

Prevalensi dan Tingkat Resistansi Silang Golongan Kuinolon pada *Escherichia coli* Asal Usap Kloaka Ayam Layer

Prevalence and Level of Cross Resistance Within Quinolones Group in Escherichia coli From Layer Chicken Cloacal Swab

Nurhidayah*, Maria Fatima Palupi, Noviada Ariyani, Indryana, Anna Miftahul Jannah,
Siti Komariyah, Rosana Anita Sari, Ambarwati, Emi Rusmiati,
Nafisah Idrishanty, Fika Asti Fanani

Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan,
Kementerian Pertanian Republik Indonesia, Bogor, Jawa Barat, Indonesia

*Email: nurdrh@yahoo.com

Naskah diterima: 17 Desember 2023, direvisi: 14 Oktober 2024, disetujui: 24 Oktober 2024

Abstract

Escherichia coli is a commensal bacteria that is used as a resistance monitoring parameter in animals and humans. In addition to commensal strains, there are pathogenic strains of *E. coli* that have the potential to infect animals and humans. *E. coli* has the potential to become increasingly resistant to quinolone antibiotics. However, the level of cross-resistance of quinolone groups in *E. coli* pathogens, particularly in layer chickens, is still not well understood. The aim of this study was to determine the prevalence of *E. coli* resistance to quinolones and the level of cross-resistance within the quinolone group that isolated layer chickens. A total 360 isolates of *E. coli* from cloacal swabs of layer hens from the National Veterinary Drug Assay Laboratory (NVDAL) archives in 2022 were tested for susceptibility to ciprofloxacin, norfloxacin, enrofloxacin, flumequine, and marbofloxacin, as well as for pathogenicity. Sensitivity testing was conducted using the dilution agar method. The prevalence of *E. coli* isolates resistant to ciprofloxacin were 45,00% (CI 95%; CI 39,94% - 50,16%), norfloxacin was 38,33% (CI 95%; CL 33,46% - 43,45%), enrofloxacin was 44,72% (CI 95%; CL 39,67% - 49,89%), flumequine was 42,22% (CI 95%; CL 37,23% - 47,38%), and marbofloxacin was 42,22% (CI 95%; CL 37,23% - 47,38%). A total of 160 (44.44%) were multiresistant *E. coli* isolates. Quinolone cross-resistance was evaluated using kappa statistics based on ciprofloxacin resistance to norfloxacin, enrofloxacin, flumequine, and marbofloxacin. The value (κ) of ciprofloxacin to the other four quinolones was 0.86-0.99, indicating high level of cross-resistance within the quinolone group. cross-resistance The high level of quinolone resistance and cross-resistance indicates a serious threat to the efficacy of quinolone antibiotics

Keywords: cross-resistance; *Escherichia coli*; layer chicken; quinolones

Abstrak

Escherichia coli merupakan bakteri komensal yang digunakan sebagai parameter monitoring resistansi pada hewan maupun manusia. Selain bersifat komensal, terdapat juga *E. coli* patogen yang dapat menginfeksi pada hewan dan manusia. Resistansi *E. coli* terhadap golongan antibiotik kuinolon berpotensi semakin meningkat. Namun demikian, belum banyak diketahui mengenai tingkat resistansi silang golongan kuinolon pada *E. coli* patogen khususnya pada ayam layer. Tujuan studi ini adalah untuk mengetahui prevalensi resistansi *E. coli* pada beberapa jenis kuinolon dan tingkat resistansi silang antar golongan kuinolon dari *E. coli* asal ayam layer. Sebanyak 360 isolat *E. coli* asal usap kloaka ayam layer arsip Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan (BBPMSOH) tahun 2022 dari delapan provinsi diuji kepekaan terhadap siprofloksasin, norfloksasin, enrofloksasin, flumekuina, serta marbofloksasin, dan diuji patogenitasnya. Uji kepekaan dilakukan dengan menggunakan metode dilusi agar. Prevalensi *E. coli* resistan terhadap siprofloksasin adalah 45,00% (CI 95%;

CI 39,94% - 50,16%), norfloksasin 38,33% (CI 95%; CL 33,46% - 43,45%), enrofloksasin 44,72% (CI 95%; CL 39,67% - 49,89%), flumekuin 42,22% (CI 95%; CL 37,23% - 47,38%), dan marbofloksasin 42,22% (CI 95%; CL 37,23% - 47,38%). Sebanyak 160 (44,44%) merupakan isolat *E. coli* multiresistan. Tingkat resistansi silang kuinolon dievaluasi dengan statistik κ berdasarkan resistansi siprofloksasin terhadap norfloksasin, enrofloksasin, flumekuin, dan marbofloksasin. Nilai (κ) resistansi silang siprofloksasin terhadap empat kuinolon yang lain adalah 0,86-0,99. Hal ini menunjukkan tingginya resistansi silang dalam golongan kuinolon. Adanya prevalensi resistansi dan silang kuinolon yang tinggi menunjukkan ancaman yang serius bagi tingkat efikasi antibiotik kuinolon.

Kata kunci: *Escherichia coli*; kuinolon; resistansi silang; ayam petelur

Pendahuluan

Escherichia coli adalah bakteri gram negatif yang umumnya ditemukan sebagai bakteri komensal atau mikroflora normal usus pada hewan dan manusia. Bakteri *E. coli* merupakan bakteri yang sangat penting dalam melakukan monitoring dan surveilans resistensi antibiotik, karena selain sebagai indikator karena merupakan bakteri komensal, selain itu, beberapa strain *E. coli* bersifat patogenik dan zoonotik (WOAH 2023). Bakteri *E. coli* patogen memiliki faktor virulensi yang memungkinkannya kolonisasi atau menempel pada sel inang (fibrial, adhesin fibrial) dan menghasilkan toksin antara lain eksotoksin, hemolisin, dan enterotoksin. Bakteri *E. coli* dapat bertahan dalam waktu lama dalam feses, tanah dan air (Basavaraju *et al.*, 2022). Berdasarkan sifat virulensi dan mekanisme patogenesitasnya pada gastrointestinal strain *E. coli* dibagi menjadi *shiga toxin-producing E. coli*, *enteropathogenic E. coli*, *enterohaemorrhagic E. coli*, *enterotoxigenic E. coli*, *enteroaggregative E. coli*, *enteroinvasive E. coli*, dan *diffusely adherent E. coli* (Faridah *et al.*, 2020). Kasus infeksi saluran urinaria pada manusia sering disebabkan oleh *uropathogenic E. coli* (Makvana *et al.*, 2015). Adapun *meningitis-associated E. coli* adalah penyebab terjadinya infeksi sepsis meningitis (Kaper JB *et al.*, 2004). Serotipe *E. coli* O157:H7 adalah patogen penyakit *food-borne* dan *water-borne* penting penyebab kolitis hemoragik dan sindrom hemolitik-uremik pada manusia dan dapat menyebabkan morbiditas serius dan wabah besar di seluruh dunia (Gambushe SM *et al.*, 2022).

Pada unggas, strain *E. coli* patogen, diklasifikasikan menjadi *diarrheagenic E. coli* (DEC) yang menyebabkan infeksi gastrointestinal dan *extraintestinal pathogenic*

E. coli (ExPEC). Infeksi DEC ditandai dengan adanya lesio enteritis dan diare, sedangkan infeksi ExPEC dapat menyebabkan koliseptikemia dan lesio ekstraintestinal. *Avian pathogenic E. coli* (APEC) termasuk dalam strain ExPEC yang menyebabkan infeksi lokal atau sistemik yang dikenal dengan penyakit *avian colibacillosis* dengan gejala patologis yaitu septikemia, pneumonia, perikarditis, hepatik nekrosis, infeksi *yolk-sac*, omphalitis, selulitis, *airsacculitis*, *osteomyelitis*, serta peritonitis (Akanbi *et al.*, 2022). Infeksi *E. coli* pada ayam layer menimbulkan kerugian berupa angka morbiditas dan mortalitas yang tinggi, penurunan produktivitas, penurunan produksi telur, serta biaya pengobatan (Geetha M *et al.*, 2018).

Dalam penanganan infeksi *E. coli* pada unggas, kuinolon merupakan golongan antibiotik yang banyak digunakan. Kuinolon memiliki aktivitas antimikroba spektrum luas. Zat aktif obat hewan golongan kuinolon yang banyak beredar dan diregistrasikan di Indonesia diantaranya adalah enrofloksasin, siprofloksasin, norfloksasin, flumekuin, dan marbofloksasin (Rosana AS *et al.*, 2022). Flumekuin adalah golongan kuinolon generasi pertama, sedangkan siprofloksasin, enrofloksasin, norfloksasin dan marbofloksasin adalah golongan kuinolon generasi kedua atau fluorokuinolon). Kuinolon generasi pertama merupakan *Veterinary Highly Important Antimicrobials Agents*, sedangkan fluorokuinolon termasuk dalam daftar *Veterinary Critically Important Antimicrobials Agents* dan juga masuk dalam *Highest Priority Critically Important Antimicrobials for Human Medicine* (WHO, 2019; OIE, 2021). Hal ini menunjukkan bahwa ada irisan penggunaan antibiotik yang sama dan sangat penting bagi pengobatan

infeksi bakteri bagi hewan maupun manusia. Enrofloksasin merupakan fluorokuinolon yang hanya digunakan pada hewan, sedangkan siprofloksasin dan norfloksasin merupakan florokuinolon yang banyak digunakan pada hewan dan manusia. Penggunaan flumekuin dan marbofloksasin pada manusia sangat terbatas dan lebih umum digunakan dalam pengobatan infeksi bakteri pada hewan (NLM, 2023).

Penggunaan antimikroba termasuk kuinolon di peternakan semakin meningkat dalam upaya peningkatan intensifikasi hewan produksi dan pemenuhan permintaan protein hewani. Apabila tidak dikendalikan dengan bijak, diperkirakan dari tahun 2010 ke tahun 2030 peningkatan penggunaan antimikroba secara global akan meningkat sebanyak 67% dan 73% diantaranya digunakan pada hewan (Laxminarayan *et al.*, 2013; van Boeckel *et al.*, 2015; van Boeckel *et al.*, 2019). Penggunaan antimikroba yang tidak tepat dapat memicu terjadinya resistensi antimikroba yang mengakibatkan kegagalan proses pengobatan sehingga mengancam kesehatan hewan dan manusia (Mulchandani R *et al.*, 2023). Praktik penggunaan antimikroba yang tidak tepat dan masih ditemukan di peternakan antara lain pemberian antibiotik dengan tujuan pencegahan, penggunaan antibiotik yang belum teregistrasi, tidak sesuai dosis terapi dan waktu henti obat, penggunaan tanpa resep atau pengawasan dokter hewan. Kemudahan perolehan antibiotik melalui pembelian secara daring juga mempersulit pengawasan penggunaan antibiotik (Faridah HD *et al.*, 2020).

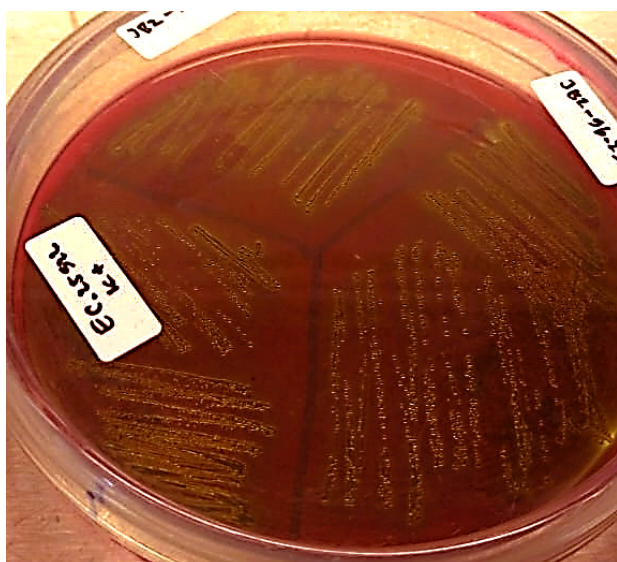
Risiko penggunaan antimikroba yang tidak bijak adalah munculnya resistensi resistensi silang (*cross resistance*). Resistensi silang menyebabkan mikroba yang kurang peka pada satu obat menjadi kurang peka terhadap obat lain dalam kelas/golongan yang sama. Resistensi silang terjadi pada bakteri yang resisten terhadap antibiotik tertentu dan antibiotik lain yang mempunyai struktur hampir sama (Sanders C., 2001). Data resistensi silang khususnya golongan kuinolon pada ternak unggas di Indonesia masih belum terlalu banyak. Beberapa penelitian resistensi pada unggas hanya menggunakan satu antibiotik dalam satu golongan antibiotik saja sebagai perwakilan resistensi golongan

antibiotik tersebut. Sedangkan, data resistensi silang merupakan data yang sangat penting dalam melakukan evaluasi penilaian risiko resistensi suatu antibiotik di hewan produksi (EMA, 2018). Resistensi silang dapat menimbulkan kegagalan suatu pengobatan dari berbagai antibiotik yang berasal dari satu golongan yang sama. Oleh sebab itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui prevalensi resistensi terhadap beberapa kuinolon serta tingkat resistensi silang kuinolon pada *E. coli* pada ayam layer.

Materi dan Metode

Arsip isolat yang digunakan adalah arsip isolat milik Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan (BBPMSOH) tahun 2022. Isolat berasal dari peternakan ayam layer yang berlokasi di provinsi Bali, Sumatera Selatan, Lampung, Kalimantan Barat, Kalimantan Selatan, Nusa Tenggara Barat, Daerah Istimewa Yogyakarta, dan Sulawesi Utara. Unit kecil yang digunakan untuk menghitung jumlah sampel yang diambil adalah flock. Jumlah flock yang diambil dihitung berdasarkan *Regional Antimicrobial Resistance Monitoring and Surveillance Guidelines* (FAO, 2020) dengan rumus $N = [Z^2 \times (P) \times (1-P)]/e^2$. N adalah jumlah sampel, Z adalah tingkat konfidensi 95% (1,96), P adalah nilai dugaan prevalensi resisten, e = nilai presisi (10%). Nilai dugaan prevalensi yang digunakan adalah 50,76% yang merupakan hasil pengkajian resistensi *E. coli* terhadap siprofloksasin pada tahun 2021 (BBPMSOH, 2021). Hasil perhitungan ditambahkan 5% dengan pertimbangan risiko terjadinya kerusakan sampel usap kloaka. Berdasarkan perhitungan tersebut maka jumlah minimal flock yang disampel adalah 101 flock, akan tetapi saat di lapangan didapatkan 120 flock sehingga memenuhi jumlah minimal sampel yang diambil. Tiap flock/kandang diambil lima ekor ayam sehat secara acak dan diambil apus kloaka dengan menggunakan *cotton swab* steril dan dimasukkan dalam satu tabung yang berisi *Phosphate Buffer Saline* steril, lalu disimpan pada suhu 2-8°C untuk segera dilakukan uji isolasi dan identifikasi di Unit Uji Farmasetik dan Premiks – BBPMSOH.

Sebanyak satu *loop* ose dari tiap *pool swab* diinokulasi pada media *Levine's Eosin*



Gambar 1. *E.coli* pada media L-EMBA

Methylene Blue Agar (L-EMBA, Oxoid Ltd-United Kingdom) dan diinkubasi pada suhu 35-37°C selama 18-24 jam. Dari tiap *pool* diambil tiga koloni yang diduga *E. coli* yang ditandai dengan koloni bulat berdiameter 2-3 mm, serta warna metalik kehijauan (Gambar 1). Tiap koloni diinokulasikan kembali pada media L-EMBA untuk memastikan kemurniannya. Selanjutnya dilakukan konfirmasi dengan media *Sulfide Indole Motility* (SIM, Oxoid Ltd-United Kingdom), *Methyl Red-Voges Proskauer* (Oxoid Ltd-United Kingdom), *Simon Citrate* (Oxoid Ltd-United Kingdom) atau dikenal sebagai uji IMVIC. Selain itu juga dilakukan uji pada serta *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA, Oxoid Ltd-United Kingdom). Isolat dinyatakan positif *E. coli* bila hasil uji IMVIC adalah *Indole* positif (terbentuk cincin merah), *Methyl Red* positif (berwarna merah), *Voges Proskauer* negatif (tidak berwarna merah) dan Sitrat negatif (tidak ada perubahan) dan hasil uji TSIA adalah *slant* dan *butt* berwarna kuning (asam) (SNI 2897, 2008). Selama uji isolasi dan identifikasi, digunakan *E. coli* ATCC 25922 (Thermo Scientific™, USA) sebagai kontrol positif. Jumlah isolat yang didapatkan adalah 360 isolat *E. coli*.

Uji sensitivitas *E coli* terhadap antibiotik kuinolon dilakukan pada siprofloksasin, norfloksasin, enrofloksasin, flumekuin, dan marbofloksasin dilakukan dengan menggunakan metode agar dilusi. Isolat ditanam pada media Muller Hinton Agar (MHA, Oxoid Ltd.-United Kingdom) dan diinkubasi pada suhu 35-37°C

selama 16-20 jam. Koloni *E. coli* yang tumbuh kemudian dilarutkan dalam NaCl fisiologis steril (Merck, Jerman) sehingga kekeruhannya setara dengan standar McFarland 0,5 atau $1,5 \times 10^8$ CFU/ml, selanjutnya diencerkan sehingga mendapatkan konsentrasi akhir $1,5 \times 10^7$ CFU/ml. Sebanyak 50 µl larutan isolat tersebut dimasukkan dalam *plate microwell* 96, kemudian diinokulasikan ke media MHA yang telah mengandung satu jenis standar antibiotik dengan menggunakan *multipoint* inokulator dan diinkubasi pada suhu 35-37°C selama 16-20 jam. Standar antibiotik yang digunakan adalah siprofloksasin (Sigma-Aldrich, USA), norfloksasin (Sigma-Aldrich, USA), enrofloksasin (Sigma-Aldrich, USA), flumekuin (Sigma-Aldrich, USA), dan marbofloksasin (Sigma-Aldrich, USA). Isolat dinyatakan resistan apabila memiliki nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) terhadap siprofloksasin ≥ 1 µg/ml, norfloksasin ≥ 16 µg/ml, enrofloksasin ≥ 2 µg/ml, flumekuin ≥ 16 µg/ml, dan marbofloksasin ≥ 4 µg/ml (CLSI 2016, CLSI 2021, Cocha *et al.* 2019). Sebagai kontrol pengujian sensitivitas digunakan *E. coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 (Thermo Scientific™, USA), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (Thermo Scientific™, USA) (CLSI 2021, Cocha *et al.* 2019). Analisis resistansi silang dilakukan dengan melihat keterkaitan resistansi siprofloksasin terhadap norfloksasin, enrofloksasin, flumekuin, serta marbofloksasin dengan menggunakan statistik *kappa* (κ) dengan rumus sebagai berikut:

$$\kappa = \frac{P_o - P_e}{1 - P_e}$$

P_o adalah proporsi kesepakatan yang diamati di antara penilai dan P_e adalah proporsi kesepakatan yang diharapkan mungkin terjadi secara kebetulan (Cohen J., 1960). Interpretasi

Tabel 1. Interpretasi keterkaitan berdasarkan nilai κ

Nilai κ	Interpretasi keterkaitan (<i>agreement</i>)
0,01 – 0,20	Sedikit (<i>slight</i>)
0,21 – 0,40	Cukup (<i>fair</i>)
0,41 – 0,60	Sedang (<i>moderate</i>)
0,61 – 0,80	Tinggi (<i>substansial</i>)
0,81 – 1,00	Nyaris sempurna atau sempurna (<i>almost perfect or perfect</i>)

keterkaitan berdasarkan Cohen's *Kappa* dapat dilihat pada Tabel 1 (Landis J.R. and Koch G.G., 1977; Thrusfield M., 2005).

Hasil dan Pembahasan

Berdasarkan hasil uji kepekaan 360 isolat *E.coli*, didapatkan jumlah isolat yang resisten terhadap terhadap siprofloksasin, norfloksasin, enrofloksasin, flumekuim, dan marbofloksasin berturut-turut adalah 162 (45,00%), 138 (38,33%), 161 (44,72%), 152 (42,22%) dan 149 (41,39%). Data hasil uji sensitivitas tersaji lengkap pada Tabel 2. Pemilihan lima antibiotik golongan kuinolon yang digunakan untuk uji sensitivitas adalah berdasarkan adanya irisan penggunaan golongan kuinolon yang sama pada hewan dan manusia seperti siprofloksasin dan norfloksasin. Selain itu juga berdasarkan jenis golongan kuinolon yang hanya digunakan pada hewan akan tetapi cukup banyak diregistrasikan di Indonesia seperti enrofloksasin, flumekuim, dan marbofloksasin.

Nilai resistansi siprofloksasin pada penelitian ini lebih rendah apabila dibandingkan hasil pengkajian BBPMSOH pada tahun 2021 (Nurhidayah et al., 2022), Palupi et al., (2020^a), Tyaningsih et al. (2021), dan Kurnia et al. (2018). Hasil pengkajian BBPMSOH tahun 2021 menunjukkan tingkat resistansi siprofloksasin pada *E.coli* asal usap kloaka layer adalah 50,76%. Hasil tersebut berasal dari 327 isolat *E.coli* yang diambil dari kloaka ayam layer yang berasal dari provinsi yang berbeda dengan tahun 2022. Adapun penelitian Palupi et al. (2020) menggunakan 159 isolat *E.coli* dari usap kloaka ayam broiler dan didapatkan 59,75% resisten terhadap siprofloksasin. Tyaningsih et al. (2021) menunjukkan sebanyak 67% dari 60

isolat *E.coli* asal apus kloaka ayam broiler yang diambil dari pasar tradisional resisten terhadap siprofloksasin. Hasil penelitian Kurnia et al. (2018) menunjukkan bahwa sebanyak 52% dari 25 isolat *E.coli* yang diambil dari kasus klinis avian kolibasilosis adalah resisten terhadap siprofloksasin. Sedangkan, bila dibandingkan dengan Niasiono et al., (2019), maka tingkat resistansi penelitian ini tidak jauh berbeda. Tingkat resistensi siprofloksasin pada penelitian Nasiono et al. (2019) adalah 45,09%. Penelitian Nasiono et al. (2019) menggunakan 74 isolat *E.coli* yang didapatkan dari sampel *boot swab* peternakan ayam broiler di Kabupaten Subang, Jawa Barat menunjukkan bahwa resistensi *E.coli* terhadap siprofloksasin adalah 45,9% .

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa tingkat resistensi *E.coli* asal ayam layer terhadap norfloksasin adalah 38,33%. Tingkat resistansi ini tidak terlalu berbeda dengan hasil penelitian resistensi *E.coli* terhadap norfloksasin Kurnia et al. (2018) yaitu 36%. Penelitian Kika et al. (2023) menunjukkan bahwa dari total 12 isolat *E.coli* asal layer adalah 33,33% resisten terhadap norfloksasin.

Tingkat resistansi enrofloksasin pada *E.coli* asam layer pada penelitian ini adalah sebesar 44,72%. Tingkat resistansi enrofloksasin ini tidak terlalu berbeda dengan hasil Nasiono et al. (2019) yang menunjukkan resistansi enrofloksasin 40,5%. Hasil penelitian resistensi terhadap enrofloksasin ini lebih tinggi dari penelitian Kurnia et al. (2018) dan lebih rendah dari yang dilakukan Widayati et al. (2018) dan Kika et al. (2023). Hasil penelitian Kurnia et al. (2018) menunjukkan tingkat resistensi *E.coli* terhadap enrofloksasin adalah 36%. Sedangkan Widayati et al. (2018) melakukan uji kepekaan

Tabel 2. Rekapitulasi Hasil Uji Resistansi 360 isolat *Escherichia coli* terhadap lima jenis kuinolon

Interpretasi Hasil uji Sensitivitas	Jumlah Isolat <i>Escherichia coli</i> berdasarkan uji sensitivitas				
	Siprofloksasin	Norfloksasin	Enrofloksasin	Flumekuim	Marbofloksasin
Resistan	162	138	161	152	149
Intermediat	43	4	-	-	-
Sensitif	155	218	199	208	211
Prevalensi resistansi yang tampak	45,00%	38,33%	44,72%	42,22%	41,39%
	(CI 95%; CL 39,94% - 50,16%)	(CI 95%; CL 33,46% - 43,45%)	(CI 95%; CL 39,67% - 49,89%)	(CI 95%; CL 37,23% - 47,38%)	(CI 95%; CL 36,42% - 46,54%)

Keterangan: CL: *Confidance of limit*; CI: *Confidance of Interval*

terhadap 141 isolat *E.coli* dari usap kloaka ayam broiler dan didapatkan 65,9% resistan terhadap enrofloksasin. Adapun hasil penelitian resistansi enrofloksasin pada *E. coli* oleh Kika et al. (2023) adalah 50,85%.

Studi mengenai resistansi terhadap flumekuindan marbofloksasin pada saat ini masih jarang terutama di Indonesia. Pada penelitian ini didapatkan resistansi terhadap flumekuin adalah 42,22% dan terhadap marbofloksasin adalah 41,39%. Hal ini tidak terlalu berbeda dengan Amara et al (1995) dimana hasil penelitiannya menunjukkan bahwa tingkat resistansi terhadap flumekuin adalah 15-40% dari 258 isolat *E.coli* asal ayam broiler di Maroko. Sedangkan, Vanni et al. (2014) melakukan pengujian pada 235 isolat *E.coli* dari ayam dan kalkun sehingga diketahui resistansi terhadap marbofloksasin < 40%.

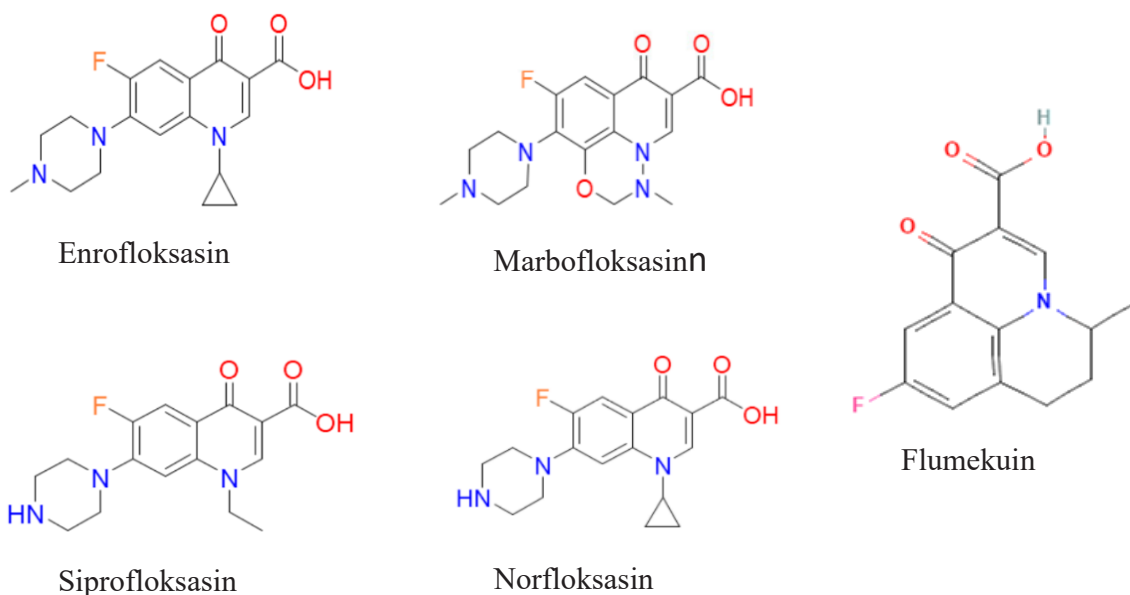
Nilai keterkaitan resistansi siprofloksasin dengan keempat antibiotik kionolon dievaluasi secara statistik dengan nilai Kappa (κ). Berdasarkan nilai κ resistansi antara siprofloksasin dengan kuinolon lainnya adalah 0,86-0,99 dengan interpretasi keterkaitan nyaris sempurna atau sempurna sebagaimana tersaji pada Tabel 3. Hal ini menunjukkan bahwa jika suatu isolat *E. coli* resistan terhadap siprofloksasin maka kemungkinan besar akan resistan terhadap norfloksasin, enrofloksasin, flumekuin, dan marbofloksasin.

Tabel 4. Hasil nilai κ dan interpretasi keterkaitan resistansi siprofloksasin dengan resistansi norfloksasin, enrofloksasin, flumekuin, dan marbofloksasin.

Jenis kuinolon	Nilai κ	Interpretasi keterkaitan (agreement)
Norfloksasin	0,86	Nyaris sempurna atau sempurna
Enrofloksasin	0,99	Nyaris sempurna atau sempurna
Flumekuin	0,94	Nyaris sempurna atau sempurna
Marbofloksasin	0,93	Nyaris sempurna atau sempurna

Resistansi silang terjadi ketika bakteri yang resistan terhadap satu antibiotik juga resistan dengan antibiotik lain dalam satu kelas yang sama dengan mekanisme aksi atau struktur kimia yang serupa. Sebagaimana gambar 3, pada golongan (fluoro)kuinolon terdapat struktur kimia yang sama yaitu ditandai oleh struktur inti bisiklik yaitu cincin inti kuinolon dan gugus fungsional tertentu Cincin inti kuinolon terdiri dari empat cincin karbon dan satu cincin nitrogen. Gugus fungsional yang umumnya terdapat dalam struktur ini adalah asam karboksilat, gugus keton dan fluoro pada posisi tertentu (Bush et al., 2020; NLM, 2023).

Resistansi silang dalam kuinolon terjadi ketika target kerja seluler yang sama telah diubah (Sanders, 2001; Martínez and Baquero, 2002). Siprofloksasin, norfloksasin, enrofloksasin, flumekuin, dan marbofloksasin memiliki target kerja yang sama yaitu berikatan kompleks dengan *deoxyribose nucleic acid* (DNA) *gyrase*



Gambar 3. Struktur Siprofloksasin, norfloksasin, enrofloksasin, flumekuin, dan marbofloksasin

dan topoisomerase IV pada kromosom DNA bakteri sehingga mengganggu proses replikasi, transkripsi dan rekombinasi. Akumulasi kerusakan struktur dan integritas DNA dapat terjadi akibat pemutusan rantai ganda DNA sehingga pembelahan sel terhambat dan dapat terjadi kematian sel. (Spencer dan Panda 2023). Perbedaan kelima antibiotik tersebut terletak pada struktur, afinitasnya terhadap DNA *gyrase* dan topoisomerase IV, serta spektrum aktivitasnya terhadap berbagai jenis bakteri (Pham *et al.*, 2019).

Mekanisme resistensi silang terhadap kuinolon pada bakteri termasuk *E. coli* dapat sangat bervariasi tergantung perubahan genetik spesifik yang terjadi. Namun demikian mekanisme resistensi umum yang dapat mengarah pada reaksi resistensi kuinolon yaitu melalui perubahan target obat, perubahan permeabilitas dinding sel bakteri, over ekspresi dari pompa efluks, dan resistensi kuinolon yang dimediasi oleh plasmid.

Resistensi terhadap kuinolon melalui mekanis perubahan target obat adalah melalui mutasi. Mutasi gen target *quinolone resistance-determining regions* (QRDR) yaitu DNA *gyrase* (*gyrA* dan *gyrB*) dan topoisomerase IV (*parC* dan *parE*) berperan utama dalam resistansi kuinolon pada *E. coli* (Friedman *et al* 2001). Mutasi gen terjadi dengan adanya perubahan urutan nukleotida sehingga menghasilkan perubahan urutan asam amino. Perubahan posisi asam amino 83 dan 87 pada *gyrA* memacu hilangnya kepekaan kuinolon secara signifikan. Mutasi *gyrB* terjadi pada asam amino ke-426 dan 464 yaitu posisi di mana terjadi interaksi ikatan molekul kuinolon yang berdekatan dengan QRDR *GyrA*. Substitusi asam amino *gyrA* terjadi pada Ser83Leu dan Asp87Asn. Mutasi pada *gyrB* termasuk Ser359Ala+Ser367Thr dan Ser366Pro+Arg478Trp. Mutasi *parC* ditemukan pada Ser80Ile dan Glu84Val. Substitusi asam amino le529Leu, Ser458Ala and Leu416Phe dideteksi pada *parE* (Azargun *et al.*, 2020). Perubahan struktur gen mengurangi afinitas ikatan kuinolon. Mutasi dapat menyebabkan resistensi tidak hanya terhadap kuinolon tertentu tetapi juga terhadap kuinolon lain yang berikatan pada situs target yang sama (Faridah *et al.*, 2022).

Penurunan permeabilitas dinding sel bakteri *E. coli* akibat menurunnya ekspresi porin membran luar (OmpF) berperan dalam terjadinya resistensi kuinolon. Perubahan pada pintu masuk porin membran luar menyebabkan masuknya kuinolon terhambat sehingga konsentrasi seluler tidak memadai (Zhou *et al.*, 2023).

Overekspresi gen yang mengkode pompa efluks menyebabkan resistensi terhadap kuinolon atau antibiotik lain yang merupakan substrat untuk pompa efluks. Famili pompa efluks pada *Enterobacteriaceae* adalah *resistance nodulation division* (RND) yang merupakan faktor paling signifikan terjadinya resistansi multiantimikroba. Salah satu sistem RND pada *Enterobacteriaceae* adalah sistem efluks AcrAB-TolC. Overekspresi *AcrAB-TolC* pada pompa efluks menyebabkan peningkatan ekstrusi kuinolon (Compagne *et al.*, 2023). Sistem efluks lain seperti *AcrEF* dan *EmrAB* dilaporkan juga terlibat dalam ekstrusi senyawa antimikroba sehingga konsentrasinya dalam periplasma berkurang. Beberapa pompa efluks pada membran sitoplasma dapat membuang/mengeluarkan beberapa antibiotik yang strukturnya mirip (Jariremombe 2022).

Resistensi terhadap kuinolon yang dimediasi plasmid atau *plasmid-mediated quinolone resistance* (PMQR) dapat memberikan resistansi silang ke beberapa kuinolon. Secara garis besar PMQR terdiri dari tiga tipe yaitu protein Qnr, aac (6')-Ib-cr, dan pompa efluks multiobat. Potein Qnr yaitu *qnrA*, *qnrB*, *qnrC*, *qnrD* and *qnrS* yang mengkode *pentapeptide repeat proteins* untuk mencegah interkalasi kuinolon dengan DNA *gyrase* dan topoisomerasi IV dan sebagai hasilnya menyebabkan resistansi kuionlon. Adapun aac (6')-Ib-cr mengkode aminoglikosida acetyltransferase untuk memodifikasi kuinolon menjadi inaktif. Sedangkan pompa efluks multiobat terdiri dari OqxAB (famili RND) dan QepA (*major facilitator superfamily* (MFS)). Pompa ini menyebabkan ekstruksi obat dari dalam sel sehingga mengurangi kepekaan terhadap kuinolon dan antimikroba lain (Azargun *et al.*, 2019; Benaicha *et al.*, 2017).

Sejalan dengan perkembangan generasi kuinolon, ternyata tidak semua generasi baru kuinolon menunjukkan resistansi silang yang

berkenaan dengan mutasi. Hal ini disebabkan karena adanya perbedaan pola resistansi antar kuinolon. Misalnya pada *Staphylococcus pneumoniae*, target kerja siprofloksasin adalah topoisomerase IV, sedangkan sparfloksasin pada DNA *gyrase*. Sehingga jika terjadi *single-step* mutasi yang dipicu oleh sparfloksasin pada *gyrA* akan menyebabkan kuman kurang peka terhadap sparfloksasin akan tetapi masih peka terhadap siprofloksasin. Sebaliknya, mutasi terhadap siprofloksasin pada *parC* akan menyebabkan kuman kurang peka terhadap siprofloksasin akan tetapi masih peka terhadap sparfloksasin. Resistansi silang pada generasi kuinolon terkini (seperti gemifloksasin, trovafloksasin, gatifloksasin dan pradofloksasin) lebih lambat karena sisi rantai untuk berikatan dengan DNA *gyrase* atau topoisomerase IV lebih besar (Mercer, 2022; Sanders, 2001).

Peningkatan resistansi silang terhadap kuinolon dalam jangka panjang dapat mengurangi efektivitas keseluruhan kelompok antibiotik kuinolon. Resistansi silang mengurangi opsi pengobatan yang efektif terhadap infeksi bakteri sehingga menyebabkan kesulitan dalam memilih antibiotik yang tepat untuk mengobati infeksi yang disebabkan oleh bakteri tersebut. Risiko ini juga mulai nampak pada penelitian ini dimana terdapat bakteri *E. coli* patogen yang multiresisten terhadap kuinolon. Jika resistansi terus berkembang, maka akan semakin sulit untuk diobati, infeksi menjadi lebih parah dan durasi penyakit menjadi lebih panjang. Kemungkinan lain yang terjadi yaitu infeksi menyebar seara sistemik, risiko komplikasi medis atau bahkan kematian (Périchon B *et al.*, 2019).

Resistansi antimikroba dapat menyebar ke populasi bakteri yang lebih luas dengan mentransfer resistansi ini kepada bakteri lain melalui pertukaran plasmid atau elemen genetik lainnya. Strain *E. coli* yang resisten dapat berpotensi menjadi sumber pembawa gen resisten yang dapat ditransmisikan ke manusia (Aworh *et al.*, 2023). Resistansi antimikroba dapat menyebar sepanjang rantai makanan melalui kontak langsung atau tidak langsung. Kontak langsung terjadi ketika manusia bersentuhan dengan bakteri resisten yang ada pada hewan atau dalam produk biologisnya seperti feses.

Kontak tidak langsung juga dapat menyebabkan infeksi, dan termasuk penanganan dan konsumsi produk makanan yang terkontaminasi, seperti daging dan telur. Selain itu antibiotik aktif (metabolit atau degradasi produk) atau residu antibiotik dapat terakumulasi di tanah, air limbah dan pupuk kandang juga berperan sebagai reservoir resistensi obat antimikroba di lingkungan (Djordjevic, 2013).

Hasil penelitian ini menunjukkan adanya tingkat multi resistensi kuinolon yang cukup tinggi pada *E. coli* asal layer dan ditunjukkan adanya keterkaitan resistansi silang yang sangat tinggi. Oleh sebab itu diperlukan upaya mencegah perkembangan resistansi silang kuinolon melalui kerjasama semua pihak, termasuk profesional kesehatan, peternak, pemerintah atau pengembang kebijakan, dan masyarakat umum. Beberapa tindakan yang dapat dilakukan terutama di peternakan ayam untuk mencegah terjadinya resistensi antimikroba antara lain penggunaan antibiotik yang tepat. Penggunaan antibiotik harus betul-betul mengikuti panduan dosis dan durasi pengobatan, serta indikasi yang direkomendasikan oleh dokter hewan. Perlu juga dipastikan bahwa penggunaan antibiotik kuinolon terbatas pada kasus-kasus yang memang memerlukan pengobatan dengan kelompok antibiotik ini terutama yang masuk dalam *Highest Priority Critically Important Antimicrobials for Human Medicine*. Selanjutnya adalah dengan menerapkan manajemen peternakan yang baik seperti biosekuriti dan vaksinasi. Pentingnya menerapkan praktik sanitasi dan hygiene di semua titik risiko kegiatan peternakan seperti mencuci tangan secara teratur, menjaga kebersihan yang baik pada *food processing* dan *food packing*. Hal yang tidak kalah penting adalah perlunya tindakan kolektif secara global dalam mengendalikan resistensi antibiotik secara global diantaranya melibatkan kebijakan penggunaan antibiotik yang bijaksana, pengawasan penggunaan antibiotik, peningkatan pemantauan resistensi bakteri, dan promosi pengembangan dan penggunaan alternatif antibiotik yang baru (Abreu *et al.*, 2023).

Kesimpulan

Prevalensi resistensi dari *E. coli* asal usap kloka layer tinggi yaitu siprofloksasin 45,00%

(CI 95%; CI 39,94% - 50,16%), norfloksasin 38,33% (CI 95%; CL 33,46% - 43,45%), enrofloksasin 44,72% (CI 95%; CL 39,67% - 49,89%), flumekuini 42,22% (CI 95%; CL 37,23% - 47,38%), dan marbofloksasin 42,22% (CI 95%; CL 37,23% - 47,38%). Sebanyak 160 (44,44%) merupakan isolat *E. coli* multiresistan. Nilai keterkaitan resistansi antar kuinolon dengan menggunakan siprofloksasin terhadap keempat antibiotik kuinolon berdasarkan nilai (κ) adalah 0,86-0,99 dengan interpretasi keterkaitan nyaris sempurna atau sempurna. Hal ini menunjukkan bahwa jika suatu isolat *E. coli* resisten terhadap siprofloksasin maka kemungkinan besar akan resisten terhadap norfloksasin, enrofloksasin, flumekuini, dan marbofloksasin. Oleh sebab itu, diperlukan perhatian dari semua pihak agar tingkat resistansi ini tidak terus meningkat guna menjaga efektivitas golongan kuinolon khususnya fluorokuinolon sebagai antibiotik yang masuk dalam *Veterinary Critically Important Antimicrobials Agents* dan juga masuk dalam *Highest Priority Critically Important Antimicrobials for Human Medicine*.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Kementerian Pertanian dan BBPMSOH yang telah memberikan dukungan pada pengkajian ini. Ucapan terima kasih juga kami ucapkan kepada instansi yang membidangi kesehatan hewan di provinsi Bali, Sumatera Selatan, Lampung, Kalimantan Barat, Kalimantan Selatan, Nusa Tenggara Barat, Daerah Istimewa Yogyakarta, dan Sulawesi Utara serta semua pihak atas bantuan dan kerjasamanya.

Daftar Pustaka

Abreu R., Lemsaddek T.S., Cunha E., Tavares L., and Oliveira M. (2023). Review Antimicrobial Drug Resistance in Poultry Production: Current Status and Innovative Strategies for Bacterial Control. *Microorganisms* (11) : 953.

Akanbi O.B., Olorunshola I.D., Osilojo P., Ademola E., Agada G.O.A., Aiyedun J.O., Odita C.I., and Fadunsin S.D.O (2022). *Escherichia coli* Infections, and Antimicrobial Resistance In Poultry

Flocks, in North Central Nigeria. *MKH*. pp.188-207.

Amara A, Zaini Z, and Bouzoubaa K (1995). Antibioresistance of *Escherichia coli* Strains Isolated in Morocco from Chickens with Colibacillosis. *Veterinary Microbiology*. 43 (4) : 325-330.

Ariyani N, Palupi M.F., Nurhidayah, Indriyana, Nugraha E dan Widyarimbi D. (2022). Deteksi *Escherichia coli* Patogen dari Usap Kloaka Ayam Layer dari Tujuh Provinsi Indonesia dengan Menggunakan Metode Congo Red. *Buletin Pengujian Mutu Obat Hewan* No. 31. Hlm. 12-17.

Aworh M.K., Kwaga J.K.P, Hendriksen R.S., Okolocha E.C., Harrell E., and Thakur S. (2023). Quinolone-resistant *Escherichia coli* at The Interface between Humans, Poultry and Their Shared Environment- a Potential Public Health Risk. *One Health Outlook* 5:2.

Azargun R., Sadeghi V., Leylabadlo H.E., Alizadeh N., Ghotaslou R. (2020). Molecular Mechanisms of Fluoroquinolone Resistance in Enterobacteriaceae Clinical Isolates in Azerbaijan, Iran. *Gen Report* Vol. 21.

Azargun R., Barhaghi M.H.S., Kafil H.S., Oskouee M.H.S., Sadeghi V., Memar M.Y., and Ghotaslou R. (2019). Frequency of DNA Gyrase and Topoisomerase IV Mutations and Plasmid-Mediated Quinolone Resistance Genes among *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* Isolated from Urinary Tract Infections in Azerbaijan, Iran. *Journal of Global Antimicrobial Resistance* 17 : 39-43.

Basavaraju M. and Gunashree B.S. (2022). *Escherichia coli* : An Overview of Main Characteristics. *IntechOpen*.

BBPMSOH (2021). Laporan Pengkajian U it Uji Farmasetik dan Premiks : Pengkajian Mutu dan Evaluasi Risiko Resistansi Pada *Escherichia coli* terhadap Siprofloksasin Berdasarkan Farmasetik/ Farmakodinamik (PK/PD) Pada Ayam Layer. Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan. Bogor

- Benaicha et al., (2017). Prevalence of PMQR genes in *E. coli* and *Klebsiella* spp. Isolated from North-West of Morocco. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 10 : 321-325.
- Bush N.G., Sanros I.D., Abbott L.R. and Maxwell A. (2020). Review Quinolones: Mechanism, Lethality and Their Contributions to Antibiotic Resistance. *Molecules* 25 : 5662.
- [CLSI] Clinical Laboratory Standards Institute. 2016. *M100S: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing 26th Ed.* Clinical and Laboratory Standards Institute. Wayne, USA.
- CLSI. (2021). *M100 : Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing 31th ed.* Clinical and Laboratory Standards Institute. Wayne, USA.
- Cohen, J. (1960). A Coefficient of Agreement for Nominal Scales. *Educational and Psychological Measurement* 20 (1) : 37-46.
- Compagne N., Vieira Da Cruz A., Müller R.T., Hartkoorn R.C., Flipo M., Pos K.M. (2023). Update on the Discovery of Efflux Pump Inhibitors Against Critical Priority Gram-Negative Bacteria. *Antibiotics* 12 : 180.
- Concha C., Miranda C.D., Hurtado L., Romero J. (2019). Characterization of Mechanisms Lowering Susceptibility to Flumequine among Bacteria Isolated from Chilean Salmonid Farms. *Microorganisms* 7 : 698.
- Djordjevic S.P., Stokes H.W., Chowdhury P.R. (2013). Mobile Elements, Zoonotic Pathogens and Commensal Bacteria : Conduits for the Delivery of Resistance Genes into Humans, Production Animals and Soil Microbiota. *Front. Microbiology*. 4 : 86.
- European Medicine Agency (2018). Guideline on the Assessment of the Risk to Public Health from Antimicrobial Resistance due to the Use of an Antimicrobial Veterinary Medical Product in Food Producing Animals (Draft 2). http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Other/2014/07/WC500170253.pdf
- Faridah H.D. et al. (2020). A Reviews of Antimicrobial Resistance (AMR) of *Escherichia coli* on Livestock and Animal Products : Public Health Importance. *Systematic Reviews in Pharmacy* 11 (11) : 1210-1218.
- Friedman S.M., Lu T., Drlica K. (2001). Mutation in the DNA gyrase A Gene of *Escherichia coli* that Expands the Quinolone resistance-determining Region. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 45(8) : 2378-2380.
- Gambushe S.M., Zishiri O.T., Zowalaty M.E. (2022). Review of *Escherichia coli* O157:H7 Prevalence, Pathogenicity, Heavy Metal and Antimicrobial Resistance, African Perspective. *Infection and Drug Resistance* 15 : 4645–4673.
- Geetha M. and Palanivel K.M. (2018). Avian Colibacillosis - A Mini Review. *Int. J. Pure App.Biosci.* 6 (1) : 376-380.
- Jariremombe R.C. (2022). Mechanisms of Antimicrobial Resistance of *E. coli*. *Intechopen*.
- Kaper J.B., Nataro J.P., Mobley H.L.T. (2004). Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology* 2 : 123-140.
- Kika T.S., Boci J., Cocoli S., Puvaca N., Cabeli P., Shosi N. and Camarda A. (2023). Avian Pathogenic *Escherichia coli* Resistance Patterns According to Poultry Species in Albania, a Two Years Study. *Albanian j. agric. sci.* 22 (1) : 1–6.
- Kurnia R.S., Indrawati A., Mayasari N.L.P.I., Priadi A. (2018). Molecular Detection of Genes Encoding Resistance to Tetracycline and Determination of Plasmid-mediated Resistance to Quinolones in Avian Pathogenic *Escherichia coli* in Sukabumi, Indonesia. *Veterinary World*, 11(11) : 1581-1586.
- Landis, J.R., and Koch G.G. (1977). The Measurement of Observer Agreement for Categorical Data. *Biometrics* 33 (1) : 159-174.

- Laxminarayan R., Duse A., Wattal C., Zaidi A.K.M., Wertheim H.F.L., Sumpradit N., Cars O. (2013). Antibiotic resistance – The Need for Global Solutions. *TLancet Infectious Diseases*.13: 1057–1098.
- Mulchandani R., Wang Y., Gilbert M., Van Boeckel T.P. (2023). Global Trends in Antimicrobial Use In Food-Producing Animals : 2020 to 2030. *PLOS Global Public Health* 3 (2) : e0001305.
- Makvana S. and Krilov L.R. (2015). Escherichia coli Infections. *Pediatrics in Review* 36 : 4.
- Mercer MA, 2022. Quinolones, Including Fluoroquinolones, Use in Animals. [Internet] [Diunduh tanggal 04 Oktober 2022]. Terdapat pada <https://www.msddvetmanual.com/veterinary/pharmacology/antibacterial-agents/quinolones,-including-fluoroquinolones,-use-in-animals#v4692614>
- Naisono AB, Altif H, Purnawarman T. 2019. Resistansi Antibiotika terhadap Bakteri Escherichia coli yang Diisolasi dari Peternakan Ayam Pedaging di Kabupaten Subang, Jawa Barat. *Jurnal Veteriner* 20 (2) : 187-195.
- NLM. (2023). PubChem Compound Summary for CID 3374, Flumequine. National Library of Medicine. PubChem. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Flumequine>
- OIE. (2021). OIE List of Antimicrobial Agents of Veterinary Importance. <https://www.woah.org/app/uploads/2021/06/a-oie-list-antimicrobials-june2021>.
- Palupi M.F., Nugraha E., Hayati M., Atikah N. (2020). Evaluasi Nilai Konsentrasi Hambat Minimum Siprofloksasin terhadap Isolat E. coli dari Usap Kloaka Broiler. Prosiding Penyidikan Penyakit Hewan Rapat Teknis dan Pertemuan Ilmiah (Ratekпил) dan Sulveilans Kesehatan Hewan. Hal : 403-412.
- Pham T.D.M., Ziora Z., and Blaskovich M. (2019). Quinolone Antibiotics. *Med. Chem. Commun* 10 (10) : 1719–1739.
- Rosana A.S., Palupi M.F., Ambarwati, Khomariyah S., Rusmiati E., Indrishanty N., Fanani F.A., Ariyani N., Nurhidayah, Indriyana, Jannah A.M. (2022). Pengkajian Mutu Antibiotik Golongan (Fluoro) Kuinolon di Delapan Provinsi Di Indonesia. *Buletin Pengujian Mutu Obat Hewan* No. 31. Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan.
- Sanders C.C. (2001). Mechanisms Responsible for Cross-Resistance and Dichotomous Resistance among The Quinolones. *Clinical Infectious Diseases* 32 (Supplement_1) : S1–S8.
- SNI. (2008). SNI 2897 tentang Metode Pengujian Cemar Mikroba dalam Daging, Telur dan Susu, serta Hasil Olahannya. Badan Standardisasi Nasional. Jakarta.
- Spencer A.C., and Panda S.S. (2023). DNA Gyrase as a Target for Quinolones. *Biomedicine* 11 : 371.
- Thrusfield M. (2005). *Veterinary Epidemiology 3rd ed.* Oxford (ID) : Balckwell Science Ltd. Pp : 327.
- Tyaningsing W.Y., Yurianti A., Rahmahani J., Setiawan B., Harijani N., Budiarto, Effendi M.H., Salamah dan Witaningrum A.M. (2021). Antimicrobial Resistance Profile of Escherichia coli Bacteria Collected from Cloacal Swab of Broiler Chicken at Surabaya Traditional Market, Indonesia. *Poll Res.* 40 (1) : 317-321.
- Van Boeckel T.P., Brower C., Gilbert M., Grenfell B.T., Levin S.A., Robinson T.P., Teillant A., Laxminarayan R. (2015). Global Trends in Antimicrobial Use in Food Animals. *PNAS.* (18): 5649-5654.
- Van Boeckel T.P., Pires J., Silvester R., Zhao C., Song J., Criscuolo N.G., Gilbert M., Bonhoeffer S., Laxminarayan R. (2019). Global Trends in Antimicrobial Resistance in Animals in low- and middle-income Countries. *Science* 365, eaaw1944.
- Vanni M., Meucci V., Tognetti R., Cagnadri P., Monteisissa C., Piccirillo A., Rossi A.M., Di Bello D., Intore L. (2014). Fluoroquinolone Resistance and

- Molecular characterization of gyrA and parC Quinolone Resistance-Determining Regions in *Escherichia coli* Isolated from Poultry. *Poult Sci* 93 (4) : 856-863.
- WHO. (2019). *Critically Important Antimicrobials for Human Medicine*, 6th revision. World Health Organization.
- Widayati T. dan Subekti W. (2018). Resistansi Isolat *Escherichia coli* dari Ayam Broiler terhadap Beberapa Antibiotik. Prosiding Penyidikan Penyakit Hewan Rapat Teknis dan Pertemuan Ilmiah dan Surveillans Kesehatan Hewan.
- Zhou G., Wang Q., Wang Y., Wen X., Peng H., Peng R., Shi Q., Xie X., dan Li L. (2023). Review Outer Membrane Porins Contribute to Antimicrobial Resistance in Gram-Negative Bacteria. *Microorganisms* 11 : 1690.