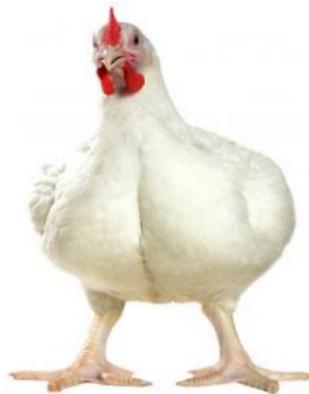


II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ayam Broiler

Ayam broiler merupakan galur ayam hasil rekayasa genetik yang memiliki karakteristik pertumbuhan cepat sebagai penghasil komoditas daging dengan nilai hitung penggunaan ransum yang rendah. Usia ayam yang relatif muda siap dipotong dengan menghasilkan kualitas daging berserat lunak. Broiler tergolong ayam muda yang memiliki rentan umur 6-8 minggu dengan bobot hidup mulai dari 3 sampai 5 pound (lbs) (1,5-2,5 kg). Awal mula broiler yang telah berkembang hingga saat ini merupakan hasil dari persilangan antara pejantan *White Cornish* (Inggris) dengan betina *Plymouth Rock* (Amerika). Hanya dengan kurun waktu 5-6 minggu sudah bisa panen dengan rentan waktu pemeliharaan relatif cepat dan menguntungkan. Peternakan broiler ini berkembang pesat, serta menyebar di hampir seluruh wilayah di Indonesia (Simanjuntak, 2017).



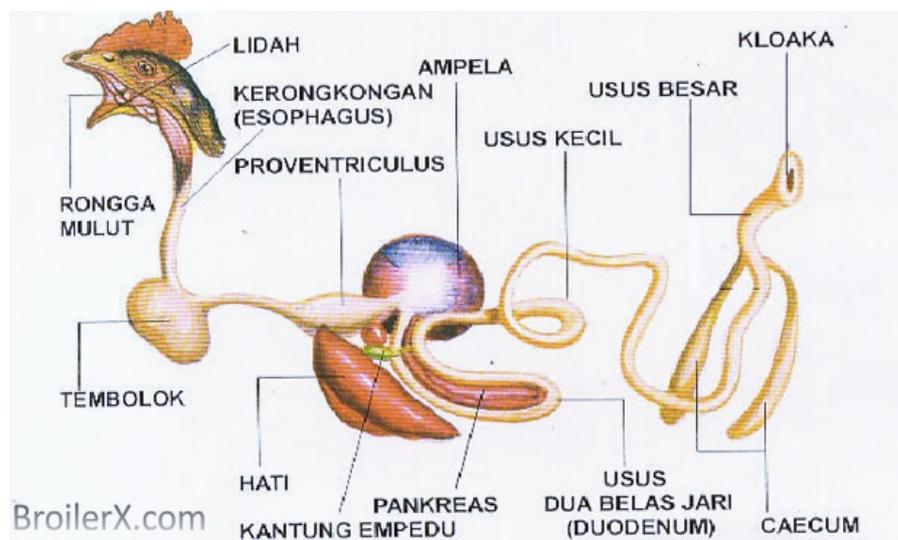
Gambar 2.1 Ayam Broiler (Fuadi dan Yustendi, 2018).

Klasifikasi Ayam menurut Fuadi dan Yustendi (2018) sebagai berikut, yaitu : Kingdom : *Animalia*, Subkingdom : *Metazoa* Phylum : *Chordata*, Subphylum : *Vertebrata*, Devisi : *Carinathae*, Kelas : *Aves*, Ordo : *Galliformes*,

Family : *Phasianidae*, Genus : *Gallus*, Spesies : *Gallus gallus domestica*. Ayam broiler merupakan jenis ayam yang memiliki karakter tenang, bentuk tubuh relatif besar, pertumbuhannya cepat, bulu rapat ke tubuh, kulit putih dan produksi dari telurnya rendah.

2.2 Sistem Pencernaan Ayam

Saluran pencernaan pada ayam yang terbagi menjadi beberapa saluran cerna meliputi tembolok, proventrikulus, menuju ventrikulus, usus halus (yakni duodenum, jejunum, dan ileum), usus besar (sekum dan rektum) dan berakhir pada kloaka, sangat berbeda dari hewan lain (Huang *et al.*, 2022).



Gambar 2.2 Sistem Pencernaan Ayam (Insani, 2020).

Esofagus merupakan saluran yang memiliki dinding tipis membawa sumber makanan dari mulut ke bagian proventrikulus. Esofagus yang dimiliki unggas terbagi menjadi bagian esofagus servikal dan esofagus torakal. Variasi ukuran dan bentuk esofagus berbeda setiap spesies unggas dari makanan yang

dikonsumsi. Esofagus meluas ke bawah leher menuju ke rongga dada dan berakhir pada proventrikulus. Lambung kelenjar atau proventrikulus merupakan organ yang berperan dalam pencernaan secara enzimatik memproduksi mukus. Sekresi yang dihasilkan berupa asam klorida dan pepsinogen (Dael *et al.*, 2021).

Ventrikulus disebut lambung yang terletak diantara proventrikulus dan bagian atas dari usus halus. Fungsi utama lambung unggas atau sering disebut secara umum ampela membantu melumatkan pakan yang masuk dan tercampur dengan air menjadi halus atau dinamakan chymne. Ampela secara fisiologis dipacu untuk proses sistem pencernaan dalam mengelola serat, baik secara mekanik maupun enzimatik (Aqsa *et al.*, 2016).

Usus halus merupakan organ utama berlangsungnya pencernaan dan absorpsi produk pencernaan. Struktur anatomi usus halus dapat dibagi menjadi tiga bagian yaitu duodenum, jejunum dan ileum (Satimah *et al.*, 2019). Sekum merupakan saluran pencernaan yang memiliki fungsi sebagai tempat pencernaan secara mikrobial untuk mencerna nutrien yang tidak terserap oleh usus (Lestari *et al.*, 2020). Berdasarkan anatomi, kloaka terhubung ke ujung sistem pencernaan, namun pada ayam betina, kloaka juga terhubung ke saluran kemih dan sistem reproduksi (Lee *et al.*, 2020).

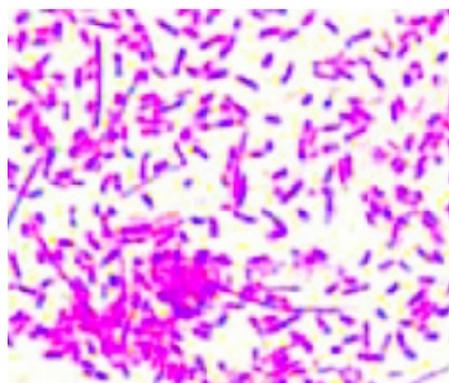
2.3 *Escherichia coli*

2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi *Escherichia coli*

Escherichia coli adalah mikroflora usus normal pada unggas (Dawadi *et al.*, 2021). Salah satu mikroorganisme yang diketahui mudah beradaptasi bersama

beberapa strain patogen di antara manusia dan hewan yang menyebabkan berbagai infeksi. *Escherichia coli* bertanggung jawab atas infeksi saluran pernapasan pada unggas yang menyebabkan colibacillosis, terjadi pada proses inhalasi debu yang terkontaminasi tinja (Jamil *et al.*, 2022).

Escherichia coli Patogen Ekstraintestinal (ExPEC) merupakan patogen fakultatif pada flora tinja pada sebagian besar manusia yang sehat, mamalia dan burung (Afayibo *et al.*, 2022). *Escherichia coli* merupakan bakteri Gram negatif dengan bentuk batang (*coccobasil*), dapat diklasifikasikan sebagai anggota famili *Enterobacteriaceae* pada kelas *Gammaproteobacteria*. *Escherichia coli* adalah salah satu bakteri yang dipelajari secara baik karena, *Escherichia coli* dapat tumbuh dengan cepat di kondisi pertumbuhan yang optimal untuk bereplikasi dalam ~ 20 menit. Ukurannya 1-3 x 0,4-0,7 μ m dan volume 0,6 hingga 0,7 μ m³. Diklasifikasikan sebagai bakteri aerob fakultatif yang dominan di saluran usus, meskipun jumlah bakteri anaerob lebih banyak daripada *Escherichia coli* (Jang *et al.*, 2017).



Gambar 2.3. Bakteri *Escherichia coli* (Agustina *et al.*, 2020).

2.3.2 Sifat Pertumbuhan *Escherichia coli*

Bakteri memerlukan nutrisi, sumber energi dan tentunya kondisi lingkungan tertentu untuk perkembangannya. Media yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri harus memenuhi persyaratan nutrisi yang dibutuhkan oleh suatu mikroorganisme (Andayani *et al.*, 2022). Bakteri membutuhkan nutrisi minimum yang diterima yaitu air, sumber karbon, sumber nitrogen dan beberapa garam mineral. Bakteri fototropik menggunakan cahaya sebagai sumber energi sedangkan bakteri kemotrofik hanya memanfaatkan energi oksidasi mineral atau senyawa organik sebagai sumber energi (Bonnet *et al.*, 2020).

Pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* tidak hanya membutuhkan faktor nutrisi seperti sumber karbon, nitrogen, yang tersedia pada media. Namun, pertumbuhan tersebut dapat dipengaruhi beberapa faktor yaitu temperatur, pH, sumber nitrogen, fosfor, sulfur dan mineral lain. Sebagian besar bakteri tumbuh secara optimal pada temperatur suhu tubuh manusia. Akan tetapi, beberapa bakteri dapat tumbuh pada lingkungan ekstrem yang berada di luar batas pertahanan organisme eukariotik. Bakteri tumbuh subur pada pH 6,5-7,5. Tidak banyak bakteri yang dapat tumbuh pada pH asam (di bawah pH 4). Melalui proses biakkan di laboratorium, bakteri sering memproduksi asam yang biasanya berpengaruh pada pertumbuhan bakteri itu sendiri (Amaliah *et al.*, 2018).

2.3.3 Patogenesis

Escherichia coli menjadi bakteri non-patogen yang dapat bertindak sebagai komensal kedalam mikrobiota usus normal manusia dan banyak hewan. Sedangkan varian patogen, terbagi menjadi *Diaregenik Escherichia coli* (DEC)

dan *Ekstraintestinal Patogenik Escherichia coli (ExsPEC)*, memiliki patotipe yang cukup berbeda dengan berbagai strain alaminya. Varian ini dapat dikatakan patogen fakultatif atau obligat. Bakteri fakultatif merupakan bagian dari sistem saluran usus yang secara fisiologis dapat bertindak sebagai patogen oportunistik ketika berada di luar habitat aslinya, yang dapat menyebabkan berbagai jenis infeksi *ekstraintestinal*. Pengertian lain dari varian patogen pada usus terjadi secara obligat yang menyebabkan infeksi dalam kondisi yang berbeda dari diare sedang hingga kasus yang lebih mengancam kematian (Braz *et al.*, 2020).

Berdasarkan sifat patogen bakteri terbagi menjadi beberapa golongan seperti *Enterotoksigenik Escherichia coli (ETEC)* adalah patogen enterik faktor utama yang menyebabkan puluhan juta penyakit diare setiap tahun. Infeksi ETEC terjadi karena konsumsi makanan dan air yang telah terkontaminasi, ETEC melewati sistem saluran pencernaan, dan membentuk kolonisasi di usus kecil. Jika, ETEC terdapat di usus kecil, akan menuju sel epitel usus melalui *Colonization Factors (CF)*, dan ETEC berproliferasi pada epitel usus setelah terjadinya kolonisasi. ETEC dapat memproduksi dan mengirimkan enterotoksin yang tidak tahan terhadap panas dan stabil terhadap panas sehingga dapat membentuk efek toksik (Zhang *et al.*, 2022).

Escherichia coli Enteropatogenik (EPEC) merupakan salah satu bagian dari strain yang menyebabkan diare jika dikonsumsi pada kepadatan sel 10⁵ - 10¹⁰ cfu/ml. Selain salah satu bakteri patogen yang dapat menyebabkan diare. EPEC dapat melekat pada sel mukosa usus terjadi perubahan struktur sel. Invasi yang menembus sel mukosa yang menimbulkan iritasi dan diare akut. Telah

dilaporkan sering menginfeksi pada anak-anak. Pencegahan diare yang disebabkan oleh EPEC penting dilakukan karena menjadi faktor diare akut yang dapat menyebabkan kematian (Fathmah *et al.*, 2019).

Escherichia coli Enteroinvasive (EIEC) merupakan patotipe *Escherichia coli* yang menyebabkan diare, melalui mekanisme invasif yang sama seperti *Shigella spp* (van den Beld *et al.*, 2019). Kontaminasi EIEC pada produk olahan daging sapi, produk unggas, sayuran, dan salad buah merupakan salah satu patogenitas. *Escherichia coli* yang dapat menyebabkan diare dikarenakan memiliki kemampuan untuk menginvasi dan menembus epitel usus yang membuat faktor utama morbiditas dan mortalitas anak di negara berkembang. Mendeteksi EIEC dalam sampel klinis dan non-klinis masih membingungkan karena memiliki sifat yang sama dengan strain *Escherichia coli* pada umumnya (Budiarso *et al.*, 2021).

Enterohemorrhagic Escherichia coli (EHEC) diakui sebagai patogen bawaan makanan penting yang menyebabkan beberapa penyakit gastrointestinal, seperti diare berdarah atau tidak berdarah, *kolitis hemoragik* dan sindrom uremik hemolitik pada manusia (Oh *et al.*, 2017). *Enteroaggregatif Escherichia coli* (EAEC) memiliki keterlibatan sebagai penyebab umum pada diare akut dan persisten. EAEC telah dikategorikan sebagai *Escherichia coli* yang tidak mengekspresikan enterotoksin dari sifat *Enterotoksigenik Escherichia coli* (ETEC) dan yang melekat pada sel epitel HEp-2 dalam fenotipe agregat (AA). EAEC berbeda dari beberapa kelompok *Diarrheagenic Escherichia coli* (DEC) dalam menggunakan definisi fenotipik, bukan genotipik (Boisen *et al.*, 2020).

2.4. Kultur Bakteri

Kultur bakteri merupakan metode awal yang telah dikembangkan untuk mempelajari mikrobiota manusia pada tahun 1860. Louis Pasteur ilmuwan yang pertama menggunakan media buatan yang memungkinkan terjadinya pertumbuhan dan isolasi bakteri. Media kultur padat yang pertama oleh Koch, yang dilakukan kemungkinan untuk memproduksi koloni bakteri, dan memurnikan koloni bakteri. Agen penyusun utama yang digunakan untuk media kultur padat adalah agar. Kemudian, adanya penemuan agen antimikroba dan target spesifiknya yang dapat mendorong munculnya penggunaan media selektif. Agen penghambat ini memungkinkan untuk mengeliminasi bakteri yang tidak diharapkan dari mikrobiota untuk memilih bakteri yang diinginkan (Bonnet *et al.*, 2020)

Prosedur yang umum digunakan dalam pengerjaan kultur mikroorganisme untuk memperoleh koloni terpisah dapat dilakukan dengan metode Metode *streak plate*. Tujuan metode *streak plate* untuk mengisolasi mikroorganisme dan meremajakan kultur pada media baru untuk mendapatkan koloni bakteri yang tumbuh sehingga dapat dipisahkan berdasarkan warna, ukuran dan bentuk koloni murni dengan menumbuhkan pada media yang sama sehingga terbentuk koloni murni (Mahdalena *et al.*, 2022).

2.5. Media Agar

Media kultur mengandung banyak nutrisi dan parameter pertumbuhan fisik yang sangat diperlukan untuk pertumbuhan mikroba. Semua mikroorganisme tidak dapat tumbuh sendiri dalam satu media dan banyak yang tidak dapat tumbuh

dalam media yang dikenal secara umum. Media kultur bakteri sering diklasifikasikan berdasarkan komposisi, konsistensi dan tujuan (Mitra, 2020).

Klasifikasi media biakan bakteri berdasarkan konsistensi terdiri dari 1) media padat terdiri struktur fisik dan memungkinkan bakteri dapat tumbuh dengan cara yang informatif atau berguna secara fisik (misalnya sebagai koloni atau garis-garis). Media padat berguna untuk mengisolasi bakteri untuk menentukan dari karakteristik koloni dari isolat. 2) Media semi padat mengandung konsistensi lembut seperti *custard* yang memiliki manfaat untuk perkembangan bakteri mikroaerofilik atau menentukan motilitas bakteri. 3) Media cair (Kaldu) media kaldu mengandung nutrisi dalam jumlah tertentu yang tidak mengandung bahan pembentuk gel sebagai contohnya adalah gelatin atau agar. 4) Media kaldu memiliki manfaat untuk menumbuhkan populasi organisme, studi fermentasi, dan berbagai pengujian lainnya (Sandeep, 2021).

Klasifikasi media kultur bakteri berdasarkan tujuan penggunaan fungsional aplikasi antara lain: media basal juga disebut sebagai media serba guna adalah media sederhana yang mendukung kondisi pertumbuhan sebagian besar bakteri mudah ditumbuhkan. *Pepton Water* dan *Nutrien Agar* (NA) dianggap media basal atau media dasar. Jenis media ini umumnya digunakan untuk isolasi pertama mikroorganisme. Selanjutnya ada media yang diperkaya (*enrichment*) nutrisi tambahan seperti darah, serum, kuning telur.

Media selektif dipakai untuk menghambat bakteri komensal atau kontaminasi yang tidak diharapkan dan membantu memulihkan patogen dari

campuran populasi bakteri. Pada media selektif berbasis agar, media pengayaan cair yang memiliki konsistensi. Kedua media ini memiliki manfaat yang setara. Dari setiap media agar yang memiliki fungsi selektif dengan penambahan agen yang menghambat dan tidak berpengaruh pada patogen yang diinginkan (Blanchard dan Christ, 2020).

Prinsip media selektif adalah menekan pertumbuhan bakteri berbeda. Berdasarkan fungsi untuk menekan pertumbuhan beberapa mikroorganisme dengan membiarkan pertumbuhan yang lain. Media selektif merupakan media berbasis agar (padat) yang dapat mengisolasi koloni individu (Afriansya, 2018). Sebagai contoh yaitu : a) *Thayer Martin Agar* yang digunakan untuk mengisolasi *Neisseria gonorrhoeae* yang mengandung antibiotik; vankomisin, colistin, dan nistatin; b) *Mannitol Salt Agar* dan *Salt Milk Agar* yang digunakan untuk mengisolasi *Staphylococcus aureus* mengandung NaCl 10%; c) Media potassium tellurite yang digunakan untuk mengisolasi *Corynebacterium diphtheriae* mengandung 0,04% kalium telurit; d) Agar *MacConkey* yang digunakan untuk anggota *Enterobacteriaceae* mengandung garam empedu yang menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif (Sandeep, 2021).

Enrichment medium merupakan media pengayaan dimanfaatkan untuk memperluas konsentrasi relatif pada mikroorganisme tertentu dalam kultur sebelum pelapisan pada media selektif padat. Berbeda dengan media selektif, kultur pengayaan biasanya digunakan sebagai media kaldu. Media pengayaan adalah media cair yang juga berfungsi untuk menghambat komensal dalam spesimen klinis. *Selenite F broth*, *tetrathionate broth* dan *alkaline peptone water*

(APW) digunakan yang dapat memulihkan patogen dari spesimen tinja (Cavaco, 2016)

Media Transport merupakan media yang digunakan untuk membawa spesimen klinis ke laboratorium dengan segera setelah pengambilan spesimen. Sifat media ini menghentikan pertumbuhan berlebih pada organisme kontaminan atau komensal dan mempertahankan viabilitas patogen potensial. Media tersebut mencegah pengeringan spesimen, mempertahankan rasio patogen terhadap komensal, dan menghambat pertumbuhan berlebih dari bakteri yang tidak diinginkan. Beberapa dari media ini (*Stuart's dan Amie's*) memiliki konsistensi semi-solid (Sandeep, 2021).

Media anaerob merupakan media khusus bakteri anaerob yang dibutuhkan untuk pertumbuhan dengan kandungan oksigen yang rendah, dengan potensi oksidasi-reduksi yang rendah dan terdapat nutrisi tambahan (Cahyana, 2018). Media untuk anaerob mungkin perlu ditambah dengan nutrisi seperti hemin (zat empedu) dan vitamin K. Perebusan pada media berfungsi untuk membantu mengeluarkan oksigen terlarut. Melalui penambahan glukosa 1%, tioglikolat 0,1%, vitamin C 0,1%, sistein 0,05%, atau serbuk besi yang dipanaskan dapat membuat medium berkurang. Sebelum nantinya digunakan, media harus direbus diatas air untuk mengeluarkan oksigen terlarut kemudian ditutup steril (Sandeep, 2021).

2.5.1 Media *Buffered Peptone Water* (BPW)

Buffered Peptone Water merupakan kaldu kaya nutrisi yang berfungsi sebagai media pengayaan sebelum dipindahkan ke media selektif. Sistem

penyangga fosfat (*phosphate buffered system*) mencegah terjadinya kerusakan sel bakteri akibat adanya perubahan pH pada media pertumbuhan. Media BPW menghasilkan resusitasi tingkat tinggi untuk bakteri dan mendukung pertumbuhan yang intens (Wijimulyati *et al.*, 2020). Peptone termasuk juga *Enzymatic digest of casein, buffered Peptone Water* berfungsi dalam membantu pH pertumbuhan akibat adanya perubahan pH yang disebabkan oleh pertumbuhan dan metabolisme mikroorganisme, serta menjaga agar mikroorganisme tidak rusak akibat perubahan pH tersebut. Kandungan pepton pada larutan BPW ini berfungsi sebagai sumber karbon, nitrogen, vitamin dan mineral bagi pertumbuhan bakteri (Azizah dan Soesetyaningsih, 2020).

2.5.2 Media *MacConkey Agar* (MCA)

MCA adalah salah satu media pertumbuhan yang banyak digunakan karena dapat bekerja untuk menumbuhkan bakteri gram negatif secara selektif sebagai salah satu media bakteriologis paling awal dan paling umum digunakan dalam mikrobiologi klinis untuk isolasi dan identifikasi bakteri (Hasan *et al.*, 2019).

2.5.3 Media *Mueller Hinton Agar* (MHA)

Mueller Hinton Agar (MHA) adalah media standar yang direkomendasikan pada pedoman standar untuk pengujian kepekaan isolat bakteri. Tes dilakukan dalam memprediksi kemanjuran klinis dari antibiotik yang diuji mengikuti prosedur standar untuk memberikan hasil penerapan umum metode uji kepekaan antimikroba. Media standar untuk uji kepekaan metode *Kirby-Bauer*

menggunakan MHA. *Mueller Hinton Agar* (MHA) adalah agar yang memungkinkan untuk difusi antibiotik yang lebih efektif dari kebanyakan media lain serta difusi yang lebih baik mengarah pada zona penghambatan yang lebih sesuai (Otajevwo Dafinone Festus dan Osawaru Osama Emmanuella, 2020).

2.6. Uji Biokimia

Uji biokimia dan identifikasi dilakukan dalam mengkarakterisasi kultur murni dari hasil isolasi melalui sifat morfologi dan fisiologisnya (Syahri *et al.*, 2019). Pada uji biokimia menunjukkan *Escherichia coli* yang merupakan bakteri Gram negatif. Hal tersebut ditandai dengan warna merah dari safranin pada pengamatan mikroskopis. Gram negatif memiliki ciri pada lapisan peptidoglikan yang tipis jika dibandingkan dengan bakteri Gram positif. Dinding sel pada *Enterobacteriaceae* termasuk *Escherichia coli* meliputi struktur membran dalam sitoplasmik dan membran luar yang terdiri dari lipopolisakarida (LPS) dan lipoprotein (Prasetya *et al.*, 2019)

Uji biokimia menentukan kemampuan bakteri untuk bereaksi dengan senyawa kimia untuk menghasilkan senyawa kimia lain yang berkaitan dengan sifat bakteri itu sendiri. Umumnya untuk mendeteksi reaksi tertentu diperlukan indikator atau pereaksi yang bervariasi tergantung bahan kimia yang ditambahkan (Rifai, 2021).

2.6.1. Uji Triple Sugar Iron Agar (TSIA)

Uji TSIA digunakan untuk melihat kemampuan bakteri dalam memfermentasi glukosa, laktosa dan sukrosa untuk mengetahui bakteri yang

menghasilkan gas dan asam. Prinsip utama dari uji ini untuk mendeteksi bakteri yang dapat memfermentasi (Saimin *et al.*, 2020).

Menurut Baniar *et al.* (2017), hasil yang berwarna kuning di bagian *slant* dan merah di bagian *butt* ditandai dengan terbentuknya gas terlihat media retak dan terangkat, dan pembentukan H₂S dengan terbentuknya cincin hitam pada media. Uji TSIA merupakan uji lengkap yang dapat menunjukkan pembentukan hidrogen sulfida (H₂S), pembentukan gas oksigen (O₂), serta menunjukkan kemampuan bakteri dalam memfermentasi laktosa dan sukrosa. TSIA Media mengandung laktosa dan sukrosa dalam konsentrasi 1%, glukosa 1%, dan fenol merah. Kandungan inilah yang menyebabkan terjadinya perubahan warna media. Bagian dasar dari media TSIA adalah untuk memfermentasi glukosa sedangkan bagian miring akan memfermentasi laktosa dan sukrosa (Wijimulyati *et al.*, 2020).

2.6.2. Uji *Simmons Citrate Agar* (SCA)

Uji Sitrat dapat dikatakan negatif, jika pengujian ini diamati dari kemampuan yang dimiliki bakteri untuk memanfaatkan sitrat sebagai sumber karbon. Bakteri mampu menggunakan sitrat sebagai sumber memenuhi kebutuhan karbonnya, sehingga bakteri membantu menaikkan pH dan mengubah warna media biakan yang memiliki warna awal hijau menjadi biru disebut uji positif. Uji ini negatif untuk *Escherichia coli* dikarenakan tidak dapat memanfaatkan sitrat untuk sumber karbon (Sapitri dan Afrinasari, 2019).

2.6.3. Uji *Sulfide Indol Motility* (SIM)

Sulfide Indol Motility merupakan media yang digunakan untuk uji

biokimia sebagai uji konfirmasi analisis *Escherichia coli*. SIM sering digunakan untuk mengidentifikasi *Enterobacteriaceae*, misalnya untuk membedakan spesies *Klebsiella* dari *Enterobacter* dan *Serratia*. Tujuan dilakukan pengujian tersebut untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memecah asam amino triptofan menjadi senyawa indol. *Triptofan* dihidrolisis oleh *triptofanase* dan menghasilkan tiga produk, salah satunya adalah indole. Produksi indol dideteksi dengan reagen Kovac dan dibiarkan bereaksi menghasilkan senyawa berwarna merah (Rifai, 2021).

Hasil uji indol pada isolat *Escherichia coli* dapat dikonfirmasi dengan hasil positif jika ditunjukkan adanya atau terbentuk cicin berwarna merah ceri setelah penambahan reagen Kovac yang dapat diinterpretasikan bahwa *Escherichia coli* dapat memproduksi enzim tryptophan. Uji *motility* digunakan untuk menunjukkan motilitas dari bakteri berdasarkan pergerakan bakteri. Hasil positif menunjukkan adanya bentukan awan dengan kekeruhan pada daerah tusukan. Hasil uji *motility* pada isolat *Escherichia coli* menunjukkan hasil positif hal ini dikarenakan morfologi *Escherichia coli* mempunyai flagella sebagai alat gerak yang dapat memungkinkan terjadinya pergerakan pada media tersebut (Puspita *et al.*, 2020).

2.6.4. Uji Urease

Urease adalah enzim yang terkandung dalam bakteri ureolitik yang dapat menghidrolisis urea menghasilkan amonia dan karbon dioksida. Reaksi positif ditunjukkan dengan perubahan warna dari medium menjadi merah muda (merah muda sekali). Perubahan warna dapat terjadi ketika enzim urease memecah ikatan karbon dan nitrogen untuk membentuk amonia. Adanya amonia membuat media

bersifat basa/basa menyebabkan indikator fenol merah pada media berubah menjadi merah muda, menandakan adanya reaksi positif atau produksi urease (Linda *et al.*, 2021).

Beberapa genus bakteri aerob yaitu *Proteus*, *Morganella*, *Serratia*, *Pseudomonas*, *Clostridium*, *Fusobacterium*, *Ureaplasma*, *Providencia*, *Sarcina*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, dan *Enterobacteriae*. Genus tersebut diketahui dapat menghasilkan enzim urease dan mampu mendegradasi urea pada kondisi aerob (Mekonnen *et al.*, 2021).

2.6.5. Uji Methyl Red Voges- Proskauer (MR-VP)

Uji MR-VP digunakan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam mengoksidasi glukosa menghasilkan kadar asam yang tinggi sebagai produk akhir. Uji MR digunakan untuk mengetahui kemampuan bakteri memfermentasi metilen glikol, secara umum media yang digunakan adalah glukosa fosfat. Sedangkan, media yang digunakan dalam uji VP tetap sama glukosa fosfat dengan tujuan pengujian untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menghasilkan *asetilmetilkarbinol* (asetoin) dari fermentasi glukosa (Ulfa *et al.*, 2016).

2.7. Antibiotik

Antibiotik adalah golongan senyawa sintetik atau alami yang mampu menghentikan atau menekan proses biokimia dalam organisme, terutama pada infeksi bakteri (Anggraini *et al.*, 2020). Antibiotik ke dalam penggunaan klinis merupakan terobosan medis terbesar sejak abad ke-20 (Hutchings *et al.*, 2019). Antibiotik juga digunakan untuk pencegahan dan metafilaksis, menjaga kesehatan

hewan, dan meningkatkan produktivitas. Pada hewan peliharaan, antimikroba sangat penting untuk mengobati infeksi kulit, luka, pernapasan, dan saluran kemih serta untuk mengurangi kejadian sepsis dan infeksi post operasi (Ogwuche *et al.*, 2021).

Agen antibiotik secara klasik dibagi menjadi dua kategori utama berdasarkan aktivitas *in vitro* mereka pada bakteri: bakterisida dan bakteristatik (Calhoun *et al.*, 2022). Menurut Kementerian Kesehatan Republik Indonesia tahun 2011, antibiotik dapat diklasifikasikan menurut mekanisme kerjanya, yaitu: mencegah sintesis atau merusak dinding sel bakteri, seperti beta laktam (penisilin, sefalosporin, monobaktam, karbapenem, inhibitor beta-laktamase), basitrasin dan vankomisin yang mengubah atau menghambat sintesis protein, sebagai contoh yakni sintesis atau metabolisme asam nukleat, seperti kuinolon, nitrofurantoin.

Penggolongan antibiotik berdasarkan struktur kimia dapat dibedakan dengan golongan sebagai berikut : a) Betalaktam yakni penisilin (contohnya terdiri dari : penisilin, ampisilin, isoksazolil penisilin), sefalosporin (antara lain : sefadroksil, sefaklor), monobaktam (contohnya yaitu: azteonam) dan karbapenem (contohnya : imipenem), b) Golongan tetrasiklin (contohnya tetrasiklin dan doksisisiklin), c) *Makrolida* (meliputi eritromisin dan klaritromisin), d) Golongan linkomisin (contohnya yaitu linkomisin dan klindamisin), e) Kloramfenikol (contohnya kloramfenikol dan tiamfenikol), f) Golongan Aminoglikosida (antara lain : streptomisin, neomisin dan gentamisin) g) Golongan dari Sulfonamida (yaitu: sulfadizin, sulfisoksazol) dan kotrimoksazol (kombinasi trimetoprim dan sulfametoksazol), h) Golongan Kuinolon (contohnya : asam nalidiksat) dan

fluorokuinolon (contohnya: siprofloksasin dan levofloksasin), i) Golongan antibiotik glikopeptida (contohnya vankomisin dan telkoplanin), j) Antimikrobakterium, isoniazid, rifampisin, pirazinamid, k) Golongan lainnya meliputi polimiksin B, basitrasin, oksazolidindion (Masripah dan Rosmiati, 2021).

2.7.1 Ampisilin

Ampisilin merupakan antibiotik yang masih umum digunakan untuk mengatasi infeksi. Ampisilin memiliki spektrum antimikroba yang luas, antibiotik ini memiliki senyawa aktif untuk melawan *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *meningitis*, *Salmonella typhi* dan *Escherichia coli* (Ulfa *et al*, 2016). Antibiotik ampisilin merupakan jenis antibiotik golongan beta laktam yang memiliki mekanisme kerja dengan menghambat proses sintesis dinding sel bakteri. Ampisilin mampu mengikat satu atau lebih pada *Protein Binding Penicilin* (PBP), sehingga menimbulkan hambatan pada tahapan akhir proses transpeptidase sintesis peptidoglikan yang terjadi dalam dinding sel bakteri. Pada mekanisme kerja biosintesis dinding sel yang terhambat menyebabkan sel bakteri menjadi pecah (lisis). Sintesis dinding sel yang terganggu mengakibatkan bakteri tersebut tidak memiliki kemampuan dalam mengatasi perbedaan tekanan secara osmosis di luar dan di dalam sel yang mengakibatkan bakteri tersebut mati (Suheri *et al.*, 2015).

2.7.2 Amoksisilin

Amoksisilin adalah antibiotik golongan beta laktam dengan ikatan cincin terdiri dari gugus asam disetiap karbon yang melekat pada nitrogen yang memiliki

kemampuan dalam mencegah sintesis dan pertumbuhan bakteri serta merusak dinding sel lebih baik (Zuhriyah *et al.*, 2020). Amoksisilin tergolong antibiotik yang memiliki spektrum luas yang bioavailabilitas secara oral cukup tinggi. Puncak konsentrasi plasma dalam waktu 1- 2 jam membuat amoksisilin berkurang tingkat kestabilannya dalam suasana asam. Sehingga cincin beta laktam dapat terbuka ketika ditempatkan di lingkungan netral ketika cincin tersebut bertemu dengan enzim beta laktamase, dalam menghasilkan zat aktif (Sofyani *et al.*, 2018). Amoksisilin merupakan antibiotik derivat dari penisillin. Antibiotik ini bekerja dengan melawan bakteri Gram negatif dan Gram positif (Ayuningtyas *et al.*, 2021).

2.8 Mekanisme Kerja Antibiotik (Ampisilin dan Amoksisilin)

Target utama beta laktam adalah *Protein Binding Penicilin* (PBP) Telah dihipotesiskan bahwa cincin beta laktam meniru bagian D-alanil dari rantai peptida yang biasanya terikat oleh PBP. PBP berinteraksi dengan cincin beta laktam dan tidak tersedia untuk sintesis peptidoglikan baru sehingga rusaknya lapisan peptidoglikan menyebabkan bakteri terurai (Kapoor *et al.*, 2017). Mekanisme kerjanya didasarkan pada penghambatan reaksi transpeptidase dalam sintesis dinding sel bakteri. Kelas antibiotik beta laktam termasuk penisilin, sefalosporin, dan karbapenem (Gallagher, 2018).

2.9 Uji Resistensi Bakteri Terhadap Antibiotik

Resistensi antibiotik didefinisikan sebagai kemampuan genetik bakteri dalam menyandikan gen resistensi yang memalsukan pengaruh penghambatan

antibiotik potensial supaya bertahan hidup (Khan *et al.*, 2019). Resistensi tersebut dimediasi oleh beta laktamase yang tersebar secara luas di antara organisme ESKAPE (*Enterococcus*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Escherichia coli*) (Varela *et al.*, 2021). Resistensi antibiotika terjadi ketika bakteri tidak merespon obat untuk membunuhnya. Resistensi antibiotika, menyebabkan penurunan kemampuan antibiotik tersebut dalam mengobati infeksi dan penyakit pada manusia dan hewan (Lia Yunita *et al.*, 2021).

Kerentanan antibiotik dari semua isolat ditentukan melalui protokol pengujian difusi cakram antibiotik *Institute for Clinical and Laboratory Standards* (CLSI) dengan merekomendasikan profil sensitivitas antibiotik berdasarkan isolat dipengaruhi mengikuti zona breakpoint diameter penghambatan dan kategori interpretatif (rentan, menengah, atau resisten) untuk *Enterobacteriaceae* (Ibrahim *et al.*, 2021).