

Kepekaan *Escherichia coli* dari Susu Kambing Peranakan Etawa terhadap Antibiotika**The Antibiotica Susceptibility of *Escherichia coli* Isolated from Etawa Goat Milk**¹Verry Shinta Widiyastutik, ²Wurlina, ²Budiarto¹ PPDH Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga² Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

Kampuc C Unair, Jl. Mulyorejo Surabaya – 60115

Telp. 031-5992785, Fax. 031-5993014

Email : vetunair@telkom.net

Abstract

The aim of this research to determined susceptibility of *Escherichia coli* was isolated from Etawa goat milk. Eighteen Etawa goat milk samples were used in this research and screened for mastitis using *California Mastitis Test* (CMT). For the isolation and identification of *Escherichia coli*, the milk samples were cultured on *Eosin Methylen Blue Agar* (EMBA), then it was followed with characterisation based on the haemolysis characteristics on *Blood Agar Plate*, *Gram staining*, and biochemically tested consist of *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), *Urea Agar*, *Sulphide Indol Motility* (SIM), *Methyl-Red* (MR), *Voges-Proskauer* (VP), *Simon Cytrate Agar*, *glucose*, *lactose*, *sucrose*, *mannitol*, and *maltose*. The susceptibility *Escherichia coli* to antibiotics was conducted by diffusion method on *Mueller-Hinton Agar*. The antibiotics disc for this test were *Chloramphenicol*, *Ciprofloxacin*, *Penicillin*, *Streptomycin*, and *Trimethoprim*.

The results showed that *Escherichia coli* could be isolated from two milk samples which were sensitive to *Trimethoprim*, *Chloramphenicol*, *Ciprofloxacin*, *Streptomycin*, and resistance to *Penicillin*.

Keywords : Etawa goat milk, *Escherichia coli*, Antibiotic, Mastitis.

Pendahuluan

Susu kambing Peranakan Etawa semakin populer dan semakin digemari karena selain rasanya enak, susu ini merupakan makanan yang sempurna. Beberapa kandungan susu kambing Peranakan Etawa diketahui lebih tinggi daripada susu sapi maupun air susu ibu, seperti protein, fosfor, kalsium, magnesium, natrium, kalium, dan vitamin B6 (Devendra, 1994). Salah satu kendala utama pada susu ini yakni kejadian mastitis. Mastitis merupakan peradangan kelenjar susu yang disebabkan oleh bakteri, bahan kimia, panas, dan luka mekanik. Pemeriksaan mastitis perlu dilakukan dan harus ada suatu diagnosa yang jelas didasarkan pada pemeriksaan klinik serta bakteriologik, sehingga pengobatan dan penanggulangan mastitis dapat dilakukan. Pemberian antibiotika sangat membantu untuk mengurangi kejadian dan kematian yang penyebab bakteri *E. coli* (Aggad *et al.*, 2010). Penggunaan antibiotika yang tidak sesuai anjuran ataupun pemberian dalam jangka

panjang dapat menimbulkan resistensi pada bakteri *E. coli* (Salehi and Bonab, 2006).

Materi dan Metode Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2012 sampai Desember 2012. Pengambilan sampel susu kambing Peranakan Etawa dilakukan di peternakan kambing Peranakan Etawa kota Sidoarjo dan kota Jember. Isolasi dan identifikasi dan uji kepekaan dilaksanakan di Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi tabung reaksi steril; ose; lampu bunsen; gelas obyek; *cover slip*; mikro pipet; mikrotip; pipet; spuit; scalpel; sentrifus; *vortexmixter*; mikroskop; inkubator; penangas; dan *refrigerator*. Sebelum penelitian dilaksanakan, peralatan yang akan digunakan disterilisasi selama 30 menit menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C, tekanan uap 15 pound/inci² (Pelczat *et al.*, 1993).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alkohol 70%; spiritus; karbol gentian violet; logol; alkohol 95%, air fucshin; minyak emersi; *Phosphate Buffer Saline* (PBS); aquades steril; methanol; safranin; dan larutan giemza pekat. Media untuk menumbuhkan bakteri yang digunakan adalah *Plat Agar Darah* (PAD); *Eosin Methylene Blue* (EMBA); *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA); agar urea; SIM; MR-VP; Citrat; uji gula; *disc* antibiotika (*Chloramphenicol*, *Ciprofloxacin*, *Penicillin*, *Streptomycin*, *Trimethoprim*).

Sebanyak 18 sampel susu kambing Peranakan Etawa dilakukan pemeriksaan mastitis dengan reagen *California Mastitis Test* (CMT). Delapan belas sampel susu dilanjutkan dengan identifikasi secara makroskopis dan mikroskopis. Sampel tersebut dibiakkan pada *Eosin Methylen Blue Agar* (EMBA) secara streak atau goresan dipermukaan pada media dan diinkubasi 37 °C selama 24 jam. Koloni hasil pertumbuhan dikelompokkan berdasarkan morfologi koloni yang menciri *Escherichia coli*, yakni membentuk warna hijau metalik. Masing-masing koloni yang tumbuh pada media EMBA yang diduga *Escherichia coli* dilakukan identifikasi secara mikroskopis dengan menggunakan uji pewarnaan Gram. Pewarnaan Gram dilakukan untuk membedakan bakteri yang tahan atau tidak tahan terhadap alkohol. Koloni yang tumbuh pada media EMBA dan diduga *Escherichia coli* dilakukan uji lanjut dengan cara isolasi dan identifikasi pada media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), *Agar Urea*, *Sulphide Indol Motility* (SIM) *Agar*, *MR-VP*, *Cytrat Agar*, dan uji gula-gula antara lain glukosa, laktosa, maltosa, manitol, maltosa. Koloni yang menciri *Escherichia coli* ditanam pada media *Plat Agar Darah* untuk mengetahui hemolisa atau tidak hemolisa.

Uji sensitifitas dikembangkan untuk menemukan kemampuan menghambat beberapa galur bakteri dari antibiotika tertentu (Brander *et al.*, 1991). Uji sensitifitas dengan menggunakan metode *diffusion disc* terhadap antibiotika *Chloramphenicol*, *Ciprofloxacin*, *Penicillin*, *Streptomycin*, *Trimethoprim*. Uji sensitifitas dilakukan dengan menuangkan 0,2 ml suspensi bakteri dalam NaCl fisiologis (0,85%) setarakan dengan jumlah koloni secara standard Mc. Farland no. 1 suspensi bakteri diperkirakan 3×10^8 CFU/ml pada *Mueller-Hinton Agar*. Setelah 10-15 menit, tanam disc antibiotika dengan jarak disc tidak terlalu dekat dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam.

Pengukuran dengan mistar dan dilakukan penentuan bakteri resisten, intermediate, dan kepekaan terhadap antibiotika, berdasarkan standard Kirby-Bauer.

Hasil dan Pembahasan

Setelah dilakukan isolasi pada 18 sampel susu kambing Peranakan Etawa, tidak didapatkan sampel susu yang tercemar penyakit mastitis terlihat tidak adanya endapan atau gumpalan pada susu yang telah di uji dengan reagen CMT. Didapatkan 2 koloni bakteri yang positif diduga *Escherichia coli* pada media EMBA dan bentuk batang pada pemeriksaan mikroskopis. Hal tersebut disebabkan adanya perbedaan dalam susunan kimia dinding sel bakteri, sehingga memberi perbedaan dan permeabilitas zat warna ke dalam bakteri sehingga bakteri yang tahan terhadap alkohol disebut Gram positif sedangkan bakteri yang tidak tahan dengan alkohol disebut bakteri Gram negatif. Sanitasi dan manajemen penanganan yang baik dan higienis dapat mempengaruhi kesehatan ternak dan produk ternak dari pencemaran penyakit. Sampel susu dengan sifat-sifat secara makroskopis berwarna hijau metalik pada media EMBA, membentuk cincin merah pada media SIM agar, motil ditandai dengan adanya kabut didalam tusukan bakteri media TSIA, memproduksi asam, tidak menggunakan sitrat sebagai sumber karbonnya dan secara mikroskopis berwarna merah, batang dan tidak berantai (Barness *et al.*, 2003; Wibowo dan Amanu, 2009). Membentuk transparan pada media *Plat Agar Darah* yang menunjukkan bahwa *Escherichia coli* hemolisis. Bakteri dikatakan α -hemolisis apabila eritrosit tidak dapat pecah dengan sempurna, merupakan protein heterogen yang dapat melisiskan eritrosit, akan memproduksi zona hemolisis terang atau *complete hemolysis* pada plat agar darah kambing dalam waktu 24 jam (Burrows *et al.*, 1954). Sedangkan β -hemolisis apabila eritrosit dapat pecah dengan sempurna. Beta hemolisin (β -toxin) bersifat aktif dalam melawan sel darah merah kambing, domba, lembu dan manusia, namun tidak pada kelinci. Toxin ini bekerja sebagai spingomyelinase C yang mendegradasi spingomyelinase dan bersifat toksik bagi sel darah merah manusia (Jawetz *et al.*, 1987; Carter and Darla 2004).

Tabel 1. Karakteristik Isolat positif *E.coli*

No.	Jenis Pengamatan		Hasil
1.	Makroskopis	Bentuk koloni	Bulat
		Warna	Hijau metalik
		Tepi koloni	Rata
2.	Mikroskopis	Pewarnaan Gram	Gram –
		Bentuk sel	Batang
		Susunan bakteri	Tidak berantai
3.	Uji Biokimia	TSIA	Positif (^A / _A , Gas (+), H ₂ S)
		Urea	Negatif
		SIM	Positif (Motil)
		MR	Positif
		VP	Negatif
		Citrat	Negatif
		Glukosa	Positif
		Sukrosa	Positif
		Laktosa	Positif
		Maltosa	Positif
		Manitol	Positif

Keterangan :

^A/_A : fermentasi membentuk asamGas⁺ : produksi gas positifH₂S : produksi H₂S positif

Hasil pengamatan uji kepekaan *Escherichia coli* terhadap antibiotika menunjukkan bahwa bakteri *Escherichia coli* membentuk zona hambatan atau kepekaan terhadap *Chloramphenicol*, *Ciprofloxacin*, *Streptomycin*, dan *Trimethoprim* sedangkan *Penicillin* resisten. Mikroba yang sensitif terhadap suatu antibiotika dapat menjadi resisten dikarenakan kebiasaan penggunaan antibiotika yang berlebihan dan tidak tepat (Azizah, dkk., 2002).

Tabel 2. Diameter zona Hambat Antibiotika Terhadap *Escherichia coli*

Kode Isolat	Antibiotika	Zona Hambatan (mm)	S	I	R
B7y	Chloramphenicol	29 (S)	≥16	13-17	≤12
	Ciprofloxacin	29 (S)	≥21	16-20	≤15
	Penicillin	6 (R)	≥17	14-16	≤13
	Streptomycin	18 (S)	≥15	12-14	≤11
	Trimethoprim	26 (S)	≥19	11-15	≤10
B8x	Chloramphenicol	30 (S)	≥16	13-16	≤12

Kode Isolat	Antibiotika	Zona Hambatan (mm)	S	I	R
	Ciprofloxacin	28 (S)	≥21	16-20	≤15
	Penicillin	7 (R)	≥17	14-16	≤13
	Streptomycin	16 (S)	≥15	12-14	≤11
	Trimethoprim	36 (S)	≥19	11-15	≤10

Keterangan :

S: Sensitivity

R: Resistance

I: Intermediate

Sumber : National committee for clinical laboratory Standards. *Performance standart for antimicrobial Disc susceptibility tests*. Tentative standard. 4th ed. Vilanova, PA, USA, NCCLS, 1998.

Terjadinya resistensi juga dapat disebabkan oleh kemampuan mikroorganisme sehingga menjadi resisten primer dan resisten skunder (Volk, 1992). Resistensi primer merupakan resistensi yang menjadi sifat alami mikroorganisme. Hal ini dapat disebabkan oleh adanya enzim pengurai antibiotik pada mikroorganisme sehingga secara alami mikroorganisme dapat menguraikan antibiotik. Contohnya resistensi *E. coli* terhadap *Penicillin* disebabkan oleh kemampuan bakteri menghasilkan enzim β-laktamase yang disandi oleh gen dalam plasmid faktor R. Faktor R termasuk kelas plasmid yang membawa gen untuk resisten terhadap satu atau lebih obat antibiotika sering mengontrol pembentukan enzim yang dapat menghancurkan obat (Jawetz, 1995; Krisnaningsih, dkk., 2005).

Mekanisme resistensi sekunder (dapatan) juga dapat berlangsung akibat adanya mekanisme adaptasi atau penyesuaian aktivitas metabolisme mikroorganisme untuk melawan efek obat, contohnya dengan perubahan pola enzim. Dengan demikian, mikroorganisme dapat membentuk enzim yang menguraikan antibiotik, contohnya : *Gentamycin* dan *Ciprofloxacin*. Resistensi terhadap antibiotika golongan aminoglikosida seperti *Gentamycin* muncul karena sel bakteri memproduksi enzim-enzim yang dapat menambah fosfat, asetat pada antibiotik aminoglikosida. Antibiotik tersebut tidak mampu terikat pada sub unit 30S ribosom sehingga tidak dapat menghambat sintesis protein (Krisnaningsih, dkk., 2005). Sedangkan pada penelitian ini tidak terjadi resisten terhadap *Ciprofloxacin* terjadi akibat tidak adanya mutasi. Tidak berubahnya pada enzim

sasaran dan girase DNA atau stabilnya permeabilitas selaput luar hingga terjadi peningkatan akumulasi obat pada bakteri (Plumb, 2002).

Berdasarkan tingkat resistensi yang tinggi terhadap *E.coli* maka dibutuhkan obat lain yang efektif *Chloramphenicol*, *Streptomycin*, dan *Trimethoprim* (Sharada, et al., 2010). Langkah ini untuk meminimalkan resistensi bakteri yaitu dengan penggunaan kombinasi obat, karena apabila muncul muatan terhadap satu obat, obat yang lain masih mampu menghambat pertumbuhan bakteri tersebut seperti *Amoxycillin* dan *Colistin sulfat*, dimana *Amoxycillin* merupakan spektrum luas sedangkan *Colistin sulfat* merupakan antibiotik yang efektif terhadap bakteri Gram negatif seperti *E. coli* (Wibowo dan Amanu, 2009).

Kesimpulan

Terbukti adanya bakteri *Escherichia coli* dari susu kambing Peranakan Etawa serta *Trimethoprim*, *Chloramphenicol*, *Ciprofloxacin*, *Streptomycin*, mempunyai kepekaan terhadap bakteri *Escherichia coli* sedangkan *Penicillin* resisten terhadap bakteri *Escherichia coli*.

Daftar Pustaka

- Aggad, H., Y. Ahmed. Anmar., Hammoudi. A, and M. Kihal. 2010. *Antimicrobial Resistance of Escherichia coli Isolated*. Journal of Global Veterinaria. 4: 303 – 306.
- Azizah, N., M. K. Astuti., D. Yudhabuntara, dan S. Budiharta. 2002. *Resistensi Isolat Lokal Escherichia coli Pembawa Gen VT1 dan VT2 asal Babi dan Domba / Kambing terhadap 6 Antibiotika*. Jurnal sains Veteriner. XX: 46 – 51.
- Burrows, W., Gordon, F. B., Porter, R. J., and Moulder, J. W. 1954. *Textbook of Microbiology*. 16th ed. W. B. Saunders Company, Philadelphia and London. P. 12-13: 306-309.
- Carter, G. M. and Wise, D. J. 2004. *Essentials of Veterinary Bacteriology and Mycology*. 6th edition. Iowa: Iowa State Press.
- Devendra, C. and Marca Burns. 1994. *Produksi Kambing di Daerah Tropis*. Bandung: Penerbit ITB.
- Jawetz, E., J. Melnick and E. Alberg. 1995. *Mikrobiologi kedokteran Edisi 20*. Penerbit EGC. Jakarta.
- Krisnaningsih, M. M. F., W. Asmara, dan M. H. Wibowo. 2005. *Uji Sensitivitas Isolat Escherichia coli Patogen Terhadap Beberapa Jenis Antibiotika*. Jurnal Sains Veteriner. I: 13-18.
- Pelczar, M. J., E. C. S. Chan, and N. R. Krieg. 1993. *Microbiology : Concept and Application*. Mcgraw-Hill. United State america. Page: 155-159, 205.
- Sallehi. T. Z, and S. F. Bonab. 2006. *Antibiotics Susceptibility pattern of Escherichia coli Strains Isolated from Chickens with Colisepticemia in Tabriz Province, Iran*. international Journal of Poultry Science. 5: 677 – 684.
- Sharada, R. S. W. Ruban, and M. Thyageswaran. 2010. *Isolated, Crakterization and Antibiotic Resistance Patter of Escherichia coli Isolated From Ruminan*. American-Eurasian Journal of Scientific Research. 5: 18 – 22.
- Volk, W. A. 1992. *Basic Mikrobiology*. 7th Edition. Harper Collin Publisher. New York. Page: 164, 175-175, 410-412.
- Wibowo, H. M, dan S. Amanu. 2009. *Efektifitas Pengobatan Preparat Kombinasi Amoksilin dan Kolistin Sulfat pada Kasus Infeksi Buatan Escherichia coli Patogen pada Kambing*. Jurnal sains Veteriner. I: 1-9.