *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*. *JOM FMIPA*, 1(2) : 1-11.
- Wiedosari, E., dan Sutiasuti, W. 2015. Studi Kasus Penyakit Ayam Pedaging Di Kabupaten Sukabumi dan Bogor. *Jurnal Kedokteran Hewan*, 9(1) : 9-13.