

## **Phage Typing dan Uji Sensitivitas terhadap Berbagai Antibiotika dari Isolat *Salmonella enteritidis* Asal Indonesia**

SRI POERNOMO, ADIN PRIADI dan LILY NATALIA

Balai Penelitian Veteriner, PO Box 151, Bogor 16114

(Diterima dewan redaksi 3 Februari 2006)

### **ABSTRAK**

POERNOMO, S., A. PRIADI and L. NATALIA. 2006. *Phage typing* and sensitivity test to antibiotics of *Salmonella enteritidis* isolates from Indonesia. *JITV* 11(2): 157-166.

*Salmonella enteritidis* (SE) is frequently implicated in disease outbreaks such as human food poisoning. Phage typing have been proved to be a valuable and sensitive tool in the control of SE infections. The ability of phage to distinguish varieties among apparently identical serotypes led to the development and acceptance of phage typing as a significant epidemiological procedure. To determine the epidemiological pattern of SE, phage typing of 53 SE isolated from various sources in Indonesia during 1991–1999, has been conducted using 16 typing phages of phage typing scheme of SE obtained from the International Collaborating Center for Enteric Phage typing, Central Public Health Laboratory, Colindale, UK. The lyse blood isosensitest was then used to test the sensitivity of the Salmonella isolates to antibiotics. The phage typing results obtained that of 53 Salmonella isolates there were one *S. infantis*, one *S. berta*, and 46 SE phage type 4, 2 SE phage type 7 (from chicken and water), 1 SE phage type 6 (from chicken) and 2 SE phage type 1 (from chicken). SE phage type 4 isolates comprised of 2 isolates from human, 19 isolates from chicken (young and adult), 17 isolates from day old chicks, 4 isolates from fluff, 2 isolates from chicken meat, 1 isolate from poultry farm water, 1 isolate from dog organ. These findings indicated that contaminated chicken appeared to be the sources of human and dog for SE infection. The results of sensitivity test of the isolates to antibiotics showed that most of the Salmonella isolates from Indonesia were resistant to the antibiotics tested.

**Key Words:** *Salmonella* Enteritidis, Phage typing, Sensitivity test, Indonesia, Chicken

### **ABSTRAK**

POERNOMO, S., A. PRIADI, dan L. NATALIA. 2006. *Phage typing* dan uji sensitivitas terhadap berbagai antibiotika dari isolat *Salmonella enteritidis* asal Indonesia. *JITV* 11(2): 157-166.

*Salmonella enteritidis* (SE) sering menimbulkan kejadian penyakit seperti keracunan makanan. *Phage typing* telah terbukti merupakan cara yang berguna dan sensitif untuk pengendalian infeksi SE. Kemampuan dari *phage* untuk membedakan berbagai serotipe bakteri yang terlihat identik telah menjadikan *phage typing* sebagai metoda epidemiologis yang penting. Untuk menentukan pola epidemiologis dari infeksi SE, telah dilakukan *phage typing* dari 53 isolat SE yang telah diisolasi selama tahun 1991-1999 dari berbagai sumber di Indonesia. *Phage typing* dilakukan dengan menggunakan 16 *phage* dari skema *phage typing* untuk SE yang diperoleh dari *International Collaborating Center for Enteric Phage Typing, Central Public Health Laboratory, Colindale, Inggris*. Selain itu, *lyse blood isosensitest* juga telah digunakan untuk menguji isolat-isolat *Salmonella* terhadap berbagai antibiotika. Hasil pemeriksaan 53 isolat SE menunjukkan adanya 1 isolat *S. infantis*, 1 isolat *S. berta*, dan 46 SE *phage type* 4, 2 SE *phage type* 7 (dari ayam dan air), 1 SE *phage type* 6 (dari ayam) and 2 SE *phage type* 1 (dari ayam). Isolat-isolat SE *phage type* 4 terdiri atas 2 isolat asal manusia, 19 isolat asal ayam muda dan dewasa, 17 isolat dari ayam umur sehari, 4 isolat dari bulu ayam, 2 isolat asal daging ayam, isolat dari air di peternakan ayam, 1 isolat dari organ anjing. Hasil *phage typing* di atas menunjukkan bahwa ayam dan hasil produknya merupakan sumber infeksi SE untuk manusia dan anjing. Hasil dari uji sensitivitas isolat-isolat *Salmonella* asal Indonesia menunjukkan bahwa pada umumnya isolat-isolat tersebut resisten terhadap antibiotik yang diuji.

**Kata Kunci:** *Salmonella enteritidis*, *Phage typing*, Uji sensitivitas, Indonesia, Ayam

### **PENDAHULUAN**

*Salmonella* merupakan salah satu penyebab keracunan makanan pada manusia (GERSHMAN, 1974; KHAKHRIA dan JOHNSON, 1995), dan di Indonesia penyakitnya telah dicurigai menimbulkan masalah bagi kesehatan manusia, terutama dengan bertambahnya konsumsi daging ayam. Sebelum tahun 1991,

*Salmonella enteritidis* (SE) belum ditemukan dan diidentifikasi di Indonesia oleh Balai Penelitian Veteriner, tetapi sejak tahun 1994, kasus SE telah meningkat khususnya pada unggas.

Identifikasi *Salmonella* pada umumnya didasarkan atas deteksi struktur antigeniknya. Metode *serotyping* adalah cara yang sangat baik untuk penyidikan penyakit (ALTWEGG, 1995), tetapi terkadang metode serologis

seperti *serotyping* tidak cukup untuk membuat analisa epidemiologis, terutama jika *serotype* tertentu cukup sering dan umum ditemukan (GERSHMAN, 1974). *Phage typing* adalah suatu metode yang digunakan dengan menggunakan *phage* (virus) tertentu untuk dapat membedakan berbagai galur bakteri penyebab penyakit. Kemampuan dari *phage* untuk membedakan berbagai serotipe bakteri yang terlihat identik telah menjadikan *phage typing* sebagai metoda epidemiologis yang penting (WARD *et al.*, 1987). *Phage typing* merupakan metode pilihan dalam tahun-tahun terakhir ini untuk kemudian dapat dilakukan *subtyping* lanjutan untuk *serotype* yang penting seperti *S. typhi*, *S. typhimurium* dan *S. enteritidis* (ALTWEGG, 1995). Infeksi salmonellosis *non typhoid* pada manusia belum pernah diteliti, sehingga sangat sulit memperoleh data tentang salmonellosis pada manusia selain demam *typhoid*.

Kasus infeksi SE pada unggas khususnya ayam terus meningkat, terutama di negara maju seperti negara Eropa dan Amerika. Pada umumnya, kasus infeksi SE pada manusia di Eropa pada umumnya disebabkan oleh *phage type* (PT) 4 dan di Amerika disebabkan oleh PT 8 dan PT 13a (DESMIDT *et al.*, 1997). Pada negara-negara berkembang galur SE PT 4 dan PT 8, merupakan *phage type* yang paling sering ditemukan (WARD *et al.*, 1987).

Sampai saat ini belum ada informasi mengenai *phage type* SE yang paling sering ditemukan di Indonesia sebagai penyebab infeksi SE pada unggas maupun manusia. Penentuan *phage type* ini penting dilakukan untuk menentukan jenis vaksin yang harus digunakan dalam pengendalian atau pencegahan SE di Indonesia. Dalam tulisan ini dikemukakan hasil penentuan *phage typing* dari isolat-isolat yang telah ditemukan di Indonesia. Karena Balai Penelitian Veteriner belum mempunyai *typing phage* yang diperlukan, maka *phage typing* dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dari Melbourne University dan *Salmonella Reference Center Laboratory of Institute of Medical and Veterinary Science*, Adelaide, Australia.

## MATERI DAN METODE

### Bakteri

Isolasi dan identifikasi *Salmonella* dilakukan mengikuti cara COWAN (1974). Isolasi SE dari *day old chick* (DOC) dan ayam yang sakit biasanya dilakukan dari organ hati, limpa, jantung serta usus dan empedu. *Serotyping* dilakukan mengikuti metode standar (MURRAY, 1984, LE MINOR dan POPOFF, 1988).

Sebanyak 53 isolat SE yang telah berhasil diisolasi selama tahun 1991 sampai 1999, dan terdiri atas 24 isolat asal ayam muda dan dewasa dari Jawa Timur, Jawa Barat dan Sumatera Utara, 18 isolat asal DOC mati dan sehat dari peternakan pembibitan ayam di

Jawa Barat, 2 isolat dari manusia (sampel urine dan feses dari rumah sakit di Jakarta), 4 isolat asal bulu DOC dari peternakan pembibitan ayam di Jakarta, 2 isolat asal daging ayam dari pasar dan tempat pengolahan produk ayam di Jawa Barat, 2 isolat dari air di peternakan ayam di Jawa Barat, 1 isolat dari usus anjing kiriman Dinas Peternakan Sumatera Utara. Sampel atau spesimen ayam yang diperiksa pada umumnya berupa usus ayam.

### Phage typing

*Phage typing* dilakukan menggunakan 16 *typing phage* (WARD *et al.*, 1987). Sementara itu, skema *phage typing* diperoleh dari *Central Public Health Laboratory*, Colindale, United Kingdom.

Isolat kultur yang akan diuji ditumbuhkan selama 24-28 jam untuk kemudian diinokulasikan pada 3 ml *double strength nutrient broth* (DIFCO). Inkubasi dilakukan pada 37°C dengan pengocokan dalam *orbital shaker* pada 125 rpm selama 60-75 menit. Densitas akhir dari kultur kira-kira 10<sup>8</sup> sampai 10<sup>10</sup> sel/ml. Kultur dari *broth* kemudian disebar merata di permukaan lempeng agar *nutrient (double strength nutrient agar)* dan biarkan mengering di meja laboratorium. Kemudian terhadap agar tersebut diinokulasikan *phage* pada *Routine Test Dilution* (RTD)nya. Setelah semua cairan terserap, plat agar diinkubasi semalam pada suhu 35°C untuk kemudian dibaca hasilnya dengan lensa pembesaran 10 kali.

Penentuan RTD untuk *phage typing* dilakukan mengikuti DE SA *et al.* (1980). Kultur *Salmonella* berumur 24 jam yang akan diuji dibuat hingga mengandung 10<sup>9</sup> sel per ml. Suspensi kultur bakteri disebar merata pada permukaan lempeng agar nutrisi. Disiapkan enceran kelipatan 10 dari *filtrate phage* dalam *broth*, dengan menggunakan pipet Pasteur dan mulai dari enceran tertinggi (yang mengandung *phage* dalam jumlah paling kecil), diletakkan satu tetes setiap enceran *phage* pada tempat/posisi tertentu. Untuk setiap enceran *phage* digunakan pipet lain. *Phage* dibiarkan mengering sebelum agar diinkubasi. Hasilnya dibaca setelah 24 jam inkubasi pada suhu 35°C. RTD adalah enceran *phage* tertinggi yang memberikan lisis yang sempurna. Stok *phage* yang digunakan adalah 100 RTD dan disimpan pada suhu 4°C.

Untuk interpretasi hasil pembacaan *phage typing* adalah sebagai berikut:

- ± : ≤ 10 plaques
- + : 10 sampai 30 plaques
- ++ : 30 – 100 plaques
- +++ : >100 plaques

Sebanyak 53 isolat *Salmonella* diperiksa untuk dilakukan *phage typing* di 2 tempat yaitu di *Microbiological Diagnostic Unit of Melbourne University* dan di *Salmonella Reference Center*

Laboratory of the Institute of Medical and Veterinary Science, Adelaide, Australia. Meskipun memakai metoda yang sama, kedua hasil pemeriksaan dibandingkan untuk konfirmasi.

#### Uji sensitivitas (*lyse blood isosensitest*)

Antibiotik dengan konsentrasi yang sudah ditetapkan, dipersiapkan dalam lempeng agar darah (*lyse antibiotic blood agar*). Sebanyak 12 macam antibiotika dengan konsentrasi tertentu yang dipakai dalam pengujian dapat dilihat pada Tabel 2. Siapkan enceran kultur dengan menumbuhkan biakan *Salmonella* selama 24 jam dengan suhu 37°C pada *nutrient agar* miring, pindahkan pada *nutrient broth* dan tumbuhkan sambil dikocok selama 60-75 menit. Teteskan 0,2 sampai 0,3 ml pada 2,5 ml *peptone water*. Teteskan 0,5 ml *broth* pada lubang- lubang yang telah dibuat pada lempeng agar darah yang sudah mengandung antibiotik dengan konsentrasi tertentu. Kemudian dilakukan inkubasi pada suhu 37°C semalam. Hasil dibaca dengan melihat ada atau tidak adanya pertumbuhan bakteri.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Sebanyak 53 kultur bakteri telah diisolasi dari sejumlah sampel dari tahun 1991 sampai 1999 dan diidentifikasi sebagai SE di Balitvet, Indonesia. Isolasi dari berbagai jenis sampel ini menunjukkan bahwa SE merupakan bakteri patogen yang penting. SE pertama kali dapat diisolasi pada tahun 1991 dari ayam pedaging dari peternakan pembibitan di Bogor dengan populasi ayam 9511 ekor. Kematian ayam pada umur 4 hari, 700 ekor (7,36%) dan pada umur 7 hari 1027 ekor (10,80%). Selanjutnya, hasil pemeriksaan di Balitvet terhadap ayam yang sakit menunjukkan dapat diisolasinya SE dari hati, jantung, limpa, kantung udara, eksudat persendian dan usus ayam (POERNOMO *et al.*, 1997). Dalam penelitian ini kemudian isolat SE (a/24/6/94) tersebut diidentifikasi sebagai PT4.

Pada umumnya, spesimen berasal dari ayam sakit yang berumur antara 1-6 minggu dan juga ada 1 spesimen reaktor berumur 41 minggu (A5/98). Sebanyak 17 ekor DOC yang diambil spesimennya berasal dari jenis ayam pedaging, dan 2 ekor dari jenis ayam petelur (TIL/Btn/D dan 531/98), serta dua spesimen asal manusia berupa urine dan feses dari rumah sakit. Hasil pengamatan ini mendukung pernyataan LISTER (1998) yang melaporkan bahwa SE menyebabkan kematian yang tinggi pada ayam pedaging yang berumur kurang dari 1 minggu.

Kontaminasi salmonella dapat terjadi pada penetasan komersial, dan pembibitan. Kontaminasi dapat berasal dari pecahan kulit telur, bulu ayam dan

alas kertas. Seperti umumnya salmonella yang lain, SE dapat ditularkan secara vertikal melalui kulit telur yang terkontaminasi (VAN DE GIESSEN, 1996). Unggas terinfeksi SE merupakan sumber penularan penting bagi kejadian salmonellosis pada manusia, sedangkan air terkontaminasi merupakan sumber penularan bagi infeksi SE pada unggas (POPIEL dan TURNBULL, 1985).

Pada konfirmasi identifikasi bakteri di Australia, dari 53 isolat *Salmonella* yang diperiksa, ternyata 2 isolat merupakan *Salmonella infantis* dan *Salmonella berta*. Hasil pemeriksaan *phage typing* (*International Reference Laboratory for Enteric Phage Typing*) terhadap 51 isolat SE, menunjukkan adanya 46 isolat *phage type* (PT) 4, 2 isolat PT 1, 1 isolat PT 6 dan 2 isolat PT7 (Tabel 1). Nilai *plaque* yang diperoleh dari semua isolat yang diperiksa lebih besar dari 10 *plaques* (jumlah *plaque* yang diperoleh tidak berpengaruh terhadap penentuan *phage type*). Pemeriksaan atau penentuan *phage type* di dua tempat yang berbeda, yaitu di Melbourne University dan di *Salmonella Reference Center Laboratory*, Adelaide, Australia ternyata memberikan hasil yang sama.

Dari jumlah 46 PT 4, terdiri atas 2 isolat asal manusia, 19 isolat asal ayam, 17 isolat asal DOC yang sehat dan telah mati, 2 isolat asal daging ayam dari pasar dan rumah potong ayam, 4 isolat asal bulu DOC (*fluff*) dan 1 isolat asal air dari peternakan ayam dan 1 isolat berasal dari usus anjing. Dalam penelitian ini, SE PT4 dapat dideteksi dari 46 isolat yang diperiksa (90,20%), 2 isolat SE PT1 (3,92%), 1 isolat SE PT6 (1,96%), 2 isolat PT 7 (3,92%). WARD *et al.* (1987), melaporkan hasil penelitiannya di Inggris bahwa dari 16,902 galur SE yang diisolasi dari manusia pada tahun 1981-1986 ditemukan SE PT4 (54,50%), SE PT6 (6,13%), PT1 (2,2%) dan PT7 (0,11%). Gambaran tersebut menunjukkan bahwa pada umumnya di tiap negara atau daerah terdapat dominasi penyebab infeksi SE yang berbeda.

Dengan demikian dari sejumlah isolat SE telah diperoleh antara tahun 1991-1999 dapat dinyatakan bahwa SE PT 4 merupakan bakteri SE yang dominan (90,20%) di Indonesia. SE PT4 juga merupakan bakteri SE yang dominan di Turki: 65% (ANG-KUCUKER *et al.*, 2000), Polandia: 40% (GLOSNIKA *et al.*, 1999), Jerman: 59% (SCHROETER *et al.*, 1994), Inggris: 76% (CDSC, 2001), Prancis: 56% (NYGARD *et al.*, 2004), Belanda: 75% (EUROPEAN COMMISSION, 2001, VAN DUIJKEREN, 2002), Korea: 52,2% (WOO, 2005), sementara PT8 lebih didominasi di Amerika Utara (VAN DE GIESSEN, 1996). SE PT4 jarang dapat diisolasi di Amerika Serikat sebelum tahun 1990. Kasus pertama yang dilaporkan adalah infeksi SE PT4 di suatu flock ayam petelur komersial pada bulan Mei 1994, dan pada tahun-tahun akhir ini, infeksi SE PT4 pada manusia telah meningkat di Amerika Serikat (KINDE *et al.*, 2000).

**Tabel 1.** Hasil phage typing *Salmonella enteritidis*

Kode isolat	Asal sampel	Serotipe	Phage type
50/97	Usus ayam	<i>S. infantis</i>	-
1.2/14/1/1991	Usus ayam	<i>S. berta</i>	-
TSc 7/96	Usus ayam	<i>S. enteritidis</i>	4
12 Bukim/98	Usus ayam	<i>S. enteritidis</i>	4
613/98	DOC	<i>S. enteritidis</i>	4
A/16/4/96 BG2	Usus ayam	<i>S. enteritidis</i>	4
TIL/Btn/D	DOC	<i>S. enteritidis</i>	4
P.30/96	Daging ayam	<i>S. enteritidis</i>	4
A2/96	Usus ayam	<i>S. enteritidis</i>	4
1196/95	DOC	<i>S. enteritidis</i>	4
127/99	Air	<i>S. enteritidis</i>	4
126/99	<i>Fluff</i>	<i>S. enteritidis</i>	4
Ojo.S/96	Usus ayam	<i>S. enteritidis</i>	1
a/24/6/94	Usus ayam	<i>S. enteritidis</i>	4
534/98	Usus anjing	<i>S. enteritidis</i>	4
T3/DAB/98	Usus ayam	<i>S. enteritidis</i>	4
a/8/7/96	Usus ayam	<i>S. enteritidis</i>	1
Karmina/96	Usus ayam	<i>S. enteritidis</i>	4
a/72/12/98	Usus ayam	<i>S. enteritidis</i>	4
a/29/6/98	DOC	<i>S. enteritidis</i>	4
a/6/7/95 (A)	DOC	<i>S. enteritidis</i>	4
611/98	DOC	<i>S. enteritidis</i>	4
KD 1/8/99	DOC	<i>S. enteritidis</i>	4
531/98	DOC	<i>S. enteritidis</i>	4
a/6/7/95 (B)	DOC	<i>S. enteritidis</i>	4
821/94	Usus ayam	<i>S. enteritidis</i>	4
a/16/4/96/BM2	Usus ayam	<i>S. enteritidis</i>	4
14m 10228 A/1994	Usus ayam	<i>S. enteritidis</i>	4
No.31/99	Usus ayam	<i>S. enteritidis</i>	6
870/94	Usus ayam	<i>S. enteritidis</i>	4
AH/1/8/94	Usus ayam	<i>S. enteritidis</i>	4
C 24/98	Usus ayam	<i>S. enteritidis</i>	4
16T.93 A/96	Air	<i>S. enteritidis</i>	7
F.433	Manusia	<i>S. enteritidis</i>	4
F.882	Manusia	<i>S. enteritidis</i>	4
14S.776/94	Usus ayam	<i>S. enteritidis</i>	4
a/1/8/94	Usus ayam	<i>S. enteritidis</i>	4

**Tabel 1.** Hasil *phage typing Salmonella enteritidis* (lanjutan)

Kode isolat	Asal sampel	Serotipe	Phage type
C3/98	<i>Fluff</i>	<i>S. enteritidis</i>	4
FL1718/98	<i>Fluff</i>	<i>S. enteritidis</i>	4
Swab 44/96	Daging ayam	<i>S. enteritidis</i>	4
a/19/12/96	Usus ayam	<i>S. enteritidis</i>	4
KD 34 B/97	DOC	<i>S. enteritidis</i>	4
KD 34 BK/97	DOC	<i>S. enteritidis</i>	4
KD 64 A/97	DOC	<i>S. enteritidis</i>	4
KD 68 I/97	DOC	<i>S. enteritidis</i>	4
KD 38 A/97	DOC	<i>S. enteritidis</i>	4
FLF 2/97	DOC	<i>S. enteritidis</i>	4
MLM/97	DOC	<i>S. enteritidis</i>	7
M III(2)97	Usus ayam	<i>S. enteritidis</i>	4
514/98	<i>Fluff</i>	<i>S. enteritidis</i>	4
86/1999	Usus ayam	<i>S. enteritidis</i>	4
410/98	DOC	<i>S. enteritidis</i>	4
A5/98	Usus ayam	<i>S. enteritidis</i>	4

SE PT 4 sangat patogen untuk ayam pedaging, ayam petelur dan *parent stock* (O'BRIEN, 1988; LISTER, 1988; HOPPER dan MAWER, 1988; NICHOLAS dan CULLEN, 1991). SE PT 4 merupakan bakteri yang induk semang utamanya adalah ayam (BARROW, 1991; O'BRIEN, 1988). Jadi, pada umumnya infeksi SE PT 4 umumnya bersumber dari ayam dan produknya. Ditemukannya SE PT 4 pada anjing kemungkinan karena anjing tersebut tertular karena mengkonsumsi daging atau telur ayam yang terinfeksi. Demikian juga pada umumnya manusia dapat menderita salmonellosis karena mengkonsumsi daging ayam atau telur yang masih mengandung SE (KHAKHRIA dan JOHNSON, 1995). Wabah penyakit pada manusia yang disebabkan SE terjadi karena mengkonsumsi makanan yang mengandung telur setengah matang atau mentah seperti *bavaroise* dan *mayonnaise* dan disimpan dalam suhu tertentu yang memungkinkan adanya pertumbuhan SE (VAN DE GIESSEN, 1996).

SE PT4 sangat virulen untuk ayam pedaging muda (LISTER, 1988; O'BRIEN, 1988). SE PT4 juga telah dapat diisolasi dari organ reproduksi ayam petelur komersial, yang diduga dapat menjadi sumber penularan telur (HOPER dan MAWER, 1988). Di Amerika dan Inggris, telur dengan klasifikasi A (bersih dan utuh) juga telah dibuktikan merupakan sumber utama penularan SE ke pada manusia yang mengkonsumsinya (GAST dan BEARD, 1990). Hasil penelitian tentang pengaruh umur ayam dan waktu

infeksi terhadap transmisi secara vertikal dari *Salmonella enteritidis* PT 4 (BERCHIERI *et al.*, 2001) menunjukkan bahwa jika ayam terinfeksi pada umur 1 minggu, ekskresi *S. enteritidis* dapat terjadi sampai saat ayam dewasa dan menghasilkan telur yang terkontaminasi. *S. enteritidis* dapat ditemukan pada saluran reproduksi dan telur yang dihasilkan.

Menurut BARROW (1991) dan VAN DE GIESSEN (1996), SE PT4 sedikit lebih invasif untuk ayam jika dibandingkan dengan *phage type S. enteritidis* yang lain. BARROW (1991) menemukan bahwa 2 galur SE PT4 dapat menyebabkan tingkat kematian yang lebih tinggi pada anak ayam dibandingkan isolat SE PT6, PT8 dan PT13a. GAST dan BENSON (1995) melaporkan bahwa galur PT4 lebih mampu menginvasi jaringan hati anak ayam dibandingkan isolat SE PT7, PT8 dan PT13a.

Dalam penelitian ini, jumlah isolat SE yang digunakan masih sangat terbatas. *Phage typing* dengan menggunakan isolat SE yang lebih banyak dari berbagai wilayah di Indonesia sangat diperlukan dapat memperoleh gambaran yang lebih jelas tentang situasi penyakit infeksi SE di Indonesia. Hal ini tentunya akan sangat mempengaruhi strategi penanggulangan penyakit tersebut. Hal tersebut cukup penting, karena untuk pencegahan penyakit yang umumnya dilakukan dengan cara vaksinasi, harus menggunakan vaksin yang mengandung *phage type* SE tertentu, sesuai dengan *phage type* SE penyebab penyakit di lapang.

**Tabel 2.** Hasil uji sensitivitas isolat *S. enteritidis* terhadap berbagai antibiotika

Kode isolat	Asal sampel	Serotipe	A 32	S 5	S 25	T 20	C 10	Su 550	TM 50	K 10	NA 50	Sp 50	G 2,5	CP 0.05
50/97	Usus ayam	<i>S. infantis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1.2/14/1/1991	Usus ayam	<i>S. berta</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TSc 7/96	Usus ayam	<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12 Bukim/98	Usus ayam	<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
613/98	DOC	<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A/16/4/96 BG2	Usus ayam	<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TIL/Btn/D	DOC	<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
P.30/96	Daging ayam	<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
a2/96	Usus ayam	<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1196/95	DOC	<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
127/99	Air	<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
126/99	Fluff	<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ojo.S/96	Usus ayam	<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
a/24/6/94	Usus ayam	<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
534/98	Usus anjing	<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T3/DAB/98	Usus ayam	<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
a/8/7/96	Usus ayam	<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Karina/96	Usus ayam	<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
a/72/12/98	Usus ayam	<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
a/29/6/98	DOC	<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
a/6/7/95 (A)	DOC	<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
611/98	DOC	<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KD 1/8/99	DOC	<i>S. enteritidis</i>	-	w	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
531/98	DOC	<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

**Tabel 3.** Hasil uji sensitivitas isolat *S. enteritidis* terhadap berbagai antibiotika

Kode isolat	Asal sampel	Serotipe	A 32	S 5	S 25	T 20	C 10	Su 550	TM 50	K 10	NA 50	Sp 50	G 2,5	CP 0.05
a/6/7/95 (B)	DOC	<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
821/94	Usus ayam	<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
a/16/4/96/BM2	Usus ayam	<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14m10228A/1994	Usus ayam	<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
No.31/99	Usus ayam	<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
870/94	Usus ayam	<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AH/1/8/94	Usus ayam	<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C 24/98	Usus ayam	<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16T.93 A/96	Air	<i>S. enteritidis</i>	+	+	+	+	-	-	w	-	-	+	-	-
F.433	Feses manusia	<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
F.882	Feses manusia	<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14S.776/94	Usus ayam	<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
a/1/8/94	Usus ayam	<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C3/98	<i>Fluff</i>	<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
FL1718/98	<i>Fluff</i>	<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Swab 44/96	Daging ayam	<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
a/19/12/96	Usus ayam	<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KD 34 B/97	DOC	<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KD34BK/97	DOC	<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KD 64 A/97	DOC	<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KD 68 I/97	DOC	<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KD 38 A/97	DOC	<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
FLF 2/97	DOC	<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MLM/97	DOC	<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

**Tabel 3.** Hasil uji sensitivitas isolat *S. enteritidis* terhadap berbagai antibiotika (lanjutan)

Kode isolat	Asal sampel	Serotipe	A 32	S 5	S 25	T 20	C 10	Su 550	TM 50	K 10	NA 50	Sp 50	G 2,5	CP 0.05
M III(2)97	Usus ayam	<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
514/98	<i>Fluff</i>	<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
86/1999	Usus ayam	<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
410/98	DOC	<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A5/98	Usus ayam	<i>S. enteritidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Isolat referens:</b>														
9604240	-	<i>S. heidelberg</i>	+	+	-	+	-	+	+	-	-	+	+	-
B 343069	-	<i>Sh. flexneri</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-
9617327	-	<i>S. hadar</i>	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
E 0001	-	<i>S. typhimurium</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- A 32 : ampicilin 32 µg/ml  
 S 5 : streptomisin 5 µg/ml  
 S 25 : streptomisin 25 µg/ml  
 T 20 : tetrasiklin 20 µg/ml  
 C 10 : klorampenikol 10 µg/ml  
 Su 550 : sulfatiazole 550 µg/ml  
 TM 50 : trimethoprim 50 µg/ml  
 K 10 : kanamisin 10 µg/ml  
 NA 50 : *naladixic acid* 50 µg/ml  
 Sp 50 : spektinomisin 50 µg/ml  
 G 2.5 : gentamisin 2.5 µg/ml  
 CP 0.05 : siprofloksasin 0.05 µg/ml



Hasi uji sensitivitas (*lyse blood isosensitest*) ditunjukkan pada Tabel 2. Hasil uji yang umumnya menunjukkan hasil negatif (tidak sensitif) untuk 12 antibiotika dengan konsentrasi tertentu, kecuali untuk isolat no K 1/8/99 (sampel DOC) dan 16T.93A/96 (sampel air). Untuk salmonella yang diisolasi dari sampel air, masih sensitif terhadap ampisilin, streptomisin, tetrasiklin dan spektinomisin. Sedangkan isolat *Salmonella* sp. lain terutama asal ayam, menunjukkan adanya resistensi terhadap berbagai antibiotika yang diuji. Keadaan ini dimungkinkan karena pemakaian antibiotika yang dilakukan terus menerus pada cara pemeliharaan kesehatan ayam di Indonesia, akan menghasilkan bakteri *Salmonella* yang resisten terhadap antibiotika. Hasil uji ini memberikan gambaran situasi pemakaian antibiotika pada ayam di Indonesia yang demikian banyak digunakan di mana-mana. Untuk itu, perlu diusahakan pengawasan pemakaian antibiotika pada ayam sehingga dapat digunakan dengan benar sehingga tidak mudah menimbulkan resistensi.

### KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini ternyata dari 53 isolat *Salmonella* spp. yang diperoleh dari Indonesia, 2 isolat adalah *S. infantis* dan *S. berta*. Terhadap 51 isolat *S. enteritidis*, telah dilakukan *phage typing* dan telah terdeteksi 46 isolat (90,20%) adalah PT 4, 2 isolat (3,92%) adalah PT 1, 1 isolat (1,96%) adalah PT 6, dan 2 isolat (3,92%) adalah PT 7. Dari hasil pengujian tersebut dapat dinyatakan bahwa *S. enteritidis* PT 4 adalah *phage type* yang dominan sebagai penyebab salmonellosis di Indonesia dan hasil ini dapat digunakan untuk menentukan jenis vaksin yang digunakan dalam pengendalian penyakit yang disebabkan oleh *S. enteritidis* pada ayam. Hasil uji sensitivitas dari 53 isolat *Salmonella* spp. terhadap berbagai antibiotika menunjukkan adanya resistensi dari hampir semua isolat *Salmonella* spp. yang diuji kecuali 2 isolat yaitu isolat no K 1/8/99 (sampel DOC) dan 16T.93A/96 (sampel air). Untuk itu perlu pengawasan penggunaan antibiotika secara benar dalam pemeliharaan unggas guna menghindari mudahnya terjadi resistensi dari bakteri patogen pada ayam.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih terutama ditujukan pada Dr. Diane Lightfoot dari Microbiological Diagnostic Unit (MDU), *Microbiological and Immunology University of Melbourne*, Australia, dan Dr. Dianne Davos dari *Institute of Medical and Veterinary Science*, Adelaide, Australia. Kepada Mrs Mary Valconis dari MDU *Laboratory of Melbourne University* juga kami ucapkan

terima kasih atas segala bantuan teknisnya selama penelitian dilakukan. Kepada *Agriculture Research Management Project (ARMP)* juga diucapkan terima kasih atas bantuan dananya.

### DAFTAR PUSTAKA

- ALTWEGG, M. 1995. Molecular typing of salmonella species: Methods and applications. Second Asia Pacific Symposium on Typhoid Fever and other Salmonellosis in Southeast Asia. *J. Trop. Med. Publ. Health.* 26(suppl 2): 17-24.
- ANG-KUCUKER, M., V. TOLUN, R. HELMUTH, W. RABSCH, O. BUYUKBABA-BORAL, D. TORUMKUNEY-AKBULUT, S. SUSEVER, O. ANG. 2000. Phagetypes, antibiotic susceptibilities and plasmid profiles of *Salmonella typhimurium* and *Salmonella enteritidis* strains isolated in Istanbul, Turkey. *Clin. Microbiol. Infect.* 6: 593-599.
- BARROW, P.A. 1991. Experimental infection of chickens with *Salmonella enteritidis*. *Avian Pathol.* 20: 145-153.
- BERCHIERI, A., P. WIEGLEY, K. PAGE, C.K. MURPHY and P.A. BARROW. 2001. Further studies on vertical transmission and persistence of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis phage type 4 in chickens. *Avian Pathol.* 30: 97-310.
- COWAN, S.T. 1974. Manual for the Identification of Medical Bacteria. 2<sup>nd</sup> Ed. Cambridge University Press. Cambridge, London, New York, New Rochelle Melbourne, Sydney.
- CDC. 2001. Salmonella infections in humans: Monthly totals for 1997 to 2000. *Commun. Dis. Rep. CDR Wkly* (serial online) no. 11.
- DE SA, J.D.H., L.R. WARD and B. ROWE. 1980. A scheme for the phage typing of *Salmonella hadar*. *FEMS Microbiol. Lett.* 9: 175-177
- DESMIDT, M, R. DUCATELLE and F. HAESBROUCK. 1997. Pathogenesis of *Salmonella enteritidis* phage type 4 after experimental infection of young chicken. *Vet. Microbiol.* 56: 99-109.
- GAST, R.K. and C.W. BEARD. 1990. Isolation of *Salmonella enteritidis* from internal organs of experimentally infected hens. *Avian Dis.* 34: 991-993.
- GAST, R.K. and S.T. BENSON. 1995. The comparative virulence for chicks of *Salmonella enteritidis* phage type 4 isolates and isolates of phagetypes commonly found in poultry in the United States. *Avian Dis.* 39: 567-574.
- GERSHMAN, M. 1974. A phage typing system for *Salmonella anatum*. *Avian Dis.* 18: 565-568.
- GLOSNICKA, R. and B. DERA-TOMASZEWSKA. 1999. Comparison of two *Salmonella enteritidis* phage typing schemes. *Eur. J. Epidemiol.* 15: 395-401.
- HOPPER, S.A. and S. MAWER. 1988. *Salmonella enteritidis* in commercial layer flock. *Vet. Rec.* 123: 351.

- KHAKHRIA, R. and W. JOHNSON. 1995. Prevalence of *Salmonella* serotypes and phage types in Canada (1983-1992). Second Asia Pacific Symposium on Typhoid Fever and other Salmonellosis in Southeast Asia. *J. Trop. Med. Publ. Health.* 26(suppl 2): 42-44.
- KINDE, H., H.L. SHIVAPRASAD, B.M. DAFT, D.H. READ and A. ARDANS. 2000. Pathologic and bacteriologi findings in 27 week old commercial laying hens experimentally infected with *Salmonella enteritidis*, phage type 4. *Avian Dis.* 44: 239-248.
- LE MINOR, L. and M.Y. POPOFF 1998. Antigenic Formulas of the *Salmonella* Serovars. 5<sup>th</sup> Revision. WHO Collaborating Center for Reference and Research on *Salmonella*. Institute Pasteur, Paris.
- LISTER, S.A. 1988. *Salmonella enteritidis* infection in broilers and broiler breeders. *Vet. Rec.* 123: 350.
- MURRAY, C. 1984. *Salmonella* Report on Consultancy. Res. Inst. for Anim. Dis. Bogor.
- NICHOLAS, R.A.J. and G.A. CULLEN. 1991. Development and application of an ELISA for detecting antibodies to *Salmonella enteritidis* in chicken flocks. *Vet. Rec.* 128: 74-76.
- NYGARD, K., B. DE JONG, P.J. GUERIN, Y. ANDERSSON, A. OLSSON and J. GIESECKE. 2004. Emergence of new *Salmonella enteritidis* phage types in Europe? Surveillance of infections in returning travellers. *Biomed. Central Med.* 2: 32-40.
- O'BRIEN, J.D.P. 1988. *Salmonella enteritidis* infection in broiler chickens. *Vet. Rec.* p.122: 214.
- POERNOMO, S., I. RUMAWAS dan A. SAROSA. 1997. Infeksi *Salmonella enteritidis* pada anak ayam pedaging dari peternakan pembibit: Suatu laporan kasus. *JITV* 2: 194-197.
- POPIEL, I. and P.C.B. TURNBULL. 1985. Passage of *Salmonella enteritidis* and *Salmonella thompson* through chick ileocecal mucosa. *Infect. Immun.* 47: 786-792.
- SCHROETER, A., L.R. WARD, B. ROWE, D. PROTZ, M. HARTUNG and R. HELMUTH. 1994. *Salmonella enteritidis* phage types in Germany. *Eur J. Epidemiol.* 10: 645-648.
- VAN DE GIESSEN, A. 1996. Epidemiology and control of *Salmonella enteritidis* and *Campylobacter* spp. In poultry flocks. Thesis. Universiteit Utrecht. Utrecht The Netherlands. p. 195.
- VAN DUIJKEREN, E. W.J.B. WANNET, D.J. HOUWERS and W. VAN PELT. 2002. Serotype and phage type distribution of *Salmonella* strains isolated from human, cattle, pigs, and chickens in the Netherlands from 1984 to 2001. *J. Clin. Microbiol.* 40: 3980-3985.
- WARD, L.R., J.D.H. DE SA and B. ROWE. 1987. A phage typing scheme for *Salmonella enteritidis*. *Epid. Infect.* 99: 291-294.
- WOO, Y.K. 2005. Finding the source of Korean *Salmonella enterica* serovar Enteritidis PT4 isolates by pulsed-field gel electrophoresis. *J. Microbiol.* 43: 424-429.