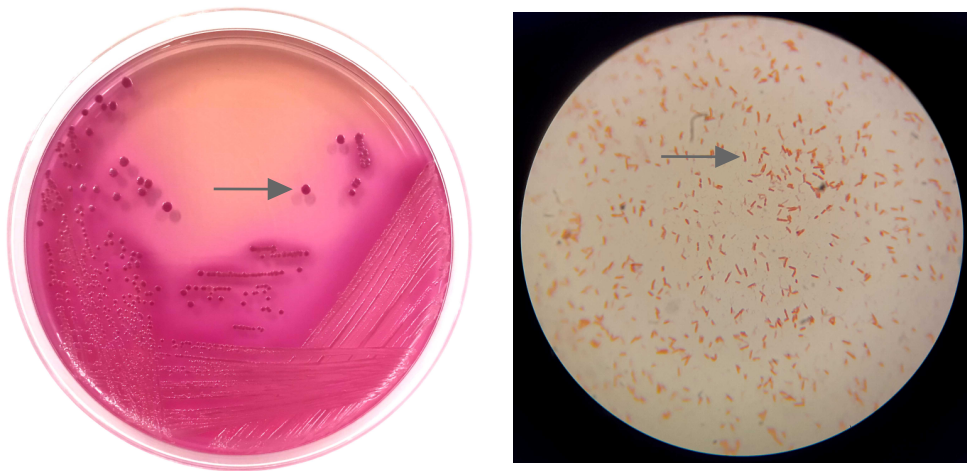


## IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Escherichia coli*

Hasil dari isolasi dan identifikasi dengan jumlah total 50 sampel yang dikoleksi dari swab kloaka. Isolat yang di rekultur pada media *MacConkey Agar* (MCA) 48 diantaranya menghasilkan koloni dengan morfologi warna merah, bulat dan kering. Koloni yang diduga *Escherichia coli* pada media MCA selanjutnya dilakukan proses pewarnaan Gram, dengan menunjukkan sifat bakteri Gram negatif memiliki morfologi batang pendek. Dapat dilihat pada Gambar 4.1.

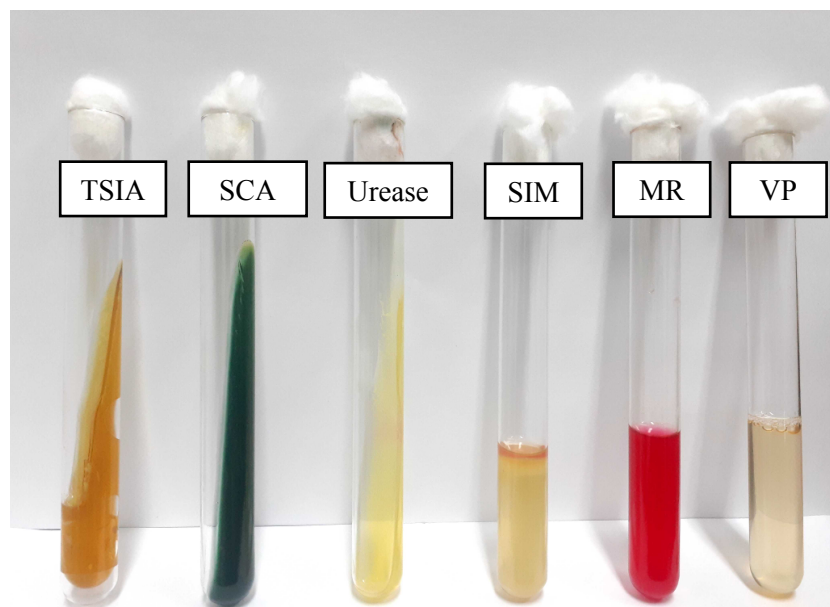


**Gambar 4.1** Hasil Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* (a). *MacConkey Agar* (MCA) dan (b). Pemeriksaan Pewarnaan Gram Koloni dengan Pembesaran 1000 kali

Identifikasi positif *Escherichia coli* yang didapatkan dari koloni terpisah pada media MCA dilakukan proses pemeriksaan mikroskopis dengan pewarnaan Gram

yang menunjukkan hasil dengan morfologi batang pendek (*Coccobasil*) atau dapat dikatakan sebagai bakteri Gram negatif. Pewarnaan tersebut diamati menggunakan mikroskop dengan pembesaran 1000 kali. Pewarnaan menunjukkan bahwa bakteri yang didapatkan pada kultur media MCA dapat diketahui kemurnian dan keragaman bentuk dari morfologi bakteri.

Uji biokimia yang digunakan yaitu uji (IMViC) serta *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA) dan urease. Hasil dari 48 sampel yang diujikan menunjukkan indol positif pada media *Sulfide Indole Motility* (SIM) dengan terlihatnya cincin merah pada permukaan media dan motilitas positif ditunjukkan dengan terdapatnya cecara terbalik atau warna keruh disekitar garis tusukan. Hasil uji biokimia yang dilakukan pada beberapa media agar dapat diamati pada Gambar 4.2.



**Gambar 4.2** Hasil Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* pada Uji Biokimia

Berdasarkan hasil dilakukan pengamatan pada gambar 4.2 bakteri *Escherichia coli* dikultur ke dalam media MR-VP dari semua sampel yang diuji menunjukkan hasil MR positif setelah dilakukan penambahan 5 tetes larutan indikator *methyl red* sehingga terjadi perubahan warna menjadi merah pada media dan menunjukkan hasil negatif pada VP dikarenakan tidak menunjukkan adanya perubahan warna setelah dilakukan penambahan tiga hingga lima tetes larutan  $\alpha$ -naphthol 5% serta lima tetes KOH 40%. Keseluruhan sampel dengan pertumbuhan koloni bakteri yang diduga bakteri *Escherichia coli* pada media MCA menunjukkan hasil SCA negatif yakni dengan tidak terjadinya perubahan warna pada media dari hijau menjadi biru. Hasil uji pada media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA) menunjukkan bahwa terjadi perubahan warna menjadi kuning pada bagian *slant* dan *butt* serta terbentuknya gas dengan tampak pada media yang terangkat ataupun tampak retak tanpa adanya kemampuan dalam mengoksidasi hidrogen sulfida (Asam/Asam, H<sub>2</sub>S negatif, gas positif).

Koleksi sampel swab kloaka telah diambil dari tujuh wilayah pasar di Kabupaten Sidoarjo yang terdiri dari Buduran, Larangan, Sedati, Waru, Gedangan, Sepanjang dan Sukodono, dilakukan interpretasi hasil uji biokimia dari keseluruhan sampel. Berdasarkan dari beberapa pengujian yang dilakukan untuk identifikasi bakteri dari 50 sampel didapatkan 48 sampel positif *Escherichia coli* atau sebesar (96% (48/50)). Hasil identifikasi positif *Escherichia coli* memiliki persentase di lima wilayah sebesar 100% dan 90% terendah pada dua wilayah lainnya yang

teridentifikasi *Escherichia coli*. Hasil dapat dilihat pada Tabel 4.1.

**Tabel 4.1** Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* Hasil Isolasi Swab Kloaka Ayam di Kabupaten Sidoarjo

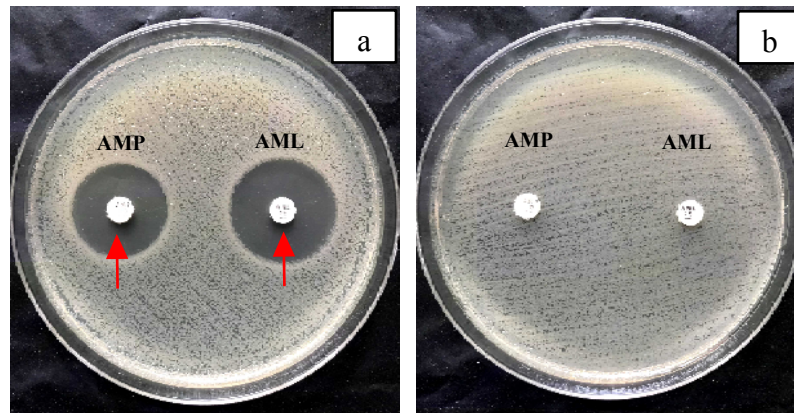
<b>Pasar Wilayah</b>	<b>Jumlah Sampel</b>	<b>Positif (+)</b>	<b>Negatif (-)</b>
Buduran	5	100% (5/5)	0% (0/5)
Larangan`	10	90% (9/10)	10% (1/10)
Sedati	10	90% (9/10)	10% (1/10)
Waru	5	100% (5/5)	0% (0/5)
Gedangan	5	100% (5/5)	0% (0/5)
Sepanjang	10	100% (10/10)	0% (0/10)
Sukodono	5	100% (5/5)	0% (0/5)
<b>Total</b>	<b>50</b>	<b>96% (48/50)</b>	<b>4% (2/50)</b>

Hasil isolasi pada uji biokimia dari masing-masing wilayah di Kabupaten Sidoarjo diperoleh positif *Escherichia coli* tertinggi dengan persentase 100% di wilayah Buduran, Waru, Gedangan, Sepanjang dan Sukodono, sedangkan hasil yang didapatkan untuk wilayah Larangan dan Sedati 90%. Uji konfirmasi tersebut menggunakan uji biokimia media agar yang terdiri dari TSIA, SCA, Urease, SIM dan MR-VP, untuk mengetahui hasil positif *Escherichia coli* dari 50 koleksi sampel swab sebanyak 48 telah teridentifikasi positif *Escherichia coli*.

#### **4.2 Hasil Uji Sensitivitas Antibiotik**

Isolat yang positif bakteri *Escherichia coli* yang telah melalui tahapan isolasi dan identifikasi selanjutnya dilakukan uji sensitivitas terhadap antibiotik ampisilin dan amoksisilin. Suspensi isolat yang telah murni bakteri *Escherichia coli* diambil

dan dilarutkan pada NaCl dan yang telah dibandingkan dengan standart *Mc Farland* nomor 0,5 kemudian dilakukan uji sensitivitas terhadap penggunaan antibiotik *Ampisilin Antimicrobial Susceptibility Discs* (AMP) 10 $\mu$ g Oxoid®, *Amoksisilin Antimicrobial Susceptibility Discs* (AMC) 30 $\mu$ g Oxoid®. Uji sensitivitas menghasilkan diameter zona hambat pada media MHA yang kemudian diukur menggunakan jangka sorong dengan satuan milimeter (mm). Hasil uji sensitivitas ditampilkan pada Gambar 4.3.



**Gambar 4.3.** Hasil uji sensitivitas antibiotik ampisilin (AMP) dan amoksisilin (AML) terhadap bakteri *Escherichia coli* (a). Sensitif terbentuk zona hambat, (b). Resistensi tidak terbentuk zona hambat

Sensitivitas dan resistensi dari aktivitas bakteri terhadap kinerja antibiotik dapat ditentukan dari terbentuknya diameter zona hambat disekitar peletakan *paper disk* pada media pengujian MHA. Hambatan yang terjadi akan terlihat sebagai zona terang di lokasi yang tidak memperlihatkan adanya pertumbuhan suatu bakteri di sekitar peletakan *paper disk* pada media MHA, sehingga terlihat zona bening. Apabila jarak *paper disk* dengan pertumbuhan bakteri memiliki diameter lebih besar

dari ukuran standart resistensi pada antibiotik ampisilin dan amoksisilin, maka dapat dinyatakan terkait bakteri tersebut sensitif terhadap *paper disk* sehingga bisa dikatakan juga bahwa antibiotik memiliki kemampuan untuk menghambat proses pertumbuhan dari bakteri, tetapi bila jarak antara *paper disk* dengan koloni bakteri dibawah dari ketentuan ukuran sensitif pada antibiotik ampisilin dan amoksisilin, maka dapat dikatakan bahwa bakteri tersebut resisten terhadap *paper disk* atau dengan kata lain kinerja antibiotik tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

Hasil dari uji sensitivitas Gambar 4.3a menunjukkan bahwa antibiotik ampisilin dan amoksisilin membentuk zona hambat dan pada gambar 4.3b tidak terbentuk zona di sekitar *paper disk*. Hasil uji sensitivitas diatas dapat dikatakan bahwa antibiotik ampisilin dan amoksisilin memiliki kinerja untuk menghambat pertumbuhan bakteri, namun ditemukan pada sampel berbeda lainnya tidak terbentuk zona bening sehingga tidak terjadinya penghambatan pertumbuhan bakteri. Ukuran zona hambat yang dikatakan sensitif pada gambar 4.3a dari kedua antibiotik yang digunakan yaitu ampisilin terbentuk diameter zona hambat 20 milimeter, amoksisilin menunjukkan diameter zona hambat 25 milimeter. Hasil keseluruhan dari uji sensitivitas dicatat dan dicocokkan dengan *Clinical and Laboratory Standards Institute* (2020), dengan mengelompokkan menjadi tiga pembagian kategori: sensitive (S), sedang (I) dan resisten (R). Data pengukuran zona hambat diolah menggunakan Microsoft Excel 2010, dan hasilnya dapat ditabulasikan serta menentukan persentase total dari ketiga kategori tersebut. Data zona hambat kedua antibiotik tersebut dapat

diamati pada Tabel 4.2.

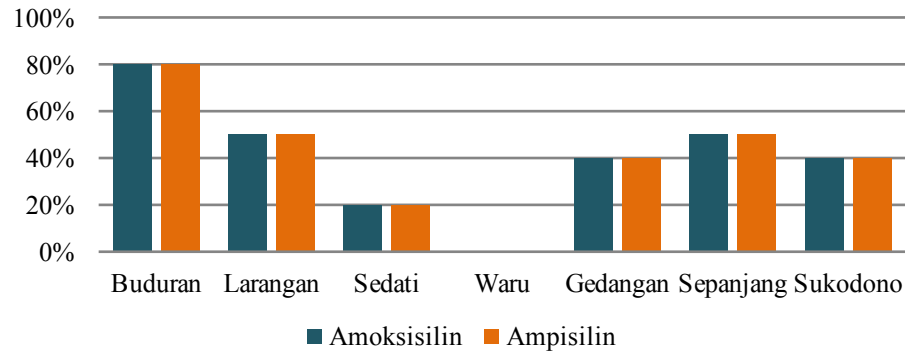
**Tabel 4.2** Zona hambat bakteri *Escherichia coli* terhadap antibiotik ampisilin dan amoksisilin.

Isolat Positif <i>Escherichia coli</i>	Ampisilin (AMP) (%)			Amoksisilin (AML) (%)		
	S	I	R	S	I	R
Buduran	20 (1/5)	0 (0/5)	80 (4/5)	20 (1/5)	0 (0/5)	80 (4/5)
Larangan	40 (4/10)	0 (0/10)	50 (5/10)	40 (4/10)	0 (0/10)	50 (5/10)
Sedati	70 (7/10)	0 (0/10)	20 (2/10)	70 (7/10)	0 (0/10)	20 (2/10)
Waru	100 (5/5)	0 (0/5)	0 (0/5)	100 (5/5)	0 (0/5)	0 (0/5)
Gedangan	60 (3/5)	0 (0/5)	40 (2/5)	60 (3/5)	0 (0/5)	40 (2/5)
Sepanjang	50 (5/10)	0 (0/10)	50 (5/10)	50 (5/10)	0 (0/10)	50 (5/10)
Sukodono	60 (3/5)	0 (0/5)	40 (2/5)	60 (3/5)	0 (0/5)	40 (2/5)
<b>Total</b>	<b>58%</b> <b>(28/48)</b>	<b>0%</b> <b>(0/48)</b>	<b>42%</b> <b>(20/48)</b>	<b>58%</b> <b>(28/48)</b>	<b>0%</b> <b>(0/48)</b>	<b>42%</b> <b>(20/48)</b>

Keterangan: Sensitif (S), Intermediet (I), Resisten (R)

Tabel 4.2 menunjukkan interpretasi data dari 48 sampel positif bakteri *Escherichia coli* 20 isolat diantaranya teridentifikasi resisten terhadap antibiotik ampisilin dan amoksisilin, 28 isolat sensitif terhadap ampisilin dan amoksisilin. Hasil pengukuran dalam pengujian sensitivitas antibiotik ampisilin dan amoksisilin terhadap *Escherichia coli* dari sampel swab kloaka ayam yang positif dapat diketahui hasil resistensi tertinggi (80% (4/5) dan resistensi terkecil terjadi (20% (2/10)). Bakteri *Escherichia coli* yang memiliki sensitivitas tertinggi terhadap antibiotik yang diujikan terjadi (100% (5/5), hampir semua pasar di wilayah Kabupaten Sidoarjo tidak menunjukkan hasil intermediet. Persentase *Escherichia coli* terhadap dua antibiotik yang diujikan dapat dilihat pada Gambar 4.4

### Resistensi Antibiotik Amoksisilin dan Ampisilin Pasar Kab Sidoarjo



**Gambar 4.4** Diagram Persentase Hasil Resistensi Antibiotik Ampisilin dan Amoksisilin

Hasil uji sensitivitas menunjukkan resistensi yang tinggi dari kedua antibiotik amoksisilin dan ampisilin terhadap *Escherichia coli* dari sampel swab kloaka ayam broiler yang dikumpulkan dari setiap pasar dari pedagang yang berbeda di wilayah Kabupaten Sidoarjo. Hasil persentase resistensi antibiotik ampisilin dan amoksisilin pada pasar wilayah Buduran didapatkan hasil sebesar (80%), diikuti data resistensi dibawahnya lebih rendah yaitu ada pada pasar wilayah Larangan (50%), Sepanjang (50%), Gedangan (40%), Sukodono (40%) dan Sedati (20%). Berdasarkan hasil diatas diamati bahwa tidak ditemukan resistensi dari Pasar Wilayah Waru atau menunjukkan persentase resistensi (0%). Uji sensitivitas diatas jika diamati kembali menunjukkan hasil yang memiliki tingkat resistensi yang sama dari antibiotik ampisilin dan amoksisilin, isolat bakteri yang resisten antibiotik ampisilin juga diikuti hasil resisten terhadap antibiotik amoksisilin.



### 4.3 Pembahasan

Sampel yang digunakan pada pelaksanaan penelitian ini merupakan hasil koleksi sampel 50 swab kloaka ayam broiler yang diambil dari tujuh pasar di Sidoarjo. Pengambilan sampel dengan metode swab kloaka dilakukan oleh peneliti untuk menunjukkan bahwa sampel tersebut berasal dari individu hidup, secara spesifik tanpa adanya kontaminasi dari lingkungan sekitar. Bakteri Gram negatif bagian dari *Enterobacteriaceae* sebagai mikroflora normal yang ditemukan pada usus. Keberadaan *Escherichia coli* sering ditemukan di lingkungan perairan dengan pengaruh kondisi sekitar dan memiliki keragaman secara kompleks strain dari *Escherichia coli* dari berbagai lingkungan. Menurut Hutasoit, (2020) untuk mendapatkan sampel spesifik dari individu hidup harus terhindar dari faktor kontaminasi lingkungan dengan kondisi sanitasi yang buruk. Data koleksi 50 sampel swab yang diperoleh tersebut setelah dilakukan identifikasi 48 sampel diantaranya teridentifikasi positif *Escherichia coli*, hal ini dapat disebabkan karena bakteri *Escherichia coli* adalah bagian unik dari mikrobiota usus unggas karena merupakan penghuni khas saluran pencernaan dapat ditemukan di kloaka, sekum dan feses (Islam *et al.*, 2023).

Sampel sejumlah 50 swab kloaka dari tujuh pasar di Kabupaten Sidoarjo ditumbuhkan pada media *Buffered Pepton Water* (BPW) yang merupakan media pengayaan yang efisien untuk menjaga kelembapan sampel swab. Tabung yang berisikan BPW dan *cotton swab* dibawa bersamaan dengan *coolbox* untuk menjaga

kondisi sampel yang telah dikumpulkan tetap berada dengan kondisi yang baik, sebagaimana yang disampaikan oleh Angga, (2023) BPW merupakan media non selektif sebagai *enrichment* dan pengenceran yang mampu menghidrolisis casein secara enzimatis didalamnya. Media yang diperkaya pepton, natrium klorida, fosfat disodium mampu menjaga keseimbangan secara osmotik dan menyangga pertumbuhan bakteri dengan pH netral. Hal ini sejalan dengan Yani *et al.*, (2019) menyatakan pH yang optimum untuk pertumbuhan bakteri adalah 6,5-7,5.

Kultur pada media *MacConkey Agar* (MCA) disimpan selama 24 jam di dalam inkubasi dengan suhu 37°C. Menurut Toruan *et al.* (2023) media tersebut memiliki komposisi lengkap yang bisa dimanfaatkan untuk menumbuhkan bakteri Gram negatif, merupakan media selektif dan diferensial yang memiliki kemampuan membedakan bakteri Gram negatif yang dapat memfermentasi laktosa dan non fermentasi laktosa. Media ini memiliki garam empedu yang berfungsi untuk membantu menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif. Isolasi yang dilakukan dari 50 sampel 48 diantaranya menunjukkan hasil pertumbuhan koloni berwarna merah, cembung dengan batas-batas yang jelas. Barcella *et.al.*, (2016) menyatakan morfologi khas dari koloni bakteri *Escherichia coli* yang dikultur di media *MacConkey Agar* (MCA) terlihat warna merah muda hingga merah muda tua, kering, dan berbentuk bulat, adanya area endapan garam empedu berwarna merah muda tua dikelilinginya. Koloni bakteri berbentuk pipih, tidak berlendir, dan tidak dapat memfermentasi laktosa.

Koloni bakteri yang didapatkan murni dan terpisah sesuai morfologi bakteri *Escherichia coli* pada media MCA dilakukan pewarnaan Gram. Bakteri Gram negatif kehilangan warna kristal violet setelah dicuci dan berubah menjadi merah setelah diwarnai dengan safranin. Menurut Tivani *et.al.*, (2019) hal ini disebabkan oleh dinding sel bakteri Gram negatif relatif lebih tipis dan memiliki lapisan luar yang mudah larut dalam alkohol. Pewarnaan gram dapat digunakan untuk mengidentifikasi jenis bakteri, termasuk *Escherichia coli* yang merupakan bakteri Gram negatif. Menurut Rini dan Rochmah, (2020) Bakteri Gram negatif mengandung peptidoglikan dengan jumlah rendah dibandingkan Gram positif, bagian luar peptidoglikan terdapat membran luar yang memiliki susunan lipoprotein, fosfolipid dan lipopolisakarida. Perbedaan dari komposisi dinding sel antara bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif memiliki ketahanan yang cukup berbeda.

Preparat dilakukan dekolorisasi dengan konsentrasi alkohol 96% sampai semua zat warna menjadi luntur dan dicuci dengan air mengalir. Bakteri *Escherichia coli* yang telah diwarnai menggunakan pewarna dasar warnanya jika tidak terhapus oleh alkohol akan berwarna violet karena menyerap pewarna kristal violet, dan karena memang tidak mampu menyerap pewarna kontras. Pewarnaan bakteri yang mempunyai sifat ini dikelompokkan menjadi bakteri Gram positif (Anjarsari dan Lestari, 2022). Preparat yang dilakukan pewarnaan Gram pada penelitian ini menunjukkan warna merah dengan morfologi khas dari bakteri *Escherichia coli*. Menurut Ayu *et al.*, (2021) Koloni bakteri yang telah dilakukan pewarnaan dasar dan

warnanya luntur atau terhapus setelah mendapatkan perlakuan dengan alkohol, warna primer yang luntur akan membantu penyerapan dari pewarna safranin yang digunakan untuk warna yang kontras, sehingga dalam preparat untuk mengidentifikasi Gram negatif akan menunjukkan warna merah. Koloni bakteri yang menunjukkan morfologi sel warna merah disebut dengan bakteri Gram negatif, yang didapatkan dari sampel dengan koloni memiliki bulat dan berwarna merah bata yang tumbuh pada permukaan media *MacConkey Agar* (Rini dan Rochmah, 2020).

Koloni terpisah yang telah dilakukan uji pewarnaan Gram telah dilanjutkan dengan uji biokimia menggunakan uji TSIA, SCA, urease, SIM, MR-VP (Puspita *et al.*, 2020). Uji biokimia pada prinsipnya dilakukan untuk mengetahui kemampuan dari bakteri dalam mereaksikan senyawa kimia sehingga menghasilkan reaksi kimia yang lain yang dapat dikaitkan dengan sifat dari bakteri. Proses untuk mengetahui adanya reaksi tertentu memerlukan sebuah senyawa sebagai indikator atau reagen yang ditentukan tergantung dari bahan kimia yang ditambahkan. Menurut Nasution *et al.* (2020) menyatakan bahwa uji biokimia dilakukan untuk mengetahui terkait sifat-sifat fisiologis koloni bakteri yang didapatkan dari hasil isolasi dengan proses metabolisme sel yang terjadi pada bakteri tersebut.

Pengujian TSIA dari hasil sampel menunjukkan suasana media Asam/Asam, H<sub>2</sub>S negatif, dan gas positif karena kemampuan *Escherichia coli* dalam memfermentasi glukosa, laktosa dan sukrosa yang dapat dibuktikan dengan perubahan pada media TSIA dibagian *butt* (bawah) berwarna kuning menandakan

bahwa *acid* (asam), hal ini terjadi pula pada bagian miring (*slant*) bewarna kuning, dapat dipastikan interpretasi dari pengujian tersebut menunjukkan suasana yang terbentuk *acid* (asam) pada *butt* dan *slant*. Hal ini sesuai dan dapat di validasi dari pendapat Risky, (2022) hasil dari uji TSIA pada sampel *Escherichia coli* menunjukkan perubahan menjadi warna kuning. Hal ini dikarenakan *Escherichia coli* pada media TSIA dapat memfermentasikan glukosa, laktosa dan sukrosa.

Fermentasi merupakan tahapan dari metabolisme sel yang menghasilkan energi dengan cara menguraikan molekul senyawa organik menjadi lebih sederhana. Hal ini dilakukan Bakteri *Escherichia coli* dengan memfermentasi glukosa, sukrosa, dan laktosa. Uji fermentasi karbohidrat dapat digunakan untuk mengidentifikasi bakteri *Escherichia coli* dari sampel yang dikerjakan. Pengujian ini melibatkan pengamatan dari perubahan warna media yang mengandung karbohidrat. Bakteri yang memiliki kemampuan memfermentasi karbohidrat, maka akan terjadi perubahan warna pada media. Menurut beberapa karbohidrat yang digunakan pada uji fermentasi karbohidrat antara lain glukosa, sukrosa, laktosa, maltosa, dan mannitol. Uji fermentasi karbohidrat dapat dilakukan pada media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA).

Uji *Simmons Citrate Agar* (SCA) dan urease dikatakan hasil negatif ditandai bakteri yang diuji pada media tersebut tidak terjadi perubahan indikator, dikarenakan bakteri *Escherichia coli* pada media SCA tidak mampu meningkatkan pH pada media yang akan merubah indikator biokimia *Brom Thymol Blue* dalam media dari warna

hijau menjadi warna biru. Berdasarkan Hasil pengamatan yang dilakukan untuk uji sitrat adalah negatif karena tidak menunjukkan perubahan warna dari media awal sebelum di kultur bakteri pada media miring SCA. Bakteri *Escherichia coli* tidak menggunakan sitrat sebagai sumber karbon sehingga ditunjukkan dengan tidak adanya perubahan warna pada media uji sitrat (Kartikasari *et al.*, 2019).

Hasil uji urease pada *Escherichia coli* dapat dilihat dari tidak adanya perubahan warna media kultur menjadi merah muda atau merah karena tidak adanya peningkatan pH akibat produksi amonia. Jika bakteri *Escherichia coli* positif pada uji urease, maka akan terjadi perubahan warna media kultur menjadi merah muda atau merah. Namun jika bakteri *Escherichia coli* negatif pada uji urease, maka tidak akan terjadi perubahan warna media. Menurut Prasetya *et al.*, (2019) jika bakteri tersebut memiliki enzim urease, maka akan terjadinya hidrolisis urea yang dapat menghasilkan amonia dan CO<sub>2</sub>. Amonia yang diperoleh akan membantu mengalkalisasi media dan terjadinya perubahan warna fenol merah dari kuning menjadi merah muda. Pendapat berbeda disampaikan Gunawan *et al.*, (2022) menunjukkan hasil negatif dimana tidak terjadi perubahan sifat warna dari media dan tetap bewarna kuning. Uji urease pada *Escherichia coli* juga dapat membantu dalam mencari bakteri *Escherichia coli* dan membedakannya dari bakteri lain yang cenderung memiliki sifat yang serupa.

Pengujian yang dilakukan di media SIM dapat diamati pada uji indol yang didapatkan hasil pada permukaan medianya telah mengalami perubahan menjadi warna merah setelah pemberian tetesan reagen kovaks, hal tersebut telah menunjukkan hasil yang positif, pada bagian dasar atau bagian bawah dari media memiliki warna yang transparan. Pengamatan pada uji motilitas koloni bakteri yang sebelumnya telah ditusukan tegak lurus kebawah pada media menghasilkan warna putih dan membentuk seperti cemara terbalik, sehingga hal tersebut menunjukkan hasil positif uji motilitas. Menurut Fallo dan Sin, (2016) reaksi positif pada pengujian ini ditandai dengan terbentuknya cincin merah dengan batasan yang jelas pada permukaan media, dikatakan reaksi negatif jika ditandai diatas permukaan dengan terbentuknya cincin kuning. Uji indol digunakan sebagai deteksi dalam mengetahui adanya enzim triptofanase pada bakteri yang memiliki kemampuan untuk menghidrolisis senyawa asam amino triptofan membentuk indol dan asam piruvat.

Mengamati terbentuknya asam piruvat pada uji indol digunakan untuk mengetahui adanya enzim triptofanase pada bakteri. Namun, tidak semua bakteri memiliki enzim triptofanase yang memiliki kemampuan menghidrolisis asam amino triptofan menjadi indol dan asam piruvat. Hal ini terjadi karena asam amino triptofan merupakan asam amino yang secara umum ditemukan pada protein, sehingga asam amino ini dengan mudah dapat dimanfaatkan oleh mikroorganisme sebagai sumber untuk memenuhi kebutuhan energi (Fallo dan Sin, 2016).

Sumber energi yang dimanfaatkan bakteri melalui aktivasi enzim triptofan banyak ditemukan pada spesies Gram negatif seperti *Escherichia coli*. Triptofan merupakan bagian dari protein makanan yang diperoleh di usus kecil membentuk mekanisme yang menggunakan triptofan sebagai sumber energi bakteri *Escherichia coli* (Gao *et al.*, 2020). Pengujian SIM menunjukkan hasil motilitasnya positif dengan adanya bentukan keruh cemara terbalik, dikatakan *motility* yang terlihat dari kekaburan yang terbentuk pada media di daerah sekitar tusukan (Kristiawan *et al.*, 2022).

Pengujian *Methyl-Red* (MR) dapat diamati pH keasaman pertumbuhan bakteri dari 50 sampel yang diujikan diantaranya menunjukkan hasil positif memiliki pH asam dengan hasil penambahan reagen menjadi warna merah pada media MR sedangkan pada uji *Voges-Praskeur* (VP) dalam mengamati produksi keton pada media, hasil uji VP menunjukkan hasil negatif hal ini dikarenakan bakteri *Escherichia coli* tidak mengolah glukosa untuk menghasilkan *Acetyl methyl carbitol*. Uji VP dapat memisahkan *Escherichia coli* (VP-negatif) dari koloni bakteri *Klebsiella-Enterobacter* (VP-positif) hasil negatif untuk uji VP pada *Escherichia coli* (Zarei *et al.*, 2021).

Isolat murni *Escherichia coli* positif dilanjutkan dengan pengujian kepekaan bakteri menggunakan metode difusi *paper disk* atau metode *Kirby-Bauer* (Niken *et al.*, 2022). Hasil uji kepekaan terhadap 48 isolat bakteri *Escherichia coli* menunjukkan profil antibiotik 42% resisten, 0% intermediet, dan 58% sensitif terhadap antibiotik



amoksisilin, terhadap ampisilin menunjukkan persentase 42% resisten, 0% intermediet, dan 58% sensitif.

Isolat bakteri *Escherichia coli* memiliki tingkat sensitivitas tertinggi terhadap amoksisilin yakni sebanyak 28 isolat dari 48 isolat atau sebesar 58%. Amoksisilin merupakan antibiotik golongan Beta-laktam yang memiliki spektrum luas, dipergunakan untuk mengobati berbagai penyakit infeksi dari bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif (Maida dan Lestari, 2019). Menurut Evans *et al.*, (2022) Amoksisilin adalah agen bakterisidal yang secara khusus pada golongan tersebut membunuh bakteri dengan mekanisme memberikan hambatan pada biosintesis lapisan peptidoglikan dinding sel bakteri. Sintesis peptidoglikan yang melibatkan proses transpeptidase, sejenis dengan *Protein Binding Penicilin (PBP)*. Amoksisilin mengikat PBP ini dan menghambat sintesis peptidoglikan, mengganggu dinding sel dan akhirnya menyebabkan kerusakan atau lisis bakteri.

Tingkat sensitivitas terbesar setelah amoksisilin adalah ampisilin yakni sebesar 28 isolat dari 48 isolat atau 58% isolat memiliki diameter zona hambat yang lebih dari sama dengan 29 mm. Ampisilin termasuk kedalam antibiotik golongan penisilin Betalaktam (Aprilia *et al.*, 2023). Ampisilin golongan Betalaktam semisintetik tersebut bertindak aktif dan mencegah sintesis dinding sel bakteri. Resistensi yang terjadi bakteri sering menolak antibiotik tersebut dikarenakan kemampuan bakteri dalam mengkode Beta-laktamase, mengubah protein target pada dinding sel, serta mampu menurunkan permeabilitas membran luar.

Terjadinya mekanisme *Antimicrobial Resistance* (AMR) meliputi dua aspek antara lain yakni aspek genetika dan aspek biokimia. Bakteri yang resisten terhadap agen antibakteri tertentu, maka semua sel bakteri bisa saja resisten (terkecuali adanya mutasi tambahan terjadi namun, bakteri yang tidak rentan terhadap obat terjadi karena tidak memiliki gen resistensi. Menurut C Reygaert, (2018) mekanisme terhadap aspek genetika dari setiap bakteri yang diklasifikasikan dari koloni atau spesies tertentu belum pasti rentan atau resisten terhadap agen antibiotik tertentu dikarenakan, tingkat resistensi cukup bervariasi setiap koloni bakteri terkait. Mekanisme bakteri berdasarkan aspek biokimia terlibatnya pola resistensi secara intrinsik dengan berkurang permeabilitas membran luar khususnya lipopolisakarida dalam bakteri gram negatif. Resistensi intrinsik secara biokimia terjadi pembatasan penyerapan obat, inaktivasi obat, dan *efflux*. Terdapat perbedaan mekanisme yang digunakan antara bakteri gram negatif dengan bakteri gram positif. Bakteri gram negatif memanfaatkan keempat mekanisme utama, sedangkan bakteri gram positif lebih jarang menggunakan pembatasan penyerapan obat dan tidak memiliki membran luar lipopolisakarida (Peterson dan Kaur, 2018).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ayam broiler yang diperjual belikan di pasar tradisional Sidoarjo terdeteksi adanya resistensi terhadap antibiotik Beta-laktam yang diujikan terutama terhadap antibiotik ampisilin dan amoksisilin yang memiliki nilai resistensi tertinggi yakni 20 isolat sebesar 42% dari 48 isolat Bakteri *Escherichia coli*. Bakteri *Escherichia coli* yang memiliki sifat resisten terhadap

antibiotik dapat berpotensi mentransferkan gen resisten.

Resistensi tertinggi terjadi pada sampel yang didapatkan di wilayah Buduran. Pada hasil pengujian menunjukkan 80% resisten terhadap antibiotik ampisilin dan amoksisilin. Tingginya tingkat resistensi tersebut besar kemungkinan terjadi pada aktivitas perdagangan pada wilayah tersebut, meskipun menghindari kontaminasi lingkungan. Kontaminasi pada pangan yang lengah dari pengawasan keamanan pangan beresiko memunculkan kejadian keracunan makanan di iringi dengan padatnya aktivitas penduduk di pasar. Pasar di wilayah Sidoarjo memiliki pasar modern yang belum merata dan pasar tradisional yang jauh lebih banyak terlihat antara bahan pangan mentah serta olahannya, saling berdekatan dengan aktivitas perdagangan ayam broiler disaat pengambilan sampel yang dilakukan peneliti.

Menurut Ritonga *et al.*, (2021) kontaminasi fecal dari proses pemotongan dan jual beli ayam broiler melibatkan manusia berdasarkan perlakuan pemotongan hingga pendistribusian, bahwa lingkungan dengan kondisi kotor, tidak terjaga sanitasinya dapat menjadi faktor kontaminasi silang dari limbah basah feses atau air bilas pencucian ayam yang berdekatan dengan jalanan umum atau dekat dengan selokan. Sumber kontaminasi silang yang sering ditemukan berupa lokasi penjualan yang dekat dengan akses jalan umum kurang dari 100 meter dan lokasi penjualan yang cukup dekat dengan pembuangan sampah di pasar kurang dari 100 meter. Berdasarkan pengamatan sementara yang dilakukan, peralatan yang digunakan tidak disimpan di tempat yang bersih dan dikeringkan menggunakan kain lap yang sering

digunakan. Hal ini juga memungkinkan terjadi penggunaan peralatan pisau dan meja yang digunakan untuk aktivitas perdagangan dari penjual yang saling berdekatan tanpa disadari bersentuhan terbawa oleh tangan ketika pembeli berbelanja.

Berdasarkan hasil uji sensitivitas menunjukkan persentase cukup tinggi pada wilayah Buduran, dapat diamati juga kondisi pasar pada wilayah tersebut menunjukkan kondisi lingkungan sekitar pasar yang padat penduduk, dekat dengan perumahan, fasilitas umum dan kos-kosan pekerja pabrik. Berdasarkan lampiran dokumentasi kondisi pasar pada gambar (*lampiran 6*) Pasar pada wilayah ini dekat dengan sungai yang kumuh penuh dengan sampah, sering juga pedagang membuang limbah basah seperti sayuran dan air bekas cucian ke dalam sungai, tidak hanya itu pada pasar wilayah buduran ini terbuka dengan atap besi di atasnya. Pengambilan sampel pada wilayah Buduran didapati kedatangan dan penurunan ayam broiler langsung dipasar tersebut dalam satu tempat sekaligus, sebelum pemotongan ayam dan diperjual belikan dalam bentuk daging segar.

Pasar wilayah Waru tidak menunjukkan hasil resistensi bakteri terhadap antibiotik ampisilin dan amoksisilin, hal ini dapat diamati pada gambar pada (*lampiran 6*) kondisi pasar di wilayah waru cukup bersih dengan penataan ruang pasar yang tertata, semi terbuka dan dekat dengan pemukiman. Pengamatan sementara yang dilakukan menunjukkan bahwa aktivitas perdagangan ayam dan daging cukup jauh berjarak lebih dari 100 meter dari pasar yang menjual bahan pangan mentah dan matang.

Beberapa faktor penyebab terjadinya resistensi terhadap antibiotik adalah gen resisten dan faktor dari penggunaan antibiotik yang kurang diperhatikan. Pemakaian antibiotik yang tidak diperlukan untuk indikasi yang tidak jelas berpengaruh pada kontribusi perkembangan resistensi terhadap antibiotik (Septiana dan Khusna, 2020). Ayam yang diperjualbelikan menimbulkan resiko kontaminasi bakteri yang bersifat resisten terhadap antibiotik pada rantai makanan yang dikonsumsi dari pasar (Nurhakim *et al.*, 2022). Kontaminasi *Escherichia coli* pada makanan merupakan masalah yang sering terjadi di pasar tradisional dan aktivitas dari lokasi pemotongan ayam. Hal ini, sangat erat hubungannya dengan sanitasi dan higienitas yang digunakan buruk. Ketika *Escherichia coli* mencemari makanan, dapat menyebabkan penyakit bawaan makanan seperti diare. Oleh karena itu, penting untuk menjaga proses sanitasi dan kebersihan yang baik di pasar dan lokasi pemotongan ayam untuk mencegah kontaminasi *Escherichia coli* dalam makanan.

Ayam broiler dan lalu lintas perdagangan ayam menjadikan reservoir penyebaran *Escherichia coli*, sehingga dengan demikian berpotensi menjadi sumber infeksi pada manusia melalui strain patogennya. *Escherichia coli* yang resisten terhadap antibiotik betalaktam dapat ditularkan dari ayam ke manusia secara langsung atau melalui makanan. Resistensi *Escherichia coli* terhadap golongan betalaktam terjadi terkait aktivitas enzim *beta lactamase* yang dihasilkannya (Nurjanah *et al.*, 2020). Bakteri yang resisten ini mampu menyebabkan kolonisasi pada saluran pencernaan manusia dan juga dapat menyalurkan gen resistensi terhadap

mikroflora endogen pada manusia. Beberapa penelitian mencantumkan penyebaran *Escherichia coli* yang resisten antibiotik dari ayam ke manusia terjadi di berbagai negara. Kemungkinan penularan *Escherichia coli* yang resistan terhadap antibiotik terjadi pada manusia, hewan dan lingkungan. Menurut Nurjanah *et al.*, (2020) Resistensi bakteri terhadap antibiotik betalaktam terdapat tiga jalur utama antara lain: penghancuran enzim *beta lactamase* pada antibiotik, perubahan target pada antibiotik, dan penurunan daya serap intraseluler antibiotik. Semua jalur ini mempunyai perananan terhadap resistensi antibiotik. Akan tetapi, bakteri yang memiliki kemampuan dalam memproduksi *beta lactamase* dan menghancurkan betalaktam merupakan penyebab utama terjadinya resistensi. *Beta lactamase* mampu menghasilkan resistensi terhadap kinerja antibiotik dengan cara memecah struktur yang ada pada antibiotik. *Beta lactamase* akan memanfaatkan kemampuannya untuk membuka cincin betalaktam dan melakukan perubahan struktur dari obat dan menghalangi terbentuknya ikatan *penicilin binding protein* (PBP).