



BERKALA PERIKANAN TERUBUK

Journal homepage: <https://terubuk.ejournal.unri.ac.id/index.php/JT>

ISSN Printed: 0126-4265

ISSN Online: 2654-2714

Multiple Antibiotic Resistance Index of *Escherichia coli* Isolates from Dumai Sea Waters Riau Province

Indeks Resistensi Multi-Antibiotik Isolat *Escherichia coli* dari Perairan Laut Dumai Propinsi Riau

Mardalisa Mardalisa^a, Feliatra Feliatra^b, Nursyirwani Nursyirwani^{c*}

^aIlmu Kelautan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau, JL. HR Soebrantas KM 12,5 Simpang Baru Panam, Pekanbaru, Riau Indonesia 28293

INFORMASI ARTIKEL

Diterima: 10 December 2020

Distujui: 8 Februari 2021

Keywords:

Indeks Resistensi Multi-Antibiotik,
Escherichia coli, Resistensi Antibiotik,
Perairan Laut Dumai

ABSTRACT

The pattern of antibiotic consumption by the community which is carried out independently without medical guidance causes antibiotic pollution has reached sea waters, one of its impacts on the nature of bacterial resistance. This study aims to look at the pattern of antibiotic sensitivity to *E coli* that isolated from Dumai sea waters. *E coli* isolates that grown on MHA media were tested based on the Kirby Bauer disk diffusion method. Seventeen isolates were identified, among which a high rate of resistance to penicillin, isoniazid and streptomycin (17), a high rate of resistance to chloramphenicol (5), intermediate susceptibility to chloramphenicol (11) and only 1 sensitive to chloramphenicol. The multiple antibiotic resistance (MAR) index of *E coli* isolates was 0.82. These show that antibiotics like penicillin, isoniazid, streptomycin and chloramphenicol were not suitable antibiotic for *E coli* infection treatment. The community is expected to be more disciplined in using antibiotics and to be careful in using the Dumai sea for fishery activities.

1. PENDAHULUAN

Antibiotik merupakan obat-obatan yang paling sering dikonsumsi oleh manusia di seluruh penjuru dunia, termasuk Indonesia. Penggunaan antibiotik yang tidak tepat telah menjadi masalah global dalam pengobatan kasus infeksi manusia saat ini (Amin, 2014). Penggunaan antibiotik menunjukkan pola peningkatan setiap tahunnya sehingga berdampak terhadap sifat resistensi antibiotik (Pradipta et al., 2012). Konsumsi antibiotik menunjukkan pola peningkatan lebih dari enam puluh persen dalam jangka waktu satu dekade terakhir pada 76 negara penelitian (Klein et al., 2018). Antibiotik yang digunakan tanpa resep medis dapat menyebabkan dampak negatif baik dari sektor kesehatan, ekonomi dan beban besar bagi generasi masa depan (Phares et al., 2020) (Utami, 2012). Berdasarkan hasil penelitian, tingkat konsumsi antibiotik secara bebas banyak ditemukan pada masyarakat dengan tingkat pendapatan, disiplin, dan pengetahuan yang rendah (Vila & Pal, 2010). Hal inilah yang berperan besar terhadap tingginya pencemaran antibiotik pada perairan yang terdampak secara langsung dari limbah antropogenik.

* Corresponding author. Tel.: +62-821-7383-5345.

E-mail address: mardalisa@lecturer.unri.ac.id

Kondisi perairan yang tercemar antibiotik memberikan dampak serius bagi kesehatan manusia yang menggunakannya terutama dalam bidang budidaya, seperti konsumsi ikan yang berperan sebagai agen transfer gen resistensi (Alderman & Hastings, 1998) dan bakteri coliform yang mentransfer plasmid R melalui proses konjugasi (Silver et al., 1977). *Escherichia coli* merupakan salah satu jenis bakteri coliform yang umumnya sering dijumpai pada perairan dengan tingkat antropogenik yang tinggi (Mardalisa et al., 2020). Plasmid R merupakan ekstrakromosomal DNA yang memiliki dua bagian utama dan bertanggung jawab dalam sifat resistensi bakteri terhadap antibiotik, yaitu *resistant transfer factor* dan determinan resistensi. Proses transfer plasmid R antara spesies atau genus bakteri terjadi dengan nilai efisiensi hampir 100%. Mekanisme molekular ini secara umum telah banyak dipelajari pada bakteri *E. coli*. Kehadiran transposon dan integron pada daerah kromosom dan ekstrakromosom bakteri sangat berpengaruh pada sifat *Multi-Antibiotic Resistance* (MAR). Selain pengaruh evolusi genetik, MAR pada jenis bakteri gram negatif sering disebabkan oleh mekanisme *multidrug efflux pumps* (Nikaido, 2009).

Aktivitas antropogenik di sepanjang daerah aliran sungai (DAS) memiliki dampak negatif secara langsung terhadap kualitas perairan yang bermuara pada perairan pesisir laut (Supendi, 2016). Kandungan pencemaran antibiotik yang tinggi pada wilayah perairan dapat bersifat karsinogenik (Sharma et al., 2015) dan menyebabkan *superbug* (Skariyachan et al., 2013). Informasi terkait sensitifitas bakteri terhadap antibiotik sangat penting bagi kehidupan dikarenakan manfaatnya sebagai terapi bagi masalah infeksi kesehatan manusia, hewan ternak ataupun budidaya (Sitorus et al., 2019) (Sagala et al., 2020). Pemerintah sudah berperan dalam menangani masalah resistensi mikroba dengan menetapkan Program Pengendalian Resistensi Anrimikroba pada PMK No. 8 Tahun 2015 (Permenkes, 2015). Pengujian sensitifitas bakteri *E. coli* terhadap antibiotik menjadi perhatian peneliti di lingkungan perairan laut. Hasil penelitian ini memberikan gambaran sifat sensitifitas bakteri *E. coli* terhadap antibiotik dalam indeks resistensi multi-antibiotik (*MAR Index*).

2. METODE PENELITIAN

Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan pada lima titik stasiun berbeda di perairan laut Dumai, Provinsi Riau. Setiap stasiun pengambilan sampel dilakukan tiga kali pengulangan dengan metode *purposive sampling*. Stasiun satu merupakan wilayah habitat mangrove, Purnama. Stasiun kedua merupakan daerah pelabuhan, Datuk Laksamana. Stasiun ketiga merupakan daerah pemukiman penduduk, Pangkalan Sesai. Stasiun keempat merupakan daerah industri minyak, Jaya Mukti. Stasiun kelima merupakan daerah perairan laut yang jauh dari aktivitas penduduk. Penelitian terkait pengujian sensitifitas antibiotik pada isolat *Escherichia coli* dilakukan pada Laboratorium Mikrobiologi Laut Jurusan Ilmu Kelautan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau.

Tabel 1. Koordinat Titik Pengambilan Sampel

	Titik 1	Titik 2	Titik 3
Stasiun 1	01° 41' 27.38" N 101° 26' 29.96" E	01° 41' 34.33" N 101° 26' 31.12" E	01° 41' 40.17" N 101° 26' 33.59" E
Stasiun 2	01° 41' 21.77" N 101° 25' 55.89" E	01° 41' 26.61" N 101° 25' 57.03" E	01° 41' 32.44" N 101° 25' 59.72" E
Stasiun 3	01° 41' 52.32" N 101° 25' 3.80" E	01° 41' 54.24" N 101° 25' 16.90" E	01° 41' 52.22" N 101° 25' 33.11" E
Stasiun 4	01° 42' 18.87" N 101° 24' 13.19" E	01° 42' 20.49" N 101° 24' 16.53" E	01° 42' 31.04" N 101° 24' 20.48" E
Stasiun 5	01° 42' 40.44" N 101° 24' 21.70" E	01° 42' 46.94" N 101° 24' 25.79" E	01° 42' 54.60" N 101° 24' 29.04" E

Keterangan: (N) Utara ; (E) Timur

Isolasi dan Identifikasi E. coli

Isolat *E. coli* diberi perlakuan metode MPN (*Most Probable Number*) seri tiga yaitu uji pendugaan (*Presumptive test*), uji penegasan (*Confirmed test*), dan uji pelengkap (*Completed test*). Koloni yang tumbuh diamati secara makroskopis meliputi bentuk, ukuran, tekstur, dan warna pada media pertumbuhan selama 48 jam.

Pengujian Sensitifitas Antibiotik

Uji sensitifitas mikroba terhadap antibiotik dilakukan menggunakan metode difusi cakram Kirby-Bauer (Hudzicki, 2009) berdasarkan *National Commitee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS) (Patel et al., 2011). Isolat diinokulasikan pada

media NB dan diinkubasi selama 18 jam pada suhu 37°C. Sekitar 100 µl dari suspensi bakteri disebar ke media MHA dan diletakkan cakram antibiotik untuk menguji sensitifitasnya. Penelitian ini melibatkan 17 isolat pada empat antibiotik, yaitu Chloramphenicol (30 µg), Penicillin (10 µg), Isoniazid (2 µg), dan Streptomycin (10 µg).

Penentuan Indeks Resistensi Multiantibiotik

Penentuan nilai indeks resistensi multiantibiotik ini ditentukan berdasarkan jumlah isolat resisten terhadap jumlah total isolat yang dites antibiotik (Hecht et al., 2007).

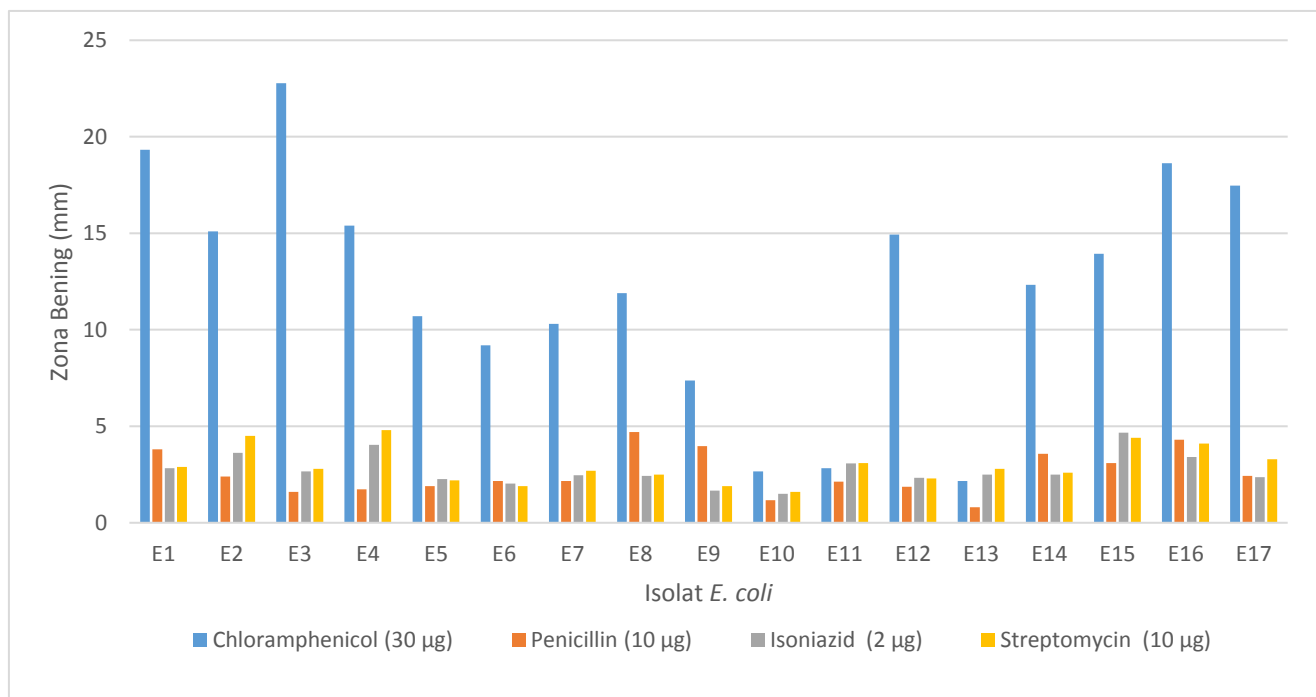
$$\text{Nilai indeks resistensi multiantibiotik} = a/b$$

Dimana variabel “a” menunjukkan jumlah isolat yang resisten terhadap antibiotik dan “b” merupakan total dari seluruh antibiotik yang diuji. Nilai indeks multiantibiotik yang >0.2 menunjukkan tingkat pencemaran antibiotik yang tinggi dari lingkungan bakteri diisolasi (Joseph et al., 2017).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Resistensi *E.coli* terhadap Antibiotik

Pengujian sensitifitas bakteri terhadap antibiotik berdasarkan ketentuan *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS). Terdapat tiga kriteria NCCLS, yaitu *resistance* (R) dengan zona hambatan 0-10 mm, *intermediet* (I) jika zona hambatan 11-19 mm, dan *sensitive* (S) bila besarnya zona hambatan di atas 20 mm (Wayne, 2010). Antibiotik yang digunakan dalam penelitian ini berdasarkan luas aktivitasnya terbagi dua yaitu *broad spectrum* (Chloramphenicol 30 µg) dan *narrow spectrum* (Penicillin 10 µg, Isoniazid 2 µg, dan streptomycin 10 µg). Hasil penelitian menggunakan 17 isolat *E. coli* terhadap empat antibiotik berbeda dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Hasil rata-rata uji resistensi tujuh belas isolat *E. coli* terhadap empat jenis antibiotik

Sifat resistensi *E. coli* terhadap antibiotik sudah banyak dilaporkan berdasarkan hasil penelitian oleh para ilmuwan di seluruh dunia. Permasalahan resistensi antibiotik bukan hanya masalah pada negara berkembang saja, negara maju seperti Eropa turut melaporkan data-data terkait sifat resistensi bakteri pada antimikroba (Goossens et al., 2005). Sifat resistensi *E. coli* dan *Klebsiella* pada sejumlah kelompok antibiotik β-lactam dilaporkan meningkat dalam jangka waktu dua windu terakhir di US (McDanel et al., 2017). Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa ke tujuh belas isolat *E. coli* yang digunakan termasuk resisten terhadap semua antibiotik dalam golongan *narrow spectrum* yaitu Penicillin, Isoniazid, dan Streptomycin dengan kisaran zona hambat 0.8-4.7 mm (Gambar 1). Pada antibiotik jenis *broad spectrum* (Chloramphenicol), diketahui isolat *E. coli* yang resisten pada Chloramphenicol ada lima yaitu isolat E6, E9, E10, E11 dan E13 (2,17-2,83 mm). Sedangkan yang

bersifat sensitif hanya satu isolat, yaitu isolat E3 (22,77 mm), sedangkan sisa ke-11 isolat lainnya termasuk intermediet dengan zona hambat berukuran (10,3-19,33 mm). Antibiotik Ciproflaxin yang digunakan menunjukkan sensitif dengan zona hambat 22,1 mm pada isolat E4, sedangkan ke-6 isolat *E. coli* lainnya (E1, E6, E8, E11, E13 dan E15) termasuk intermediet dengan zona hambat 15,6-19,8 mm.

Tabel 1. Persentase resistensi tujuh belas isolat *E. coli* patogen dari perairan laut Dumai terhadap beberapa antibiotik

Antibiotik		S	I	R	Persentase (%)		
					S	I	R
<i>Broad spectrum</i>	Chloramphenicol	1	11	5	6	65	29
<i>Narrow spectrum</i>	Penicillin	0	0	17	0	0	100
	Isoniazid	0	0	17	0	0	100
	Streptomycin	0	0	17	0	0	100

Keterangan: (S) Sensitif ; (I) Intermediet ; (R) Resistensi

Persentase resistensi yang berbeda pada ketujuh belas isolat *E. coli* ditunjukkan pada tabel 1. Hasil penelitian menunjukkan 100% isolat *E. coli* resisten terhadap semua *narrow spectrum* yang digunakan (Penicillin, Isoniazid, dan Streptomycin). Pada antibiotik golongan *broad spectrum* seperti Chloramphenicol, menunjukkan sifat sensitif sebanyak 6% (E3), resistensi sebanyak 29% (E1, E6, E8, E11, E13 dan E15) dan selebihnya bersifat intermediet 71%. Sifat Intermediet pada pengujian menunjukkan kemungkinan mekanisme antibiotik tidak mampu bekerja optimal dalam penggunaan klinis terhadap infeksi pada golongan bakteri yang sama (Krisnaningsih et al., 2005) (Feliatra et al., 2020). Sensitifitas pada salah satu isolat *E. coli* (E3) terhadap antibiotik Chloramphenicol masih baik, dimana antibiotik ini bekerja dalam menghambat proses biosintesis protein dan bersifat bakteristatik (Kehrenberg et al., 2005).

Hasil uji sensitifitas antibiotik menunjukkan sifat *Multi-Antibiotic Resistant* (MAR) *E. coli* yang cukup tinggi, hal ini dikhawatirkan akan berdampak pada proses terapi kesehatan. Alternatif pemakaian antibiotik lini kedua atau ketiga akan merugikan pasien dikarenakan harganya yang sangat mahal. Pemahaman mengenai ekspresi gen pengkode *multidrug efflux pumps* menjadi salah satu alternatif pencegahan MAR. Para ilmuwan sudah mempelajari sejumlah transporter yang bertanggung jawab dalam memompa antibiotik atau obat ke dalam sel bakteri. Struktur transporter MsbA yang diketahui homolog dengan ABC Transporter bisa menjadi model dalam pemberian obat pada penyakit kanker dan resistensi mikroba patogen (Chang & Roth, 2001). Permodelan pada struktur protein MdfA *E. coli* diketahui mampu memberikan solusi baru dalam proses pemasukan obat antimikroba pada bakteri (Edgar & Bibi, 1997). Penggunaan antibiotik secara mandiri dan tanpa resep medis yang tepat sudah harus dihindari dikarenakan berpotensi menyebabkan MAR sesuai dengan PMK RI No. 8 Tahun 2015.

4. KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa nilai indeks resistensi multiantibiotik pada perairan laut Dumai berada dalam kondisi yang cukup tinggi yakni berada pada nilai 0.82. Hal ini perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengkonfirmasi secara detail terkait pencemaran antibiotik pada daerah aliran sungai (DAS) disekitar perairan laut Dumai. Untuk saat ini masyarakat diharapkan lebih disiplin dalam penggunaan antibiotik sesuai petunjuk medis dan berhati-hati dalam melakukan berbagai aktivitas perikanan disekitar perairan laut Dumai.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih terhadap berbagai pihak yang terlibat dalam pelaksanaan penelitian ini.

6. DAFTAR PUSTAKA

- Alderman, D., & Hastings, T. (1998). Antibiotic use in aquaculture: development of antibiotic resistance—potential for consumer health risks. *International journal of food science & technology*, 33(2), 139-155.
- Amin, L. Z. (2014). Pemilihan antibiotik yang rasional. *Medicinus*, 27(3), 40-45.

- Chang, G., & Roth, C. B. (2001). Structure of MsbA from *E. coli*: a homolog of the multidrug resistance ATP binding cassette (ABC) transporters. *Science*, 293(5536), 1793-1800.
- Edgar, R., & Bibi, E. (1997). MdfA, an *Escherichia coli* multidrug resistance protein with an extraordinarily broad spectrum of drug recognition. *Journal of bacteriology*, 179(7), 2274-2280.
- Feliatra, F., Mardalisa, M., Setiadi, J., Lukistyowaty, I., & Hutasoit, A. (2020). *Potential of Secondary Metabolite from Marine Heterotrophic Bacteria against Pathogenic Bacteria in Aquaculture*. Paper presented at the Journal of Physics: Conference Series.
- Goossens, H., Ferech, M., Vander Stichele, R., Elseviers, M., & Group, E. P. (2005). Outpatient antibiotic use in Europe and association with resistance: a cross-national database study. *The Lancet*, 365(9459), 579-587. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)70799-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(05)70799-6)
- Hecht, D. W., Citron, D. M., Cox, M., Jacobus, N., Jenkins, S., Onderdonk, A., . . . Wexler, H. (2007). *Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria: Approved Standard*: Clinical and Laboratory Standards Institute Wayne, PA.
- Hudzicki, J. (2009). Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test protocol. *American Society for Microbiology* 1-23.
- Joseph, A., Odimayo, M., Olokoba, L., Olokoba, A., & Popoola, G. (2017). Multiple antibiotic resistance iIndex of *Escherichia coli* isolates in a tertiary hospital in south-west Nigeria. *Medical Journal of Zambia*, 44(4), 225-232.
- Kehrenberg, C., Schwarz, S., Jacobsen, L., Hansen, L. H., & Vester, B. (2005). A new mechanism for chloramphenicol, florfenicol and clindamycin resistance: methylation of 23S ribosomal RNA at A2503. *Molecular microbiology*, 57(4), 1064-1073.
- Klein, E. Y., Van Boeckel, T. P., Martinez, E. M., Pant, S., Gandra, S., Levin, S. A., . . . Laxminarayan, R. (2018). Global increase and geographic convergence in antibiotic consumption between 2000 and 2015. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(15), E3463-E3470. doi: <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1717295115>
- Krisnaningsih, M. F., Asmara, W., & Wibowo, M. H. (2005). Uji Sensitivitas Isolat *Escherichia coli* Patogen pada Ayam terhadap Beberapa Jenis Antibiotik. *Jurnal Sain Veteriner*, 23(1).
- Mardalisa, M., Suhandono, S., & Ramdhani, M. (2020). *Isolation and Characterization of str Promoter from Bacteria Escherichia coli DH5a using Reporter Gene AmilCP (Acropora millepora)*. Paper presented at the IOP Conference Series: Earth and Environmental Science.
- McDaniel, J., Schweizer, M., Crabb, V., Nelson, R., Samore, M., Khader, K., . . . Nair, R. (2017). Incidence of extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* infections in the United States: a systematic literature review. *infection control & hospital epidemiology*, 38(10), 1209-1215.
- Nikaido, H. (2009). Multidrug resistance in bacteria. *Annual review of biochemistry*, 78, 119-146. doi: <http://doi.org/10.1146/annurev.biochem.78.082907.145923>
- Patel, J. B., Tenover, F. C., Turnidge, J. D., & Jorgensen, J. H. (2011). Susceptibility test methods: dilution and disk diffusion methods *Manual of Clinical Microbiology, 10th Edition* (pp. 1122-1143): American Society of Microbiology.
- Permenkes, R. (2015). *Program Pengendalian Resistensi Antimikroba di Rumah Sakit*.
- Phares, C. A., Danquah, A., Atiah, K., Agyei, F. K., & Michael, O.-T. (2020). Antibiotics utilization and farmers' knowledge of its effects on soil ecosystem in the coastal drylands of Ghana. *PloS one*, 15(2), e0228777. doi: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0228777>
- Pradipta, I. S., Febrina, E., Ridwan, M. H., & Ratnawati, R. (2012). Identifikasi pola penggunaan antibiotik sebagai upaya pengendalian resistensi antibiotik. *Indonesian Journal of Clinical Pharmacy*, 1(1), 16-24.
- Sagala, T. R., Supono, S., & Harpeni, E. (2020). Effect Biofloc System and Probiotics *Bacillus* sp. D2. 2 that non Specific Immune Response of *Tilapia Oreochromis niloticus* (Linn, 1758) Infected by *Aeromonas hydrophila*. *Berkala Perikanan Terubuk*, 48(1), 309-319. doi: DOI: <http://dx.doi.org/10.31258/terubuk.48.1.309-319>
- Sharma, P., Mathur, N., Singh, A., Sogani, M., Bhatnagar, P., Atri, R., & Pareek, S. (2015). Monitoring hospital wastewaters for their probable genotoxicity and mutagenicity. *Environmental monitoring and assessment*, 187(1), 4180.
- Silver, L., Chandler, M., de la Tour, E. B., & Caro, L. (1977). Origin and direction of replication of the drug resistance plasmid R100. 1 and of a resistance transfer factor derivative in synchronized cultures. *Journal of bacteriology*, 131(3), 929-942.
- Sitorus, N. K., Lukistyowati, I., Syawal, H., & Putra, I. (2019). Identification of Lactic Acid Bacteria from Bioflok Technology which has been Gave Mollases on Red *Tilapia* (*Oreochromis* sp.) Aquaculture. *Berkala Perikanan Terubuk*, 47(1), 83-92. doi: DOI: <http://dx.doi.org/10.31258/terubuk.47.1.83-92>
- Skariyachan, S., Lokesh, P., Rao, R., Kumar, A. U., Vasist, K. S., & Narayanappa, R. (2013). A pilot study on water pollution and characterization of multidrug-resistant superbugs from Byramangala tank, Ramanagara district, Karnataka, India. *Environmental monitoring and assessment*, 185(7), 5483-5495.
- Supendi, A. (2016). *Dampak Aktivitas Antropogenik pada Daerah Aliran Sungai terhadap Produktivitas Tambak di Perairan*

Pesisir. Paper presented at the Seminar Nasional PBI 2016.

Utami, E. R. (2012). Antibiotika, resistensi, dan rasionalitas terapi. *Sainstis*.

Vila, J., & Pal, T. (2010). Update on antibacterial resistance in low-income countries: factors favoring the emergence of resistance. *The Open Infectious Diseases Journal*, 4(1), 38-54. doi: <http://dx.doi.org/10.2174/1874279301004010038>

Wayne, P. (2010). Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 20th informational supplement. *CLSI document M100-S20*.