

## POLA SENSITIVITAS *Escherichia coli* TERHADAP ANTIBIOTIK METRONIDAZOLE

Arya Iswara<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang  
email: iswara.arya2011@yahoo.com

### Abstract

*Escherichia coli* (*E. coli*) have a potency to be a pathogen bacteria cause an illness. Antibiotic treatments to a patient have a purpose to eliminate the pathogen bacteria. Bacteria resistance to antibiotic was influenced by the intensity of antibiotic treatment in a region, the uncontrolled antibiotics treatments would increase the antibiotic resistance of bacteria. This research was using four different sample, they were feces from diarrhea, ice block, waters from well, and ketchup. Approximately 1 gram from each sample diluted in 10 mL of BHI and then incubated for 6 hours in 37 C. After 6 hours incubations, the samples inoculated in EMBA and incubated in 37 C for 24 hours. The metallic green colored bacteria colony inoculated in Mac Conkey Agar and incubated in 37°C for 24 hours. The separated colony sub cultured into HIA and tested using biochemistry test. Sensitivity test conducted using the Kirby Bauer method. The test result showed that 5 samples were sensitive to metronidazole and 26 samples were resistant to metronidazole.

**Key word:** *E.coli*, metronidazole, sensitivity.

### 1. PENDAHULUAN

*Escherichia coli* (*E. coli*) memiliki potensi untuk menyebabkan penyakit. *E. coli* yang bersifat patogen dapat dibagi menjadi tiga sub kelompok utama tergantung pada sifat patogen mereka: *commensals* atau *nonpathogenic*, infeksi usus yang menyebabkan patogen, dan ekstraintestinal patogen *E. coli* (ExPEC). *E. coli* pada usus yang bersifat patogen mencakup banyak *pathotype* seperti *enterotoxigenic* (ETEC), *enteropathogenic* (EPEC), *enterohemorrhagic* (EHEC), semua jenis strain ini menyebabkan infeksi pada usus manusia. (Moriel dkk, 2009).

Traktus gastrointestinal khususnya pada bagian distal merupakan tempat utama sebagian besar dari flora normal. Ketika antibiotika diberikan, efek yang diharapkan adalah agar antibiotika itu mampu membunuh bakteri patogen yang merugikan dan pasien dapat disembuhkan. Tapi yang jarang menjadi pertimbangan adalah bahwa banyak antibiotika diabsorpsi secara tidak sempurna atau akan di ekskresi kembali dalam bentuk utuh atau bentuk yang telah mengalami modifikasi tapi masih mempunyai aktivitas antimikroba. Dengan demikian

setiap kali antibiotika digunakan, flora normal akan terpapar dalam konsentrasi dan lama pemberian obat yang bervariasi.

Pemakaian antibiotika, khususnya bila digunakan tanpa aturan yang jelas seperti yang banyak terjadi di negara berkembang akan menyebabkan penggunaan antibiotika secara tidak rasional. Adanya penggunaan antibiotika secara berlebihan menyebabkan tingginya prevalensi resistensi pada flora normal aerobik (Yenny dan Herwana, 2007). Perkembangan resistensi bakteri terhadap antibiotika sangat dipengaruhi oleh intensitas pemaparan antibiotika di suatu wilayah, tidak terkendalinya penggunaan antibiotika cenderung akan meningkatkan resistensi bakteri yang semula sensitif. (Refdanita dkk, 2004).

### 2. KAJIAN LITERATUR

*Escherichia coli* merupakan anggota dari famili Enterobacteriaceae, berbentuk batang, bersifat Gram negatif dan dalam keadaan normal *E. coli* berada di usus, *E. coli* juga merupakan salah satu diantara bakteri anaerobik fakultatif. Famili Enterobacteriaceae adalah salah satu bakteri yang paling penting secara medis. Sejumlah

general dalam famili merupakan patogen pada usus manusia (misalnya Salmonella, Shigella, Yersinia). Beberapa jenis lain merupakan flora normal pada saluran pencernaan manusia (misalnya Escherichia, Enterobacter, Klebsiella), tetapi bakteri ini kadang-kadang dapat berhubungan dengan penyakit manusia (Todar, 2008).

Antibiotik adalah sekelompok senyawa yang bekerja dengan cara menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik) atau menyebabkan kematian bakteri (bakterisidal). Antibiotik ini bekerja melalui 5 mekanisme utama yaitu menginhibisi : 1). Proses replikasi, 2). Proses transkripsi, 3). Proses translasi, 4). Sintesis peptidoglikan, 5). Sintesis asam tetrahidrofolat. (Lamont, 2006). Mekanisme utama dari populasi mikroba untuk bertahan hidup dalam situasi terancam adalah dengan cara mutasi genetik, ekspresi dari suatu gen resistensi yang laten, atau melalui gen yang memiliki determinan resistensi. Ketiga mekanisme ini dapat berada bersama-sama dalam suatu bakterium. Penggunaan antibiotika secara berlebihan dapat menimbulkan tekanan selektif yang mendorong perkembangbiakan mikroorganisme yang resisten. (Yenny dan Herwana, 2007)

Kebanyakan resistensi antibiotika terjadi akibat mutasi atau transfer horizontal gen yang membawa sifat resisten. Mutasi terjadi secara acak, spontan dan tidak tergantung dari adanya antimikroba. Mutasi terjadi bila terdapat kekeliruan dalam proses replikasi DNA yang luput untuk diperbaiki oleh system DNA repair. Mutasi terjadi dalam kecepatan bervariasi (10<sup>-4</sup>-10<sup>-10</sup> per pembelahan sel) dan meliputi proses delisi, substitusi atau adisi satu atau lebih pasangan basa nukleotida, sehingga menghasilkan substitusi asam amino. Proses mutasi yang dikenal sebagai single-step mutations menyebabkan timbulnya resistensi tingkat tinggi dalam jangka waktu singkat dan cepat. Contohnya, mutasi di dalam sistem yang mengatur kromosom yang mengkode (coded) produksi  $\beta$ -laktamase oleh Enterobacter dan Citrobacter spp. Hal ini mengakibatkan terjadinya produksi  $\beta$ laktamas dalam jumlah yang sangat besar dalam waktu yang sangat singkat sehingga dapat menghidrolisis antimikroba bahkan yang stabil terhadap  $\beta$ -laktamase seperti seftazidim dan sefotaksim (Yenny dan Herwana, 2007).

### 3. METODE PENELITIAN

Pengambilan sampel dan isolasi bakteri Sampel diambil dari 4 jenis sampel, yaitu dari feses penderita diare, es batu, air sumur, dan saus makanan. Hal ini dimaksudkan untuk mewakili sampel dari manusia, alam dan makanan yang diperkirakan terdapat E. coli. Cara pengambilan sampel, sampel feses berasal dari pasien penderita diare pada anak sebanyak  $\pm 1$  gram feses, es batu, air sumur, dan saus makanan, kemudian dilarutkan ke dalam 10 ml larutan penyubur BHI inkubasi 37°C selama 6 jam. Feses yang telah disuburkan dengan media BHI diinokulasikan pada media EMBA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam di dalam inkubator, hari berikutnya diamati koloni yang tumbuh, pada media EMBA E. coli akan berwarna hijau metalik. Koloni yang berwarna hijau metalik dikultur pada media MC diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam di dalam inkubator untuk E. coli merupakan laktosa fermenter cepat yang ditandai dengan koloni akan berwarna merah jambu. Koloni terpisah kemudian disub kultur pada media HIA miring dan dilakukan uji biokimia.

Penanaman uji biokimia Uji biokimia yang dipakai adalah:

#### a. Uji Indol

Uji ini untuk menunjukkan adanya pembentukan indol dari triptofan. Caranya pindahkan biakan bakteri dari media padat ke dalam media triptofan broth, kemudian inkubasi 37°C selama 24 jam lalu ditambah reagen Kovac's. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya cincin merah ungu, untuk bakteri E. Coli uji indol adalah positif (+).

#### b. Uji Methyl Red (MR)

Uji MR untuk mendeteksi adanya pembentukan asam selama peragian glukosa. Caranya biakan bakteri dipindahkan secara aseptik ke larutan glukosa fosfat, kemudian inkubasi 37°C selama 24 jam lalu ditambah 1 tetes reagen MR, jika timbul warna merah artinya positif sedangkan warna kuning artinya negatif, uji MR untuk bakteri E. coli adalah positif (+).

#### c. Uji Voges-Proskauer (VP)

Tujuan dari uji Vp ialah untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam mengubah glukosa menjadi asam organik

atau alkohol. Caranya adalah biakan bakteri dari media padat diinokulasikan secara aseptik ke larutan glukosa fosfat, kemudian inkubasi 37°C selama 24 jam lalu ditambahkan larutan KOH 40% dan a-naftol. Jika timbul warna merah kecoklatan berarti hasilnya positif. Uji VP untuk bakteri *E. coli* adalah negatif (-).

d. Uji penggunaan Citrat

Tujuannya untuk mendeteksi adanya penggunaan karbon sebagai sumber energi. Caranya yaitu biakan bakteri dari media padat diinokulasikan secara aseptik ke media perbenihan Simon Citrat 18 agar, kemudian inkubasi 37°C selama 24 jam. Hasil positif ditandai dengan adanya koloni bakteri dan media berubah warna dari hijau menjadi biru. Uji Citrat pada bakteri *E. coli* adalah negatif (-).

e. Uji Semi Solid (SS)

Caranya pindahkan secara aseptik biakan bakteri dari media padat ke media semi solid agar, dengan cara menusukkan ose jarum dengan posisi tegak, kemudian inkubasi 37°C selama 24 jam. Hasil positif ditandai dengan adanya pertumbuhan koloni yang menyebar di sekitar tusukan. Uji Motilitas pada bakteri *E. coli* adalah negatif (-).

f. Uji Urea

Tujuannya untuk mendeteksi penguraian urea menjadi amonia. Caranya secara aseptik diinokulasikan biakan bakteri dari media padat ke media urea agar, kemudian inkubasi 37°C selama 24 jam. Hasil positif ditandai dengan adanya perubahan warna indikator netral red menjadi ungu. Uji urea pada bakteri *E. Coli* adalah negatif (-).

g. Uji Triple Sugar Iron Agar (TSIA)

Media ini digunakan untuk mengetahui fermentasi gula-gula menjadi asam dengan atau tanpa gas. Caranya yaitu inokulasikan biakan bakteri dari media padat ke TSIA secara aseptik, kemudian inkubasi 37°C selama 24 jam. Hasil positif ditandai dengan perubahan media dari merah menjadi kuning, sedangkan jika gas positif akan tampak gelembung udara pada media. Uji TSIA pada bakteri *E. coli* adalah A/A, gas (+), H<sub>2</sub>S (-).

h. Uji Gula-Gula (glukosa,

laktosa, sukrosa, galaktosa, fruktosa, maltosa dan manitol). Media ini digunakan untuk mengetahui fermentasi gula-gula menjadi asam dengan atau tanpa gas. Caranya biakan bakteri dari media padat diinokulasikan secaramaseptik ke larutan glukosa, kemudian inkubasi 37°C selama 24 jam. Hasil positif ditandai dengan perubahan media dari merah menjadi kuning, sedangkan jika gas positif akan tampak gelembung udara pada tabung durham (untuk glukosa).

Uji Sensitivitas terhadap antibiotik metode *Kirby Bauer* Kultur bakteri yang telah dimurnikan dan diidentifikasi yang kekeruhannya telah disesuaikan dengan kekeruhan standart 0,5 Mc.Farland, kemudian diratakan ke permukaan media Muller Hinton Agar dengan cara merendam lidi kapas steril selama 10 hingga 15 detik dalam suspensi bakteri, kemudian dipulaskan pada media MHA hingga merata. Didiamkan beberapa saat agar usapan kultur bakteri benar-benar meresap pada media. Disc antibiotik ditempelkan pada permukaan media, beri jarak antara disc satu dengan yang lain. Inkubasikan selama 18 sampai 24 jam dengan suhu 37°C. Amati dan ukur diameter zona hambatnya.

#### 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel keseluruhan yang ditemukan adanya *E.coli* berjumlah 31 sampel. Hasil pengujian resistensi terhadap antibiotik metronidazole sebagai berikut:

Tabel 1. Hasil uji resistensi E.coli terhadap metronidazole

NO	Kode Sampel dan asal sampel	Uji resistensi	
		sensitif	resisten
1	Sampel Es batu kristal no. 3		v
2	Sampel Sumur no. 2		v
3	Sampel Feses no. 1.B		v
4	Sampel Saus Makanan no. 4		v
5	Sampel air sumur no. 6	v	
6	Sampel air sumur no. 3		v
7	Sampel air sumur no. 12	v	
8	Sampel air sumur no. 15		v
9	Sampel air sumur no. 7	v	
10	Sampel Feses no. 9		v
11	Sampel Feses no. 3.C.		v
12	Sampel air sumur no. 10		V
13	Sampel air sumur no. 13		v
14	Sampel Feses no. 3.B.		V
15	Sampel Feses no. 6		v
16	Sampel Feses no. 2.A		v
17	Sampel Feses no. 4.B		v
18	Sampel Feses no. 10.	v	
19	Sampel Feses no. 4.A		v
20	Sampel Es Batu kristal no.4		v

21	Sampel Es Batu kristal no.7		v
22	Sampel air sumur no. 9		v
23	Sampel Saus makanan no. 9		v
24	Sampel Feses no 2.B		v
25	Sampel Feses no. 8		v
26	Sampel air sumur no. 8		v
27	Sampel Feses no.3.A		v
28	Sampel air sumur no. 4	v	
29	Sampel Feses no. 7		v
30	Sampel Saus makanan no. 1		v
31	Sampel Feses no. 1.A		v

Dari hasil pada tabel dapat dilihat bahwa terdapat hanya 5 sampel yang sensitive terhadap antibiotik metronidazole dan 26 sampel yang lain resisten terhadap metronidazole. Metronidazole termasuk antibiotik yang sering digunakan oleh masyarakat. Metronidazole merupakan antibiotik golongan nitroimidazole yang memiliki spektrum aktivitas yang terbatas meliputi berbagai protozoa, bakteri Gram positif dan bakteri Gram negative anaerob. Terjadinya resistensi pada antibiotik ini karena terjadinya pemindahan plasmid dari kuman resisten kepada kuman sensitif, dan hal ini dapat juga terjadi bila kuman yang semula sensitif terkena paparan obat. Plasmid bakteri merupakan unsur-unsur yang dapat memindahkan banyak gen bakteri dari satu sel bakteri ke yang lain, yang juga disebut dengan transfer gen horisontal. (Bennet, 2008)

Pertukaran genetik dari plasmid yang mengandung penyandi resisten terhadap antibiotik antar bakteri diyakini memainkan peranan penting terhadap evolusi bakteri resisten antibiotik. (Akano, 2009) Bakteri dengan resistensi antibiotik yang multipel dapat menyebarkan gen resisten antibiotik mereka kepada strain dari spesies yang sama maupun kepada spesies atau genus lain

melalui mekanisme yang berbeda. Mekanisme yang terutama digunakan adalah dengan konjugasi plasmid-R. Analisis genetik memperlihatkan bahwa konjugasi resisten antibiotik dari sebuah isolat memiliki banyak variasi plasmid R yang dapat dibedakan berdasar ukuran molekul dan profil restriksinya. (Pignato, 2009).

Metronidazole merupakan antibiotika yang paling banyak tersedia pada unit-unit pelayanan kesehatan terutama Puskesmas untuk pengobatan pasien sehingga banyak dipakai. Selain itu antibiotika ini digunakan juga untuk makanan hewan ternak yang hanya dilakukan oleh petani dan kurang diawasi oleh tenaga ahli. Hal ini merupakan salah satu bentuk penyalahgunaan antibiotika yang dapat menyebabkan terpaparnya kuman patogen oleh antibiotika yang kemudian menjadi resisten (Refdanita dkk, 2004).

## 5. SIMPULAN

Metronidazole merupakan antibiotik yang sering digunakan oleh masyarakat untuk pengobatan, seringnya penggunaan metronidazole dapat memungkinkan terjadinya resistensi. Hasil penelitian menghasilkan sebanyak 26 sampel yang resisten, sehingga dapat diartikan bahwa telah banyak terdapat resistensi terhadap antibiotik metronidazole. Hasil tersebut dapat menjadi rujukan untuk disarankan melakukan uji sensitivitas antibiotik terlebih dahulu sebelum memberikan suatu antibiotik, sehingga dapat meminimalisir terjadinya resistensi yang mengarah pada *Multi Drugs Resistance*.

## 6. REFERENSI

- Akano SO., Daini OA., Ojo MO., Smith SI dan Akinside KA. 2009. *Comparative analysis of antibiotic resistance and rplasmids of staphylococcus aureus isolates from human and dog samples*. AFR. J. CLN. EXPER. MICROBIOL 10(3): 136-43.
- Bennet PM. 2008. *Plasmid encoded antibiotic resistance: acquisition and transfer of antibiotic resistance genes in bacteria*. British Journal of Pharmacology. 153. 347-57
- Lamont RJ, Burne RA, Lantz MS, Leblanc DJ. 2006. Oral Microbiology and

Immunology. ASM Press Washington. p415-9

- Moriel DG, Bertoldi I, Spagnuolo A, Marchi S, Rosini R, Nesta B. 2009. *Identification of protective and broadly conserved vaccine antigens from the genome of extraintestinal pathogenic Escherichia coli*. PNAS. 16
- Pignato S., Coniglio MA., Faro G., Weill FX., dan Giammanco G. 2009. *Plasmid-mediated multiple antibiotic resistance of Escherichia coli in crude and treated wastewater used in agriculture*. Journal of Water and Health. 07.2. 251-8
- Refdanita, Maksun R, Nurgani A, Endang P. 2004. *Pola Kepekaan Kuman Terhadap Antibiotika di ruang intensif Rumah Sakit Fatmawati Jakarta Tahun 2001-2002*. Jakarta: Makara Kesehatan vol.8(2)
- Todar K. 2012. Pathogenic E. coli. <http://www.textbookofbacteriology.net> diakses 22 Maret 2014
- Yenny dan Herwana E. 2007. Resistensi dari bakteri enterik: aspek global terhadap antimikroba. Univera Medicina. Vol 26 no 1. 46-56].