

UJI SENSITIVITAS ANTI BAKTERI DAN ANTI JAMUR TERHADAP MEGABACTERIUM SECARA *IN VITRO*

Miranti Candrarisna¹⁾, Edi Boedi Santosa²⁾, Sudarmanto Indarjulianto³⁾, Surya Amanu⁴⁾
Laboratorium Farmasi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Wijaya Kusuma Surabaya¹
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta^{2,3,4}

ABSTRAK

Uji sensitivitas terhadap bakteri megabacterium penyebab Megabacteriosis pada burung import dilakukan dengan menggunakan beberapa anti bakteri seperti : Ampisillin, Enrofloksasin, Eritromisin, Klindamisin, Kloramfenikol, Streptomisin, dan Tetrasiklin. Sedangkan anti jamur yang digunakan : Griseofulvin, Ketokonazol dan Nystatin. Penelitian ini bertujuan mengkaji potensi obat anti bakterial dan anti jamur terhadap megabacterium. Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Virologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada. Pengujian sensitivitas beberapa obat anti bakterial dan anti jamur dilakukan dengan menggunakan agar disc diffusion method (metode penghambatan cakram dish pada media Muller Hilton Agar plat) secara in vitro. Pengamatan dilakukan pada suhu 37⁰C selama 24-48 jam dalam suasana anaerob. Hasil pengamatan berupa pembentukan diameter zona hambatan di sekitar kertas cakram. Hasil penelitian yang diperoleh dianalisis secara deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan: megabacterium resistensi terhadap Ampisillin, dan megabacterium sangat sensitif terhadap Griseofulvin, kemudian diikuti Enrofloksasin, Klindamisin, Kloramfenikol, Nystatin, Ketokonazol, Eritromisin, Tetrasiklin dan Streptomisin.

Kata kunci : antibakterial, anti jamur, zona hambatan, megabacterium

PENDAHULUAN

Megabacterium adalah suatu bakteri yang unik, berbentuk batang memanjang menyerupai basillus, berukuran besar, dan bersifat Gram positif. Isolasi terhadap organisme ini sangat sulit dilakukan, sehingga menyulitkan taxonominya. Organisme ini dikategorikan sebagai bakteri selama bertahun-tahun, namun hasil penelitian yang terbaru menunjukkan bahwa organisme ini tergolong jamur, karena memiliki inti sel eukariotik, mengandung komponen selulose dan khitin pada lapisan dinding sel (Latimer *et.al.*, 2002).

Megabacterium merupakan penyebab utama penyakit *Megabacteriosis* pada burung-burung spesies tertentu yaitu : parkit (*Melopsittacus undulatus*), kakatua (*Cacatua sulphurea sulphurea*), kutilang (*Pycnonotus aurigaster*) dan kenari (*Serinus canaria*) (Anderson, 1993). Burung kenari dan parkit asal import adalah jenis burung yang paling rentan terinfeksi megabacterium. Penyakit *Megabacteriosis* dikenal juga dengan sebutan *Going Light Syndrome*. *Megabacteriosis* ini mempunyai mortalitas sedang (35%-40%) tetapi morbiditasnya tinggi (60%-65%). Burung yang terinfeksi *megabacterium* menunjukkan gejala-gejala: kehilangan berat badan yang terus-menerus yang berlangsung berbulan-bulan meskipun burung masih memiliki nafsu makan yang baik, burung tampak lesu dan depresi, dan bulu kusam. Pada burung parkit Australia yang mengalami kasus *Megabacteriosis* yang kronis menunjukkan gejala muntah berlendir campur darah dan feses menunjukkan melena, kemudian menyebabkan kematian tiba-tiba (Hendrikz and Filippich, 1998 ; Latimer *et.al.*, 2002).

Pengobatan penyakit *Megabacteriosis* dengan pemberian obat antibiotika / anti bakterial (golongan Amoxillin) ini tidak efektif karena struktur karakteristik bakteri ini menyerupai jamur/fungi, maka kemungkinan organisme ini dapat dihambat pertumbuhannya dengan obat-obatan anti jamur (Talltree, 2000).

Berdasarkan struktur dan sifat megabacterium tersebut di atas, maka *megabacterium* sangat menarik diuji sensitivitasnya terhadap obat-obatan anti bakterial dari golongan lain dan anti jamur

Tujuan penelitian ini adalah : untuk mengkaji potensi beberapa antibakterial dan anti jamur terhadap pertumbuhan *megabacterium* secara in vitro. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi yang penting dalam melakukan tindakan pengobatan megabacteriosis pada burung-burung import di Indonesia.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan pada bulan Agustus 2004 sampai Oktober 2004 di Laboratorium Mikrobiologi dan Virologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Sampel Megabacterium : sampel berupa feses yang diambil di kloaka burung kenari import yang diduga positif terinfeksi megabacterium. Sampel feses burung kenari import diperoleh dari beberapa pasar burung di kota Yogyakarta. Sebelum digunakan untuk uji sensitivitas obat, *Megabacterium* diisolasikan dan dikultur pada media MRS broth (Difco), *Brain heart infusion broth* (merck), *NBS (Nitrobenzoyl Chloride for Syntesis)* 20% (Oxoid) dan *Saccharosa* 5% (oxoid).

Uji Sensitivitas (Uji Daya Hambat) Anti Bakterial Dan Anti Jamur

Uji sensitivitas (uji daya hambat) anti bakterial dan anti jamur secara in vitro dilakukan dengan *agar disc diffusion method* (metode penghambatan cakram dish pada media agar plat). Sebelum digunakan semua peralatan dicuci dan disterilkan di dalam inkubator. Isolat biakan bakteri megabacterium yang sudah diuji patogenitasnya, dikultur pada media agar plat MHA (Muller Hilton Agar) dan diratakan dengan menggunakan kapas steril. Kertas cakram antibiotik diletakkan di atas plat MHA yang telah ditanami bakteri, kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24-48 jam di dalam suasana anaerob. Setelah diinkubasikan pembentukan diameter zona hambatan diamati dan diukur dengan penggaris, kemudian dapat ditentukan sensitivitasnya menurut standart Avid X (1998) / Unesco Cida (Carter, 1979 ; Jang and Biberstein, 1978).

Obat-obatan antibiotika/ anti bakterial (Enrofloxasin, Klindamisin, Tetrakislin) dan anti jamur (Griseofulvin, Ketokonazol, dan Nystatin) yang tidak terdapat pada cakram dish antibiotik, terlebih dulu dilarutkan dan

disentrifuse, kemudian masing-masing larutan anti bakteri dan anti jamur dimasukkan dengan pipet ke dalam satu lubang sumuran pada plat MHA dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24-48 jam di dalam suasana anaerob. Sebagai kontrol negatif digunakan larutan Phosphat Buffer Saline (PBS). Setiap perlakuan memiliki tiga ulangan. Setelah diinkubasikan selama 24-48 jam, pembentukan diameter zona hambatan diamati dan diukur dengan penggaris, kemudian dapat ditentukan sensitivitasnya. Data hasil pemeriksaan uji sensitivitas yang diperoleh dianalisis secara desriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1. Batasan resistensi, intermediate, dan sensitivitas obat antibiotika / anti bakterial sesuai standart sensitivitas Kirby Bauer / Unesco (Jang and Biberstein, 1979)

Nama obat antibiotik/ Anti bakterial	Resistensi (R)	Intermediate (I)	Sensitive (S)
Ampisillin 10 µg	< 20	21 – 28	> 29
Enrofloxasin 50 µg	< 17	18 – 21	> 22
Eritromisin 15 µg	< 13	14 – 17	> 18
Klindamisin 50 µg	< 9	10 – 14	> 15
Kloramfenikol 30 µg	< 12	13 – 17	> 18
Streptomisin 10 µg	< 11	12 – 14	> 15
Tetrasiklin 50 µg	< 14	15 – 18	> 19

Tabel 2. Hasil uji sensitivitas obat antibiotika / anti bakterial terhadap *Megabacterium*

Nama Antibiotik / Anti bakterial	Zona Bebas Hambatan A (mm)	Zona Bebas Hambatan B (mm)	Zona Bebas Hambatan C (mm)	Rata-Rata Zona Bebas Hambatan (x)
Ampisillin 10 µg	18,1	18,6	18,3	18,2 (R)
Enrofloxasin 50 µg	39,5	36,9	39,5	38,6 (S)
Eritromisin 15 µg	25,5	26,1	25,6	25,7 (S)
Klindamisin 50 µg	36,6	30,3	33,0	33,3 (S)
Kloramfenikol 30 µg	30,4	37,0	30,1	32,4 (S)
Streptomisin 10 µg	15,0	15,3	15,6	15,3 (S)
Tetrasiklin 50 µg	21,0	21,2	21,9	21,3 (S)

Tabel 2. Hasil uji sensitivitas obat jamur terhadap *Megabacterium*

No	Nama obat anti jamur	Zona Bebas Hambatan A (mm)	Zona Bebas Hambatan B (mm)	Zona Bebas Hambatan C (mm)	Rata-Rata Zona Bebas Hambatan (x)
1.	Griseofulvin 50 µg	36,6	39,9	39,6	38,7 (S)
2.	Nystatin 50 µg	30,6	31,1	31,8	31,2 (S)
3.	Ketokonazol 50 µg	25,2	25,5	28,6	26,4 (S)

Hasil uji sensitivitas ampisillin terhadap *Megabacterium* menunjukkan resisten. Ampisillin merupakan antibiotik golongan betalaktam yang memiliki cincin β -laktam. Resistensi disebabkan *Megabacterium* memiliki enzim β -laktamase / enzim penicillinase yang dapat merusak cincin β -laktam yang terdapat di dalam gugus molekul ampisillin (By water, 1991). Resistensi *Megabacterium* kemungkinan juga disebabkan karena didapatkan secara perolehan, yaitu burung yang terinfeksi *Megabacterium* tersebut sebelum dilakukan isolasi bakteri sudah pernah mendapatkan pengobatan dengan ampisillin.

Hasil uji sensitivitas Enrofloxasin terhadap *Megabacterium* menunjukkan sensitive. Enrofloxasin merupakan antibiotik golongan Quinolon yang memiliki kemampuan kerja menghambat enzim DNA girase yang berperan dalam proses pembentukan DNA bakteri sehingga pertumbuhan dan kemampuan hidup sel bakteri *Megabacterium* dapat dihambat (Amabile, 1996).

Hasil uji sensitivitas Klindamisin terhadap *Megabacterium* menunjukkan sensitive. Klindamisin merupakan antibiotik yang berspektrum luas untuk bakteri anaerob dan memiliki mekanisme kerja menghambat sintesis protein bakteri (Rahardja dan Tjay, 1991 ; Setiabudy dkk., 1995). Klindamisin mampu bekerja menghambat sintesis protein bakteri *Megabacterium* yang bersifat anaerob, sehingga mampu menghambat pertumbuhan dan kemampuan hidup sel bakteri *Megabacterium* (Rahardja dan Tjay, 1991 ; Setiabudy dkk., 1995).

Hasil uji sensitivitas Kloramfenikol terhadap *Megabacterium* menunjukkan sensitive. Kloramfenikol merupakan antibiotik yang berspektrum luas memiliki mekanisme kerja menghambat enzim peptidil transferase yang berperan sebagai katalisator untuk

membentuk ikatan-ikatan peptide dalam proses sintesis protein. Jika sintesis protein sel bakteri dihambat, maka akan dapat menyebabkan bakteri tidak berkembang, dan akhirnya mati (Setiabudy dkk., 1995). *Megabacterium* peka/sensitive terhadap Kloramfenikol karena kloramfenikol menghambat enzim peptidil transferase yang berperan sebagai katalisator untuk membentuk ikatan-ikatan peptide dalam proses sintesis protein, sehingga pertumbuhan dan perkembangan sel bakteri dapat dihambat dan akhirnya *Megabacterium* mati

Hasil uji sensitivitas Eritromisin terhadap *megabacterium* menunjukkan sensitive. Eritromisin merupakan antibiotik golongan makrolid yang berspektrum luas untuk bakteri Gram positif dan Gram negative. Eritromisin memiliki mekanisme kerja menghambat sintesis protein bakteri dengan jalan gangguan ikatan ribosom sub unit 50S sel bakteri (Setiabudy dkk., 1995). *Megabacterium* merupakan gram positive yang peka terhadap Eritromisin, maka Eritromisin dapat menghambat sintesis protein bakteri dengan jalan menyebabkan gangguan ikatan ribosom sub unit 50S sel bakteri, sehingga dapat terjadi efek keletihan/kematian pada *Megabacterium*.

Hasil uji sensitivitas Tetrasiklin terhadap *megabacterium* menunjukkan sensitive. Tetrasiklin merupakan antibiotik yang berspektrum luas untuk bakteri aerob dan anaerob serta memiliki mekanisme kerja menghambat sintesis protein bakteri (Setiabudy dkk., 1995). Tetrasiklin mampu bekerja menghambat sintesis protein bakteri *megabacterium* yang bersifat anaerob, sehingga mampu menghambat pertumbuhan dan kemampuan hidup sel bakteri *megabacterium*.

Hasil uji sensitivitas Streptomisin terhadap *megabacterium* menunjukkan sensitive. Streptomisin merupakan antibiotik golongan aminoglikosida untuk membunuh bakteri Gram negative dan memiliki mekanisme kerja menghambat sintesis protein bakteri dengan jalan gangguan ikatan ribosom sub unit 50S sel bakteri (Setiabudy dkk., 1995). *Megabacterium* yang merupakan gram positive tidak terlalu peka terhadap Streptomisin, tetapi dapat menyebabkan gangguan ikatan ribosom sub unit 50S sel bakteri, sehingga dapat terjadi efek keletihan/kematian pada *Megabacterium*.

Hasil uji sensitivitas Griseofulvin terhadap *megabacterium* menunjukkan sensitive. Griseofulvin memiliki mekanisme kerja menghambat proses pembelahan inti sel dalam proses mitosis pada tahap metaphase dan menghambat sintesis asam nukleat yang terdapat pada dinding sel *Megabacterium*, sehingga akhirnya terjadi kematian pada *Megabacterium* (Adam, 1995; Tennat, 2002).

Hasil uji sensitivitas Nystatin terhadap *megabacterium* menunjukkan sensitive. Nystatin merupakan anti jamur yang berspektrum luas dan memiliki mekanisme kerja menghambat ergosterol yang terdapat pada membrane sel, sehingga menyebabkan kebocoran pada membrane sel yang mempengaruhi keseimbangan permeabilitas membrane sel, sehingga dapat mengakibatkan terjadinya kematian sel *Megabacterium* (Adam, 1995; Tennat, 2002).

Hasil uji sensitivitas Ketokonazol terhadap *megabacterium* menunjukkan sensitive. Ketokonazol merupakan anti jamur yang berspektrum luas dan memiliki mekanisme kerja menghambat ergosterol yang terdapat pada membrane sel jamur/fungi dengan jalan menghambat enzim Citokrom P-450, sehingga menyebabkan penurunan permeabilitas membrane sel yang akhirnya mengakibatkan kematian pada sel *Megabacterium* (Adam, 1995; Tennat, 2002).

SIMPULAN

Obat anti bakterial dan anti jamur mempunyai potensi menghambat pertumbuhan bakteri *Megabacterium* secara *in vitro*. *Megabacterium* resisten terhadap Ampisillin, dan mempunyai daya hambat yang paling baik (paling sensitif) dengan Griseofulvin, diikuti Enrofloksasin, Klindamisin, Kloramfenikol, Nystatin, Ketokonazol, Eritromisin, Tetrasiklin dan Streptomisin. Griseofulvin dan Enrofloksasin adalah pilihan obat yang tepat dipergunakan untuk terapi pengobatan kasus *Megabacteriosis* pada burung.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang potensi anti bakterial dan anti jamur secara *in vivo* / pemberian langsung pada burung.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian tesis ini sebagian didanai dan diberikan fasilitas dari Pusat Studi Jerman di Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Dr. Edi Boedi Santosa selaku ketua Pusat Studi Jerman Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

DAFTAR PUSTAKA

- Adam, H.R. 1995. *Veterinary and Pharmacology and Therapeutics*. Edited by H.R. Adam. 7th Edition. Iowa State University Press, Iowa 50014.
- Amabile, C.F. 1996. *Medical Intelligence Unit Antibiotic Resistance From Molecular Basics to Therapeutic Option*. R.G. Landes Company Austin, Texas, U.S.A. Copyright 1996 Springer-Verlag, Heidelberg, Germany.
- Anderson, N.L. 1993. *Candida / Megabacteria Proventiculitits in a Lesser Sulphur-Crested Cockatoo (Cacatua sulphurea)*. Journal of American Avian Veterinarian 1993 : Florida.
- Bywater, R.J. 1991. *The Control of Infectious Disease : Chemotherapy in Veterinary Applied Pharmacology dan Therapeutics*. Edited by G.C. Brader, D.M. Pugh, R.J. Bywater and W.L. Jenkins. 5th Edition. ELBS, Bailliere Tindal, London.
- Carter, G.R. 1979. *Diagnostic Procedure in Veterinary Bacteriology and Micology*. 8th Edition. Charles C. Thomas Publisher, Illionis.
- Hendrikz, J.K. and Philippich, L.J. 1998. *Prevalence of Megabacteria in Budgerigar Colonies*. School Veterinary Science and statistics Office. The University of Queensland. Queensland 4072.
- Jang, S.S. and Biberstein, E.L. 1978. *A Diagnostic Manual of Clinical Bacteriology and Micology*. Unesco/Cida Regional Training Course in Veterinary Diagnostic Microbiology. Paradeniya, 4th-22nd August 1980.
- Latimer, S.K., Wilson, G.H. and Son, T.T. 2002. *Clinical and Pathological Features of Megabacteriosis in Bird*. Departement of Pathology (Latimer). College of Veterinary Madice. The University of Georgia. Athens. GA 30602-7388.
- Levine, M. 1954. *An Introduction to Laboratory Technique In Bacteriology*, Third Edition. Copyright 1954 by The Macmillan Company, Newyork.
- Rahardja, K dan Tjay, T.H. 1991. *Obat-obat Penting Khasiat, Penggunaan dan Efek-efek Sampingnya*. Direktur Jendral Pengawasan Obat dan Makanan Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Edisi kedua. Cetakan keempat. Jakarta.
- Setiabudy, R., Sjamsudin, U., dan Bustami, Z.S. 1995. *Famakologi dan Terapi, Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia Jakarta*, Edisi ketiga. PT Gaya Baru. Jakarta.
- Talltree, C. 2000. *Megabacteria a Review of The Literature*. Journal of Association of Veterinarians-Australia. Email at Talltree@nwnet.net
- Tennant, B. 2002. *BSVA Small Animal Formulary*. 4th Edition. Copyright 2002 BSVA. Published by British Small Veterinary Association Woodrow House, Telford Way, Waterwells Bussiness Park, Quedgeley, Gloucester GL24B.
- Werther, K.S.I., Verona C.E.S., and Barros, L.S.S. 1997. *The Occurence of an Megabacterium-like Organism at Small Bird from the Northeast area of Sao Paulo State brazil, Depto de Patologia Veterinaria / FCAV UNESP Via de Acesso Prof Paulo Donato Castellane s/n 14870-000-Jaboticabal-SP-Brazil*.