

Penelitian

Efektivitas Fluoroquinolon Terhadap Isolat Bakteri Saluran Pencernaan Ular Sanca Batik (*Python reticulatus*)

(Effectivity of Fluoroquinolon to Isolated Bacteria from Digestive Tract of Sanca Batik Snake (*Python reticulatus*))

Agustina Dwi Wijayanti^{1*}, Antasiswa Windraningtyas Rosetyadewi¹, Tri Untari²

¹Bagian Farmakologi, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada

²Bagian Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada
Jl. Fauna No. 2 Karangmalang Yogyakarta 55281

*Penulis untuk korespondensi: tinabudiyanto@yahoo.co.id

Diterima 8 November 2012, Disetujui 14 Januari 2013

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang efektivitas antibiotika golongan fluoroquinolon (flumequin dan enrofloksasin) terhadap *Salmonella* dan *E. coli* yang diisolasi dari saluran pencernaan ular sanca batik (*Python reticulatus*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas fluoroquinolon terhadap infeksi saluran pencernaan pada ular dan reptil pada umumnya. Penelitian dilakukan dengan menggunakan 8 ekor sanca batik dewasa yang menderita gangguan pencernaan dengan lesi klinis berupa mouthrot. Sampel ulas kloaka dan mulut serta sampel darah diambil dari semua ular, untuk selanjutnya dilakukan uji mikrobiologis berupa isolasi dan identifikasi bakteri melalui media Brilliant Green Agar (BGA), Mc Conkay Agar (MCA), Triple Sugar Iron (TSI) dan media biakan murni. Isolat murni yang didapatkan adalah *Salmonella spp.* dan *E. coli* dan selanjutnya dilakukan uji sensitivitas bakteri terhadap flumequin dan enrofloksasin serta penentuan Minimum Inhibitory Concentration (MIC) untuk enrofloksasin. Hasilnya adalah kedua antibiotika efektif terhadap *Salmonella* dan intermediet terhadap *E. coli*. Nilai MIC enrofloksasin terhadap *Salmonella* adalah 2,5 µg/ml.

Kata kunci: fluoroquinolon, bakteri, reptil, sensitivitas

ABSTRACT

The research of effectiveness of fluoroquinolones antibiotics (flumequine and enrofloxacin) to salmonella and *E. coli* isolates from gastrointestinal tracts of sanca batik (*Python reticulatus*) had deduced to find their efficacy on reptile therapy management. The study used 8 adult snakes which had diagnosed suffered from gastrointestinal disorder with spesific clinically sign of mouthrot. Mouth and cloaca swabs and blood samples obtained from each snake for microbiology isolation and identification using Brilliant Green Agar (BGA), Mc Conkay Agar (MCA), Triple Sugar Iron (TSI) and pure culture media. The pure culture isolates were identified as *Salmonella spp.* and *E. coli* and tested for their sensitivities toward flumequine and enrofloxacin followed by the enrofloxacin Minimum Inhibitory Concentration (MIC) test for *Salmonella*. The results of sensitivity test were effective for both antibiotics toward *Salmonella* and intermediet for *E. coli*. The MIC value of enrofloxacin for *Salmonella* was 2,5 µg/ml.

Key words: fluoroquinolones, bacteria, reptile, sensitivities

PENDAHULUAN

Reptil merupakan kelas dengan susunan anatomi dan fisiologi yang berbeda dengan mamalia sehingga diperlukan manajemen terapi yang berbeda. Beberapa pertimbangan selain anatomis fisiologis dalam terapi adalah suhu tubuh eksoterm,

habitat yang spesifik serta Preferred Body Temperature (PBT) dimana hewan mampu merespon agen infeksi dengan kondisi imun yang optimum (Mader, 2008). Beberapa bakteri yang sering diisolasi dari reptil diantaranya *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas hydrophyla*, *Providentia rettgeri*, *Morganella morganii*, *Salmonella arizonae* dan *Klebsiella oxyto-*

ca. Bakteri-bakteri ini bisa menjadi invasif karena infeksi primer oleh penyakit virus (Jacobson & Gaskin, 1992). *Salmonella* sering ditemukan pada reptil baik pada hewan sehat atau sakit, baik dalam keadaan liar maupun penangkaran (Schumacher, 2006). Identifikasi dan karakterisasi bakteri *Salmonella* sangat penting dilakukan sebagai dasar terapi. Selama ini belum pernah dilaporkan strain *Salmonella* pada ular sanca bahkan di kelas reptilia pengobatan terhadap infeksi bakteri ini masih dipertanyakan (Mader, 2008). *Salmonella spp.* sering ditemukan pada saluran pencernaan dan sering mengakibatkan infeksi yang cukup parah disertai inflamasi dan diare. Pada reptil gangguan pencernaan karena infeksi bakteri sangat sering terjadi dan merupakan penyebab penyakit yang utama pada kelas ini. Bakteri tersebut antara lain *Pseudomonas*, *Mycoplasma*, *Clostridium*, *Klebsiella*, dan beberapa gram negatif lain yang diketahui bersifat patogen. *Pseudomonas* bersifat *immunocompromised* dan beberapa strain *Staphylococcus* dan *Streptococcus* diketahui bersifat non patogen pada reptil (Klingenberg, 1996). Menurut Battistuzzi (2004) generasi *E. coli* dan *Salmonella* telah diketahui menyerang berbagai macam spesies selama jutaan tahun, dimulai dari mamalia diikuti burung dan reptil.

Golongan fluoroquinolon (terutama enrofloksasin) sering diberikan pada reptil untuk pengobatan berbagai penyakit bakterial. Enrofloksasin merupakan antibiotika sintesis golongan fluoroquinolon yang sering diberikan pada reptil. Antibiotika ini sebenarnya sudah jarang digunakan pada mamalia karena beberapa alasan, salah satunya adalah masalah resistensi bakteri yang tinggi (Cornejo et al., 2012). Flumequin pemakaiannya terbatas pada infeksi saluran kemih dan ginjal pada manusia. Absorpsi obat ini terbatas dan hanya sedikit ditemukan berada dalam darah. Pada hewan, obat ini digunakan untuk mengobati infeksi saluran intestinal atau enteritis pada babi, sapi, ayam dan ikan (Anonim, 2010). Flumequin belum pernah diberikan pada reptil. Sebagai generasi pertama dari golongan fluoroquinolon, antibiotika ini sebenarnya sudah jarang digunakan pada mamalia juga karena masalah resistensi bakteri yang tinggi. Menurut Karbwynik et al. (2005), flumequin beresiko menimbulkan residu pada beberapa produk hewan.

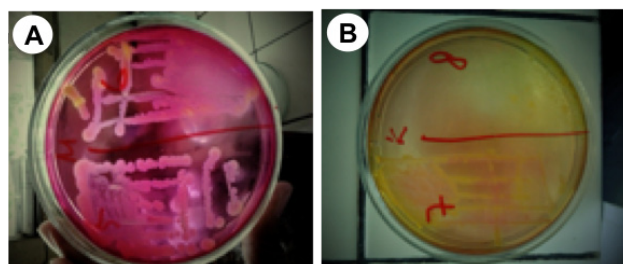
Uji sensitivitas ular sanca batik terhadap kedua antibiotika ini perlu dilakukan untuk mengetahui efektivitas obat dalam terapi pada reptil.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan terhadap 8 ekor ular sanca batik dewasa berat berkisar 4-10 kg. Semua hewan telah diperiksa dan didiagnosa menderita gangguan pencernaan dengan gejala klinis adanya lesi dan peradangan pada mulut (*mouthrot*) dengan berbagai tingkat (Gambar 1). Pada semua hewan dilakukan pengambilan sampel ulas mulut dan kloaka menggunakan *transport swabs* steril (Oxoid, Amies, Copan Italia), dan sampel darah sebanyak 1 ml menggunakan *disposable syringe* 3 ml secara intrakardial dan ditampung dalam tabung berheparin. Semua sampel ulas dan darah ditanam berturut turut dalam media *Brilliant Green Agar* (BGA), *Mc Conkey Agar* (MCA), *Triple Sugar Iron* (TSI), dan dibiakkan dalam agar miring untuk mendapatkan isolat murni. Inkubasi dalam media BGA dan MCA dilakukan pada suhu 35°C selama 24 jam sedangkan dalam media TCA dan agar miring pada suhu 37°C selama 24 jam. Penanaman sampel menggunakan *T-method* dengan produk dan prosedur sesuai manual Oxoid 2011, Inggris. Setelah itu semua koloni dari plat agar dan agar miring diidentifikasi. Selanjutnya isolat bakteri murni ditanam pada plat agar dan dilakukan uji sensitivitas menggunakan disk antibiotik golongan fluoroquinolon. *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) enrofloksasin untuk *Salmonella* ditetapkan dengan melakukan serangkaian pengenceran antibiotik (2,5, 5, 10, 15 µg/ml) pada kaldu *Brain Heart Infusion* (BHI) dengan konsentrasi bakteri 1 juta/ml.

HASIL

Hasil penanaman sampel pada media BGA didapatkan koloni berwarna merah muda (*Salmonella spp.*) dan kuning kecoklatan (*E. coli*) (Gambar 1). Semua sampel darah yang ditanam pada media tidak menunjukkan pertumbuhan.



Gambar 1 Pertumbuhan koloni pada media MCA, 3 dan 6 berwarna merah (*E. coli*), 5 dan 10 transparan (*Salmonella spp.*)



Gambar 2 Pertumbuhan koloni pada media MCA, 3 dan 6 berwarna merah (*E. coli*), 5 dan 10 transparan (*Salmonella* spp.)

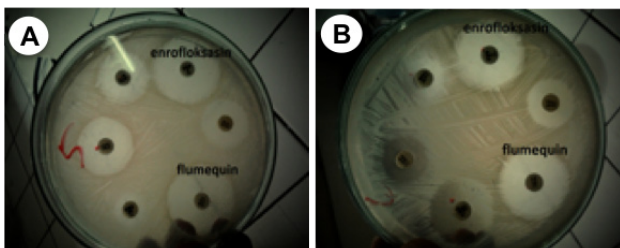
Pertumbuhan pada agar Mc Conkey menunjukkan koloni berwarna merah dan transparan, merupakan ciri *Salmonella* spp. dan *E. coli* (Gambar 2).

Hasil isolasi dan identifikasi bakteri telah ditetapkan dengan tumbuhnya *E. coli* dan *Salmonella* spp. pada media TSI dan telah diketahui beberapa sifat kimianya (Gambar 3).

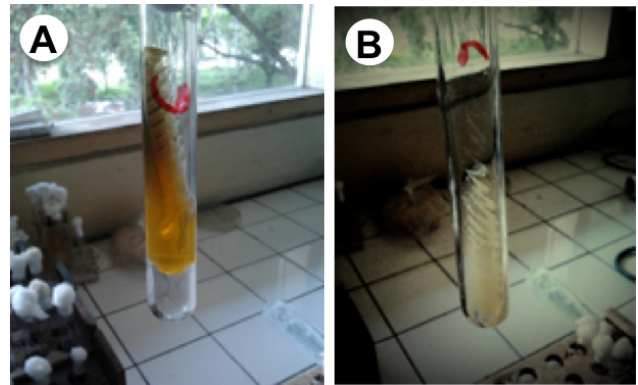
Hasil uji efektivitas golongan fluoroquinolon (flumequin, enrofloksasin) dan beberapa antibiotika lainnya (golongan aminoglikosida dan tetrasiklin) didapatkan hasil berupa zona hambatan (Gambar 4). Diameter zona hambatan untuk flumequin adalah 25,84 mm (*Salmonella* spp.) dan 22,24 mm (*E. coli*), sedangkan enrofloksasin 26,22 (*Salmonella* spp.) dan 21,49 (*E. coli*).

Pengujian MIC untuk enrofloksasin menunjukkan pada konsentrasi 2,5 µg/ml bakteri terhambat pertumbuhannya, ditunjukkan dengan media BHI yang jernih. Tabel 1 menunjukkan hasil uji MIC pada berbagai konsentrasi enrofloksasin pada kaldu BHI yang mengandung bakteri *Salmonella* isolat sanca batik sebesar 1 juta bakteri/ml.

Tabel 1 Hasil Pengujian MIC Enrofloksasin terhadap *Salmonella* spp.



Gambar 4 Hasil uji efektivitas enrofloksasin dan flumequin terhadap (A) *Salmonella* spp. dan (B) *E. coli* dibandingkan dengan antibiotika golongan lain



Gambar 3 (A) Pertumbuhan koloni *Salmonella* pada media TSI (A), warna merah (miring) dan kuning (dasar), terbentuk H₂S. (B) Pertumbuhan koloni (keruh) pada agar miring.

Konsentrasi Enrofloksasin (µg/ml)	Pengamatan setelah inkubasi 24 jam
15	Keruh
10	Keruh
5	Keruh
2,5	Jernih

PEMBAHASAN

Uji sensitivitas *Salmonella* yang diisolasi dari saluran pencernaan ular sanca batik terhadap flumequin dan enrofloksasin menunjukkan hasil sensitif (diameter zona hambatan lebih dari 25 dan 22 mm). Terhadap *E. coli*, kedua antibiotik menunjukkan nilai intermediet (zona hambatan kurang dari 25 dan 22 namun lebih dari 21 dan 17 mm) (Soussy *et al.*, 2000).

Menurut Karbwynik (2005), flumequin mulai jarang digunakan untuk terapi pada mamalia dikarenakan memiliki resiko residual yang tinggi. Namun pada reptil khususnya ular, pertimbangan residu dapat diabaikan, sehingga dapat digunakan untuk mengatasi infeksi bakterial pada saluran pencernaan. Carnejo *et al.* (2012) menyatakan bahwa golongan fluoroquinolon juga memiliki masalah resistensi yang tinggi pada mamalia. Masalah residu atau resistensi merupakan hambatan yang sering ditemui pada hewan-hewan mamalia dan produksi. Penelitian Dario *et al.* (2004) menunjukkan bahwa baik enrofloksasin maupun flumequin memiliki waktu penghabisan obat (*depletion time*) dari jaringan ikan yang cukup lama. Selain masalah residu, resistensi juga sering terjadi pada obat-obat yang

sering digunakan namun tidak mematuhi aturan pakai yang benar.

Infeksi *Salmonella* sering terjadi pada reptil dan gejala yang terjadi sering tidak teramati. *Salmonella* dapat bertahan lama di lingkungan yang basah dan hangat, dan dapat diisolasi dari permukaan tanah terkontaminasi feses reptil dalam waktu yang cukup lama. Infeksi bakteri ini telah terjadi pada kura-kura, penyu, ular dan kadal (termasuk iguana dan bunglon) (Anonim, 2005). Menurut Jong et al. (2005), sebagian besar reptil merupakan *carrier* dengan kisaran 36-90%, serta beberapa serovar sering ditemukan pada satu individu. Lesi yang diakibatkan *Salmonellosis* umumnya enteritis pada usus bagian belakang dan usus besar. Pada kasus akut seringkali ditemukan enteritis berdarah dan erosi pada sebagian besar lumen usus (Ebani et al., 2005). Pada penelitian ini, *mouthrot* merupakan indikasi adanya infeksi saluran pencernaan, dan di daerah Yogyakarta dan Jawa Tengah para praktisi veteriner mengasumsikan penyebabnya adalah bakteri sehingga diobati dengan antimikrobia. Hingga saat ini belum ada catatan mengenai agen antimikrobia yang diberikan, bakteri penyebab ataupun riwayat pengobatan yang dilakukan. Kejadian resistensi antibiotika terhadap *Salmonella* yang tinggi juga dibuktikan oleh penelitian Seepersadsingh & Adesiyun (2003) yang menyebutkan bahwa pada semua tipe hewan liar dan kesayangan beberapa antibiotik (streptomisin dan cephalothin) memiliki tingkat resistensi 50-100% terhadap bakteri ini.

Sensitivitas isolat *Salmonella* terhadap flumequin dan enrofloksasin pada penelitian ini cukup tinggi. Kenyataan ini menarik karena beberapa artikel menyatakan tingginya resistensi *Salmonella* terhadap antibiotik golongan quinolon. Beatriz et al. (2010) meneliti efektivitas *nalidixid acid* dan siprofloksasin pada isolat *Salmonella* dan *E. coli* bahan pangan asal hewan, pakan hewan, manusia, hewan (termasuk isolat dari reptil) dan mendapatkan gen resisten pada plasmid (PMQR, *plasmid-mediated quinolon resistance*) pada sebagian besar sampel. Chun et al. (2010) melaporkan kejadian resistensi antimikrobia pada isolat *Salmonella* dari reptil kesayangan (kura-kura, ular dan kadal), yaitu sebanyak 61,1% isolat telah resisten terhadap cephalotin (generasi pertama sefalosporin).

Nilai MIC enrofloksasin untuk *Salmonella* in vitro adalah 2,5 µg/ml, namun hasil ini belum cukup memberikan nilai terapeutik tanpa data farmakokinetik obat. Martelli et al. (2009) meneliti farmakokinetik enrofloksasin pada buaya (*Crocodylus porosus*) serta menetapkan nilai parameter farmakokinetik/farmakodinamik (*Area Under Curve/MIC*) > 125 dengan

nilai MIC adalah $\leq 0,5$ µg/ml. Perlu penelitian farmakokinetik enrofloksasin pada ular untuk mengetahui nilai terapeutik melalui parameter farmakokinetik/farmakodinamik (PK/PD) terhadap *Salmonella* ataupun bakteri jenis lain.

Prevalensi *E. coli* pada mamalia lebih tinggi dibandingkan dengan burung atau reptil. Penelitian Gopee et al. (2000) pada mamalia, burung dan reptil menunjukkan *E. coli* diisolasi sebanyak 87,2% dari omnivora, 70,0% herbivora dan 57,3% karnivora. Semua isolat *E. coli* tersebut diuji sensitivitasnya terhadap 8 jenis antibiotik dan hasilnya 99,6% resisten. Prevalensi *E. coli* pada kehidupan liar di alam (termasuk pada reptil) sangat menarik untuk terus dipelajari karena adanya beberapa perbedaan kejadian yang mencolok. Adesiyun (1999) menyatakan bahwa tidak ditemukan strain *E. coli* patogen (memproduksi hemolisin dan pertumbuhan koloni mukoid) pada 293 burung liar dan 373 hewan di kebun binatang di kepulauan Trinidad dan Tabago. Beberapa strain *E. coli* pada manusia diyakini resisten terhadap antibiotika-antibiotika terbaru serta memiliki virulensi baru yang dapat menyebabkan infeksi pada ginjal, merusak sel darah merah dan syaraf pusat dan dapat berakibat fatal (Jha, 2011). Sifat intermediet flumequin dan enrofloksasin terhadap isolat *E. coli* pada penelitian ini cukup penting untuk ditindaklanjuti dengan uji sensitivitas terhadap jenis antimikrobia yang lain serta penelitian terhadap strain *E. coli*.

Berdasarkan hasil dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa golongan fluoroquinolon (flumequin dan enrofloksasin) memiliki sensitivitas yang tinggi terhadap isolat *Salmonella spp.* dan intermediet terhadap *E. coli* dari ular sanca batik (*Python reticulatus*). Nilai MIC enrofloksasin untuk *Salmonella* adalah 2,5 µg/ml. Hasil penelitian ini perlu ditindaklanjuti dengan uji sensitivitas terhadap antimikrobia lain serta studi lanjut tentang serovar dan strain *Salmonella* atau *E. coli*. Tingginya minat masyarakat pada reptil kesayangan perlu dilengkapi dengan *client education* tentang pentingnya kesehatan hewan dan pengaruhnya sebagai reservoir agen penyakit yang dapat berakibat buruk pada kesehatan manusia.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi yang telah mendanai penelitian ini melalui Penelitian Unggulan Multidisiplin Universitas Gadjah Mada tahun 2012.

“Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan dengan pihak-pihak yang terkait dalam penelitian ini”.

DAFTAR PUSTAKA

- Adesiyun AA. 1999. Absence of *Escherichia coli* O157 in a survey of wildlife from Trinidad and Tobago. *Journal of Wildlife Disease* 35(1): 115-120.
- Anonim. 2005. Association of Reptile and Amphibian Veterinarians (ARAV). Client education handout. *Salmonella* bacteria and reptiles. http://www.arav.org/salmonella_owner.htm. download; Nov 6th 2012.
- Anonim. 2010. Quinolone and fluoroquinolones. *Pharmacorama*. Retrieved 2010-04-04.
- Battistuzzi F U, Feijao A, Hedges SB. 2004. A genomic timescale of prokaryote evolution; insights into the origin of methanogenesis, phototrophy and the colonization of land. *BMC Evolutionary Biology* 4: 44.
- Beatriz G, Reiner H, Katharina T, Janine B, Slike J. 2010. Plasmid-mediated quinolone resistance determinants in *Salmonella* spp. Isolates from reptiles in Germany. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 65(9): 2043-2045.
- Chun YC, Wan CC, Shih CC, Yen HL, Kwong CT, Chien SC, Yuan MH, Chao CC. 2010. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 22(1): 49-50.
- Cornejo J, Lapierre L, Iraguen D, Cornejo S, Casus G, Richter P, San Martin B. 2012. Study of Enrofloxacin and Flumequin residues depletion in eggs of laying hen after oral administration. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutic* 35: 67-72
- Dario L, Laura F, Emilio G, Elizabetta P, Luigi M, Anna Z, Ettore C. 2004. Long depletion time of Enrofloxacin in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 48(10): 3912-3917.
- Ebani VV, Cerri D, Fratini F, Meille N, Valentini P, Andreani E. 2005. *Salmonella* sp. enteritica isolates from faeces of domestic reptiles and a study of their antimicrobial in vitro sensitivity. *Research in Veterinary Science* 78(2): 117-121.
- Goopee NV, Adesiyun AA, Caesar K. 2000. A longitudinal study of *Escherichia coli* strains isolated from captive mammals, birds, and reptile in Trinidad. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 31(3): 353-360.
- Jacobson ER, Gaskin JM. 1992. Paramixovirus infection of viperid snakes. In *Biology of Pit Vipers*. Selva. Tyler. Texas. 415-419.
- Jha A. 2011. E coli strain previously use and resistant to antibiotic. An article. *Guardian* June 21th 2011.
- Jong B, Andersson Y, Ekdahl K. 2005. Effect of regulation and education on reptile-associated salmonellosis. *Emerging Infectious Diseases Journal* 11(3): 398-403
- Karbiwnyk CM, Hibbard L, Lee RH. 2005. Confirmation of Oxolinic Acid and Flumequine residue in Shrimp by Liquid Chromatography with Tandem mass Spectrometry Detection. *FDA Science*.
- Klingenberg RJ. 1996. *Therapeutics: in Reptile Medicine and Surgery*. Ed. by Mader, DR. WB Saunders Co. New York. p299-300.
- Mader DR. 2008. Antibiotic therapy in reptile. In *CVC proceeding*. p20-23.
- Martelli P, Olimpia RL, Karthiyani K, Langelet E, Pedro M, Pietro L, Crescenzo G. 2009. Pharmacokinetic behaviour of enrofloxacin in estuarine crocodile (*Crocodylus porosus*) after single intravenous, intramuscular, and oral dose. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 40(4): 696-704.
- Schumacher J. 2006. Selected infectious disease of wild reptiles and amphibians. *Journal of Exotic Pet Medicine* 15(1): 18-24.
- Seepersadsingh N, Adesiyun AA. 2003. Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* spp. In pet mammals, reptiles, fish aquarium water, and birds in Trinidad. *Journal of Veterinary Medicine Series B-Infectious Diseases and Veterinary Public Health* 50(40): 488-493.
- Soussy CJ, Carret G, Cavallo JD, Chardon H, Chidia C, Choutet P, Couvalin P, Debernat H, Drugeon H, Dubrevil L, Goldstein F, Jarlin V, Leclercg R, Nicolas-Chanoine MH, Philippon A, Quentin C, Rouveix B, Sirot J. 2000. Antibiogram Committee of French Society for Microbiology for oxolinic acid and flumequine. *Pathologie Biologie* 48(90): 832-871.