

SENSITIVITAS ANTIMIKROBA TERHADAP BAKTERI *ESCHERICHIA COLI* YANG DIISOLASI DARI UDANG DI PASAR KEPUTRAN SURABAYA

Reina Puspita Rahmaniar*, Dyah Widhowati, Nurul Hidayah

Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Wijaya
Kusuma Surabaya

*Korespondensi email : puspita.rena@gmail.com

ABSTRACT

The aimed of this study was to identify antibiotic Resistance of *Escherichia coli* isolated from Shrimp. There were 20 samples taken and isolated on surface of Eosin Methilen Blue Agar. *E.coli* produced metallic green colonies. Samples identified as *E.coli* based on macroscopic features and morphology of colonies, microscopic examination with gram staining and biochemical tests. The antibiotic sensitivity was determined through a standard antimicrobial disk diffusion test. The results of this study showed that 9 samples were bacteria of the spesies *E. coli*. Based on the results of antibiotic sensitivity test, it was found that 100 % of *E. coli* isolates were resistant to Amoxycillin 20 µg and 22,2 % of isolates are resistant to ampicillin 10 µg. Antibiotics Tetracycline 30 µg and Chloramphenicol 30 µg were 100 % sensitive. Gentamicin 10 µg showed that 77,8 % sensitive and 22,2 % intermediet. The precence of antibiotic resistance of betalaktam antibiotics makes it especially important to monitor antimicrobial susceptibility and mechanisms of resistance of *E.coli* isolated from shrimp, because new mechanisms of resistance occurring in animals may enter the food chain and its be transferred to the human. This importance of cooperation between sectors in order to monitor antimicrobial resistance.

Key words: Escherichia coli, Shrimp, Antibiotic sensitivity

LATAR BELAKANG

Udang merupakan salah satu komoditi penting dari sektor perikanan karena bernilai gizi tinggi dan paling banyak diminati konsumen, sampai sekarang udang masih menjadi primadona perdagangan terbesar dibandingkan hasil perikanan lainnya dan produksi udang di Indonesia dari tahun ke tahun terus mengalami peningkatan (Pratiwi, 2008). Namun bahan yang

mengandung protein seperti udang umumnya mudah rusak oleh bakteri, udang umumnya dapat bertindak sebagai substrat untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan spesies mikroorganisme patogenik dan jika berkembang dalam jumlah yang cukup banyak dapat menyebabkan penyakit bagi manusia yang mengkonsumsinya (Shoki *et al.*, 2010).

Bakteri yang terdapat pada komoditi hasil perikanan yang menyebabkan infeksi pada saluran cerna manusia salah satunya adalah *Escherichia coli* (Mary *et al.*, 2019). Bakteri *Escherichia coli* merupakan indikator adanya kontaminasi fecal yang dapat menurunkan mutu suatu produk perikanan terutama *Escherichia coli* yang bersifat resisten terhadap antibiotik yang dapat mengancam kesehatan manusia (Rocha *et al.*, 2014).

Antibiotik digunakan untuk mencegah dan mengobati penyakit pada udang. Penggunaan antibiotik yang tidak tepat dalam pengobatan telah terbukti tidak efisien dalam jangka panjang dan memberikan

tekanan selektif pada populasi bakteri yang mendukung pengembangan strain resisten yang berpotensi berbahaya bagi kesehatan masyarakat, dalam hal ini udang dapat bertindak dalam penyebaran strain bakteri yang resisten terhadap antibiotik (Vieira *et al.*, 2010)., terkait dengan permasalahan tersebut maka perlu dilakukan suatu usaha untuk mencegah terjadinya resistensi bakteri dengan monitoring pemakaian antibiotik. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui status resistensi beberapa antibiotik terhadap bakteri *Escherichia coli* yang diisolasi dari udang.

MATERI METODE

Penelitian ini menggunakan sampel sebanyak 20 ekor udang yang didapatkan secara acak dari beberapa pedagang di pasar Keputran Surabaya. Sampel diambil secara aseptis menggunakan plastik steril, dimasukkan dalam *cool box* dan dibawa ke laboratorium untuk dilakukan pemeriksaan. Sampel diisolasi menggunakan media *Eosin Methilen Blue Agar* (EMBA) yang selektif untuk mengisolasi bakteri enterobacter, setelah inkubasi selama 24 jam dilakukan pengamatan morfologi koloni dan diambil koloni terpisah untuk dilakukan pemeriksaan mikroskopis menggunakan pewarnaan gram dan dilanjutkan dengan uji biokimiawi menggunakan media *Triple Sugar*

Iron Agar (TSIA), *Sulfide Indol Motility* (SIM), *Simons Citrate Agar* (SCA), *Methyl Red* (MR), dan *Voges Proskauers* (VP).

Isolat yang telah dilakukan isolasi dan identifikasi dilakukan uji kepekaan terhadap antibiotika menggunakan metode *disk diffusion test* Kirby-Bauer, dengan cara membuat suspensi koloni bakteri yang kekeruhannya disamakan dengan standar 0,5 McFarland 1 yang setara dengan konsentrasi bakteri $1,5 \times 10^6$ CFU/ml. Selanjutnya *cotton swab* steril dicelupkan dalam suspensi bakteri tersebut dan dioleskan pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA). Media dibiarkan mengering selama lima menit kemudian cakram antibiotik

ditempelkan pada MHA dan ditekan secara perlahan dan diinkubasi pada suhu 37 ° C selama 24 jam. Diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar cakram antibiotik diukur dengan penggaris dalam satuan milimeter. Antibiotik Ampicillin 10 µg, sensitif pada diameter zona hambat ≥ 17 mm, intermediet 14 – 16 mm, resisten ≤ 13 mm. Gentamicin 10 µg sensitif pada diameter zona hambat ≥ 15 mm, intermediet 13 – 14 mm, resisten \leq

12 mm. Antibiotik Amocicillin 20 µg, sensitif pada diameter zona hambat ≥ 18 mm, intermediet 14 – 17 mm, resisten ≤ 13 mm. Antibiotik Tetracycline 30 µg, sensitif pada diameter zona hambat ≥ 15 mm, intermediet 12 – 14 mm, resisten ≤ 11 mm. Antibiotik Chloramphenicol 30 µg, sensitif pada diameter zona hambat ≥ 18 mm, intermediet 13 – 17 mm, resisten ≤ 12 mm (*Clinical and Laboratory Standarts Institute*, 2018).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil dari isolasi dan identifikasi dari 20 sampel didapatkan sembilan sampel positif (45%) *Escherichia coli*. Bakteri *Escherichia coli* tumbuh sangat baik pada media *Eosin Methylen Blue Agar* (EMBA) dan berwarna ungu dengan warna hitam di tengah atau berwarna hijau metalik yang mengartikan bahwa bakteri dapat memfermentasi laktosa, hal ini sesuai dengan hasil dari penelitian yang dilakukan oleh Chakravarty *et al.*, (2015). Bakteri yang berwarna hijau metalik pada media tersebut

dilakukan pewarnaan gram dengan hasil bakteri berbentuk coccobasil, berwarna merah dan susunan menyebar. Hasil uji biokimia bakteri *Escherichia coli* pada media TSIA dapat memfermentasi laktosa, sukrosa, glukosa dan bakteri menghasilkan gas, pada uji indol didapatkan hasil positif dengan terbentuk cincin berwarna merah dan bakteri motil, Uji MR positif berwarna merah, uji VP negatif tidak terjadi perubahan warna pada media dan uji simons citrat negatif warna media tetap hijau (Sari *et al.*, 2018).



Gambar 1. Hasil isolasi pada media *Eosin Methylen Blue Agar* (EMBA)

Kondisi mikrobiologis udang tergantung pada kondisi penangkapan, penanganan, transportasi, Penyimpanan udang yang tidak tepat pada suhu yang tinggi dapat meningkatkan pertumbuhan mikroorganisme (Ahmed *et al.*, 2013). Cara pengangkutan yang digunakan masih sederhana dan kurang higienis, pengangkutan masih menggunakan kendaraan bermotor atau becak. Tempat berjualan di pasar kepulauan masih sederhana, udang yang dijual diletakkan di bak dan air yang kurang higienis dan tempat berjualan dekat dengan genangan air, tempat pemotongan kambing dan kandang ayam. Hal tersebut yang menjadi faktor penyebab kontaminasi bakteri.

Shamia *et al.*, (2014) menyatakan bahwa *Escherichia coli* adalah kelompok bakteri Gram negatif yang banyak digunakan sebagai ukuran karakteristik kebersihan makanan dan air. Bakteri *Escherichia coli* mungkin terdapat pada produk perikanan karena kontaminasi air oleh kotoran manusia dan hewan. Produk perikanan dapat rusak baik dari luar maupun dari dalam permukaan dan bakteri dapat berkembang biak dengan bebas pada permukaan kulit dan perut dan

berpindah ke daging melalui serat otot. Emikpe *et al.*, (2011) juga mengungkapkan bahwa mikroflora usus adalah agen penyebab kerusakan makanan. Kontaminasi *Escherichia coli* juga dapat disebabkan oleh kebersihan penjual, El-olemy *et al.*, (2014) mengungkapkan bahwa usapan tangan penjual produk perikanan dapat membawa *Escherichia coli* dengan persentase 20%.

Bakteri lain yang teridentifikasi dalam penelitian ini, menghasilkan koloni berwarna transparan yang mengartikan bahwa bakteri tidak dapat memfermentasi laktosa. Menurut Markey *et al.*,(2013) Bakteri non laktosa fermenter tidak berwarna, terkadang berwarna pink dan berwarna seperti lavender terang. *Proteus mirabilis*, *Salmonella typhimurium*, *Edwardsiella* dan *Citrobacter diversus* transparan atau tidak berwarna. Beberapa isolat ditemukan koloni berwarna pink permukaan tidak mengkilap dugaan bakteri *Enterobacter aerogenes*. Isolat positif *Escherichia coli* selanjutnya dilakukan uji sensitivitas antibiotik yang hasilnya tertera pada tabel di bawah ini:



Gambar 2. Hasil Uji Sensitivitas Antibiotik

Tabel 1. Hasil pengukuran diameter zona hambat antibiotik

Kode Sampel	Antibiotik (Oxoid)				
	Ampicillin 10 µg	Gentamicin 10 µg	Amoxycillin 20 µg	Tetracycline 30 µg	Chloramphenicol 30 µg
U6	23 mm (S)	24 mm (S)	10 mm (R)	24 mm (S)	27 mm (S)
U7	20 mm (S)	14 mm (I)	10 mm (R)	22 mm (S)	22 mm (S)
U8	17 mm (S)	17 mm (S)	10 mm (R)	20 mm (S)	20 mm (S)
U9	24 mm (S)	27 mm (S)	10 mm (R)	21 mm (S)	26 mm (S)
U14	23 mm (S)	21 mm (S)	10 mm (R)	26 mm (S)	20 mm (S)
U17	15 mm (I)	16 mm (S)	10 mm (R)	20 mm (S)	21 mm (S)
U18	13 mm (R)	15 mm (S)	10 mm (R)	21 mm (S)	18 mm (S)
U19	14 mm (I)	15 mm (S)	10 mm (R)	20 mm (S)	21 mm (S)
U20	10 mm (R)	14 mm (I)	10 mm (R)	16 mm (S)	20 mm (S)

Berdasarkan tabel tersebut, menunjukkan bahwa bakteri masih sensitif terhadap Ampicillin 10 µg sebesar 55,6 %, intermediet 22,2 % dan resisten 22,2 %. Antibiotik Gentamicin 10 µg menunjukkan hasil sensitif 77,8 % dan Intermediet 22,2 %. Antibiotik Tetracycline 30 µg dan Antibiotik Chloramphenicol 30 µg pada semua isolat menunjukkan 100 % sensitif. Penggunaan antibiotik Amoxycillin 20 µg pada semua isolat menunjukkan 100 % resisten. Hal ini serupa dengan penelitian yang dilakukan oleh Hossain *et al.*, (2012) yang menunjukkan bahwa isolat dari fecal coliform 100 % resisten terhadap antibiotik Amoxycillin. Resistensi strain *Escherichia coli* yang diisolasi dari manusia paling tinggi juga pada antibiotik amoxicillin (Pormohammad *et al.*, 2018). Hasil uji *Escherichia coli* terhadap amoxicillin yang bersifat resisten menyebabkan antibiotik tersebut tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Hal ini disebabkan karena bakteri *Escherichia coli* mengandung enzim

betalaktamase yang dapat memecahkan cincin betalaktam yang terdapat pada antibiotik tersebut, sehingga antibiotik menjadi tidak aktif (Regaert, 2017). Hasil pengujian resistensi antibiotik terhadap *Escherichia coli* pada daging ayam dari pasar tradisional kota bogor juga menunjukkan tingkat resistensi yang cukup tinggi pada amoxicillin (90 %). Antibiotik golongan beta laktam banyak digunakan untuk *first line therapy* infeksi bakteri tertentu. Antibiotik tersebut banyak dipilih karena antibiotik dapat membunuh bakteri gram positif dan negatif (Shoki *et al.*, 2010).

Agen antimikroba banyak digunakan dalam sistem budidaya udang yang intensif. Resistensi terjadi karena penggunaan antimikroba yang berlebihan di manusia, tetapi beberapa diantaranya mungkin karena penggunaan antibiotik sebagai *growth promotor* dalam pakan ternak (Johnson *et al.*, 2006). Insiden Enterobacteriaceae yang resisten terhadap antibiotik betalaktam di organisme akuatik

(udang dan ikan) terkait dengan penggunaan antibakteri dalam budidaya secara tidak tepat, dalam penelitian tersebut lebih banyak dari 50% strain resisten terhadap ampicilin. Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa udang merupakan sumber bakteri enterik yang resisten terhadap antibiotik betalaktam. Data-data tersebut mengungkapkan kebutuhan untuk menetapkan undang-undang yang mengatur penggunaan antimikroba dalam kegiatan budidaya. Kehadiran sejumlah besar bakteri yang resisten di lingkungan akuatik mewakili perhatian ekologis dan kesehatan masyarakat yang cukup besar dan membutuhkan investigasi lebih lanjut ke dalam faktor-faktor yang menentukan resistensi pada spesies bakteri yang berbeda dan

kemungkinan transmisi gen resisten terhadap patogen yang mampu menginfeksi konsumen. Tingginya tingkat resistensi di antara strain dari lingkungan menunjukkan penggunaan meluas yang tidak memadai dosis antibiotik yang menghasilkan tekanan selektif pada populasi bakteri dalam mikrobiota. Situasi pada lingkungan akuatik diperburuk oleh kemungkinan pemindahan gen secara horizontal antara bakteri yang sama atau bahkan berbagai spesies dan genera. Selain itu, dalam sistem pertanian intensif dengan tingkat stok tinggi, antibiotik biasanya digunakan untuk meningkatkan pertumbuhan atau untuk profilaksis. Akibatnya, bakteri akuatik di seluruh dunia menjadi semakin kebal terhadap obat-obatan antimikroba (Vieira *et al.*, 2010).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa masih ditemukan bakteri *Escherichia coli* dalam sampel udang di pasar kepulauan Surabaya yang mencerminkan bahwa sanitasi masih kurang bersih dan seluruh isolat bakteri *Escherichia coli* resisten terhadap antibiotik Amoxicillin (100%) dan 22, 2 % resisten terhadap

ampicillin. Sementara antibiotik yang masih sensitif yaitu Tetracyclin dan cholamphenicol. Adanya bakteri yang resisten terhadap antibiotik betalaktam pada udang penting untuk diperhatikan dan membutuhkan penelitian lebih lanjut ke dalam faktor-faktor yang menentukan resistensi.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed T, Baidya S, Sharma BC, Malek M, Das KK, Acharjee M, Munshi SK, Noor R. 2013. Identification of Drug-Resistant Bacteria Among Export Quality Shrimp Samples in Bangladesh. *Asian Jr. Of Microbiol.*

- Biotech. Env.Sc.* 15 (4): 31-36.
- Chakravarty MS, Ganesh PRC, Amaranth D, Sudha BS, Subhashini. 2015. *Escherichia coli* – Occurrence in The Meat of Shrimp, Fish, Chicken and Mutton and its Antibiotic Resistance. *European Journal of Experimental Biology*. 5(7): 41-48.
- Clinical and Laboratory Standart Institute. 2007. Performance standarts for Antimicrobial Susceptibility. <http://ljzx.cqrmhospital.com/upfiles/201601/20160112155335884.pdf> diunduh pada 2 Oktober 2019.
- El-Olemy GM, Lobna MA, Salem No, Khalifa MS. 2014. Detection of Some Bacterial Zoonosis in Market Fish in Qolyoubia Province and Their Control. *Benha Veterinary Medicine Journal*. 26(2): 126-136.
- Emikpe BO, Adebisi T, Adedeji OB. 2011. Bacteria Load on The Skin and Stomach of *Clarias Gariepinus* and *Oreochromis Niloticus* from Ibadan, South West Nigeria: Public Health Implications. *J. Microbiol. Biotech. Res.* 1(1): 52-59.
- Hossain MS, Aktaruzzaman M, Fakhruddin ANM, Uddin MJ, Rahman SH, Chowdhury MAZ, Alam MK. 2012. Prevalence of Multiple Drug Resistant Pathogenic Bacteria in Cultured Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon* Fabricius). *Global Journal of Environmental Research*. 6(3):118-124.
- Johnson J, Kuskowski M, Menard M, Gajewski A, Xercavins M, Garau J. 2006. Similarity between human and chicken *Escherichia coli* isolates in relation to ciprofloxacin resistance status. *J. Infect. Dis.* 194(1): 71 - 78
- Markey B, Leonard F, Archambault M, Cullinane A, Maguire D. 2013. Clinical Veterinary microbiology 2nd edition. London. Pp 253 – 255.
- Mary SJAJ, Dhayanath M, Paul T. 2019. Prevalence and Characterization of Antibiotic Resistance Associated with *Escherichia coli* Isolated from Cultured *Penaeus vannamei* from Maharashtra, India. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 8(7): 1790 -1797.
- Pormohammad A, Nasiri MJ, Azimi T. 2019. Prevalence of Antibiotic Resistance in *Escherichia coli* Strains Simultaneously Isolated from Humans, Animals, Food, and The Environment: a Systematic Review and Meta-Analysis. *Infection and Drug Resistance*. 12: 1181 – 1197.

- Pratiwi R. 2008. Aspek Biologi Udang Ekonomis Penting. *Oceana* 33(2): 15 – 24.
- Reygaert WC, 2017. Antimicrobial Mechanism of *Escherichia coli*. 81- 97.
- Rocha RD, Leite LO, Sousa OVD, Vieira RHS. 2014. Antimicrobial Susceptibility of *Escherichia coli* Isolated from Fresh-Marketed Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Pathogens*. 2014: 1-5.
- Samia S, Galib HT, Tanvir AS, Basudeb CS, Walliullah Md, Tasnia A, Sakil Md, Afsana FN, Sadia KP, Kamal KD, Mrityunjoy A, Nusrat JU, Tasmina R, Rashed N. 2014. Microbiological Quality Analysis of Shrimps Collected from Local Around Dhaka City. *International Food Research Journal*. 21(1): 33-38.
- Sari R, Apridamayanti P, Puspita ID. 2018. Sensitivity of *Escherichia coli* Bacteria Towards Antibiotics in Patient with Diabetic Foot Ulcer. *Pharmaceutical Sciences and Research*. 5(1): 19-24.
- Shoki NM, Mahmoud Aml, Ibrahim MS. 2018. Detection of *E.coli* in Nile Tilapia from Retail in Gharbiya Governorate. *Alexandria Journal of Veterinary Sciences*. 59(1): 76-84
- Vieira RHSF, Carvalho EMR, Carfalho FCT, Silva CM, Sousa OV, Rodrigues DP. 2010. Antimicrobial Susceptibility of *Escherichia coli* Isolated From Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) and Pond Environment in Northeastern Brazil. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*. 45(3): 198-203.