

Deteksi Gen Penyandi Resistansi Tetracycline dan Plasmid Mediated Quinolones pada Salmonella Ayam di Bandung dan Purwakarta

(DETECTION OF GENES ENCODING RESISTANCE TO TETRACYCLINE AND PLASMID-MEDIATED QUINOLONONES OF SALMONELLA FROM POULTRY OF BANDUNG AND PURWAKARTA ORIGIN)

Leila Nur Aziah¹, Agustin Indrawati¹, I Wayan T Wibawan¹

¹Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor
Jl. Ahathis, Kampus IPB Dramaga, Bogor, Jawa Barat Indonesia Indonesia 16680
Email : azizah09@gmail.com; titin.seta@gmail.com

ABSTRACT

This study aimed to identify genes encoding tetracycline and plasmid-mediated quinolones resistance to *Salmonella spp* from Poultry Farm in Bandung and Purwakarta, West Java. A total of 70 samples were collected from poultry farm In Bandung and Purwakarta, West Java. All isolates were test by selective media (SSA) and confirmation Salmonella with PCR. Thirty three isolate positive from selective media *Salmonella Shigella Agar* (SSA) and 21 isolat was confirmed as *Salmonella spp* by PCR. Twenty one isolate isolated were tested for tetracycline, doxycycline,, nalidixic acid, oxytetracycline, enrofloxacyne using disk diffusion method. TE-resistant were screened for presence of *tet(A)* and *tet(B)* genes by single polymerase chain reaction (PCR). The *qnr(A)*, *qnr(B)* and *qnr(S)* genes were detected by multiplex PCR in quinolone resistant Salmonella isolates. The result of antibiotic sensitivity test showed that resistance to ampicillin (95.2%), tetracycline (100%), oxytetracycline (95.2%), nalidixic acid (90.4%), eritromisin (85.7%), enrofloxacin (76.2%), Gentamisin 47.6%, chloramphenicol (38.1%). The distribution of antibiotics-resistance genes in the *Salmonella* isolates included *ampC* (95.2%), *tet(A)*(61.9%), *tet(B)*(38.1%), *qnr(A)*(28.5%), *qnr(B)*(14.3%) and *qnr(S)*(23.8%). This study shows that a few pathogens of *Salmonella* are resistant to ampicillin, tetracycline , and quinolone. The *tet* and *qnr* genes are responsible for this resistance among *Salmonella* in Bandung and Purwakarta, West Java Indonesia was high.

Keywords: antibiotic; genes; resisistance; *Salmonella spp*

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi gen penyandi resistansi dan plasmid yang memperantarai resistansi terhadap kuinolon pada *Salmonella spp.*, dari peternakan ayam di Bandung dan Purwakarta, Jawa Bara. Total sampel ada 70 sampel yang dikoleksi dari peternakan ayam di Bandung dan Purwakarta. Semua isolat diuji dengan media selektif *Salmonella Shigella Agar* (SSA) dan dikonfirmasi menggunakan *Polymerase Chain Reaction*. Sebanyak 33 isolat positif berdasarkan hasil isolasi dengan media selektif dan uji biokimia. Uji konfirmasi dilakukan dengan PCR yaitu dengan menggunakan gen *InvA*. Sebanyak 21 dari 33 isolat positif terdapat gen *invA*. Sebanyak 21 isolat diuji resistansi antibiotik terhadap tetrasiklin, doksisisiklin, asam nalidiksat, oksitetrasiklin, dan enrofloksasin menggunakan metode *disk diffusion*. Tetrasiklin yang resistan diuji untuk mengetahui keberadaan gen *tet(A)* dan *tet(B)* dengan menggunakan *single PCR*. *Plasmid-Mediated Quinolone Resistant* diuji untuk mengetahui keberadaan *qnr(A)*, *qnr(B)* dan *qnr(S)* dengan *multiplex PCR*. Tetrasiklin 100%, oksitetrasiklin dan ampisilin 95,2%, Asam nalidiksat 90,4%, eritromisin 85,7%, enrofloksasin 76,2%, gentamisin 47,6%, kloramfenikol 38,1%. Adapun gen penyandi resistansi pada isolat *Salmonella spp.*, yang berhasil dideteksi, di antaranya *ampC* (95,2%), *tet(A)* 61,9%, *tet(B)* 38,1%, *qnr(A)* 28,5%, *qnr(B)* 14,3%, *qnr(S)* 23,8%, *qnr(A)* dan *qnr(B)* 14,3%,

qnr(A) dan *qnr(S)* 9,5%. Penelitian ini menunjukkan beberapa patogen telah resistan terhadap ampicilin, tetrasiklin dan kuinolon. Gen *tet* dan *qnr* bertanggungjawab terhadap tingginya resistansi pada *Salmonella spp.*, di Bandung dan Purwakarta Jawa Barat

Kata-kata kunci: antibiotika; gen; resistan; *Salmonella spp*

PENDAHULUAN

Resistansi terhadap antibiotik dekade sekarang ini merupakan permasalahan global yang berkaitan dengan kesehatan manusia dan hewan. Resistansi antibiotik terjadi ketika bakteri memperoleh gen resistan yang memungkinkan untuk bertahan hidup saat terpapar antibiotik (WHO 2017). Menurut O'Neill (2016) bakteri yang resistan diperkirakan akan meningkat dari 700.000 kematian secara global pada 2014 menjadi lebih dari 10.000.000 pada tahun 2050. Hewan produksi beserta lingkungan produksinya dianggap sebagai salah satu *reservoir* munculnya bakteri resistan yang dapat berpindah ke manusia baik secara langsung ataupun tidak langsung (Marshal dan Levy, 2011; WHO 2017).

Antibiotik yang sama pada manusia dan hewan merupakan salah satu faktor adanya perpindahan bakteri yang resistan terhadap antibiotika yang sama pada hewan atau produk hewan ke manusia (Nghiem *et al.* 2017). Salah satu sumber resistansi diduga berasal dari peternakan ayam. Peternakan ayam yang banyak dikelola yaitu ayam pedaging, ayam petelur dan ayam indukan. Berdasarkan data Dinas Peternakan provinsi Jawa Barat pada tahun 2018 populasi ayam petelur/*layer* sebanyak 151.424 ekor dan ayam *breeder*/indukan 3857365 ekor, sebanyak 20% populasi ayam indukan dan petelur terdapat di Purwakarta dan Bandung (Disnak Jabar 2018).

Penggunaan antibiotik di Indonesia sampai saat ini masih banyak digunakan baik sebagai pengobatan maupun pemacu pertumbuhan walaupun penggunaan sebagai *antibiotic growth promoter* sudah dilarang mulai 1 Januari 2018 menurut Undang-undang No 41 tahun 2014 dan diperkuat dengan Permentan No 14 tahun 2017 tentang Klasifikasi Obat Hewan. Sekitar 51% negara-negara anggota *Office International des Epizooties* (OIE) telah melarang penggunaan antibiotik sebagai *growth promoter* (Puslibatnak 2017).

Antibiotic Growth Promotor (AGP) menjadi salah satu penyebab berkembangnya bakteri resistan karena diberikan dengan dosis rendah

sehingga membunuh bakteri patogen yang sensitif terhadap antibiotik tersebut. Penggunaan AGP dapat menyumbang resistansi antibiotik meskipun hanya sedikit. Salah satu penyumbang resistansi yang cukup besar adalah penggunaan antibiotik sebagai pencegahan dan terapi.. Penggunaan antibiotik pada peternakan ayam menurut Kementerian Pertanian tahun 2018 sebagian besar digunakan pencegahan yaitu sebesar 81,4%, untuk pengobatan sebesar 30,2% dan untuk pemacu pertumbuhan sebesar 0,3%. Hal ini menjadi salah satu faktor terbesar penyumbang resistansi antibiotik (Kementan 2019).

Penyakit pada ayam dapat berasal dari bakteri, jamur, virus dan parasit. Beberapa penyakit bakteri yang sering menyerang pada ayam adalah *Salmonellosis*, *Colibasilosis*, *Staphylococcosis*, *Fowl cholera* dan *Coryza*. Salah satu penyakit yang sering terjadi adalah *salmonellosis* yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella*. *Salmonellosis* adalah penyakit yang dapat menyerang ayam muda maupun tua dan dapat ditularkan secara vertikal dan horisontal. Ayam indukan harus bebas dari *Salmonella spp.*, karena penularan *Salmonella spp.*, pada ayam dapat terjadi secara vertikal dari induk yang sakit ke anak melalui telur atau *transovarial* (Kusumaningsih dan Sudarwanto, 2007). Adanya infeksi *Salmonella* pada telur konsumsi (*layer*) dapat menjadi sumber penularan *Salmonella spp.*, ke manusia, sedangkan adanya infeksi *Salmonella spp.*, pada telur tetas dapat menjadi sumber infeksi bagi anak ayam (*day old chicks* atau DOC) yang dihasilkan dari peternakan pembibitan tersebut. Mata rantai penularan *Salmonella spp.*, secara vertikal terus terjadi secara berkesinambungan. Telur yang berasal dari ayam yang terinfeksi *Salmonella spp.*, dapat menjadi sumber penularan *Salmonella spp.*, ke manusia melalui makanan (*foodborne disease*). *Salmonella spp.*, dalam jumlah banyak yang terdapat pada kuning telur lebih sering sebagai penyebab *food-borne disease* (CDC 2013). Pergeseran pola makan masyarakat Indonesia yang sering mencampurkan kuning telur mentah atau setengah matang kedalam makanan, sangat besar peluang terjadinya

penularan bakteri *Salmonella spp.*, dari ayam dan telur ke manusia. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan isolasi dan identifikasi *Salmonella spp.*, yang berasal dari peternakan ayam di Bandung dan Purwakarta, menguji sifat resistansinya terhadap beberapa antibiotik serta mendeteksi keberadaan gen resistansinya pada *Salmonella spp.*

METODE PENELITIAN

Pengambilan sampel dan data dilakukan di peternakan ayam indukan (*broiler breeder*) dan ayam petelur (*layer*) di wilayah Purwakarta dan Bandung. Penelitian ini dilaksanakan selama kurang lebih enam bulan, dimulai bulan Agustus 2018 hingga Januari 2019 di Laboratorium Terpadu, Divisi Mikrobiologi Medik, Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor.

Pengambilan dan Besaran Sampel

Metode penelitian menggunakan *cross sectional study*. Sampel diambil secara acak (*random sampling*) dari peternakan ayam *broiler breeder* dan peternakan ayam *layer*. Besaran sampel dihitung dengan menggunakan rumus pengambilan sampel *detect disease*. Total sampel yang diambil adalah 70 sampel yang berasal dari dua kabupaten yaitu Bandung dan Purwakarta. Setiap kabupaten diambil dari satu peternakan *layer* dan satu peternakan *broiler breeder*. Setiap satu peternakan ayam baik *layer* maupun *breeder* diambil sampel *swab* kloaka

sebanyak enam sampel, *swab litter* enam sampel dan sampel air minum sebanyak lima sampel (Tabel 1).

Isolasi dan Identifikasi *Salmonella*

Jumlah keseluruhan sampel yang diuji adalah 70 sampel yang terdiri dari sampel *swab* kloaka, *swab litter* dan sampel air minum. Sampel tersebut dikumpulkan (*pool*) dalam 0,1% *buffer peptone water steril* (BPW). Semua sampel tersebut ditumbuhkan pada *tetrathionate broth* (TB) kemudian dinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Sampel ditumbuhkan kembali pada media *Salmonella Shigella Agar* (SS Agar) (Oxoid-UK) diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Koloni yang diduga *Salmonella* berwarna hitam. Koloni tersebut ditanam kembali pada *Trypton Soy Agar* (TSA) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Semua isolat *Salmonella* dikonfirmasi menggunakan uji biokimia yaitu TSIA, urease, indol, sitrat, MR-Vp, katalase dan oksidase.

Konfirmasi *Salmonella spp.*, dilakukan dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Ekstrasi DNA bakteri menggunakan metode *boiling*. Sekuen primer target gen *InvA* untuk primer forward 5'-ACAGTGCTCGTTTACGACCTGAAT-3' dan sekuen primer reverse 5'-AGACGACTGGTACTGATCGATAAT-3' dengan target 284 *base pair* (bp). Proses amplifikasi menggunakan KAPA2G Fast Readymix PCR Kit. Volume total reaksi 25µL, terdiri dari 2 µL DNA *template*, 12,5 µL *mastermix*, 1,6 µL primer *forward* 10 µM, 1.6 µL primer *reverse* 10 µM dan 7.3 µL dH₂O.

Tabel 1. Besaran sampel yang digunakan dalam penelitian ini

Kota/Kabupaten	Peternakan	Jenis sampel	Jumlah
Purwakarta	Peternakan indukan	<i>Swab</i> kloaka	6
		<i>Swab</i> litter	6
		Sampel air minum	5
	Peternakan petelur	<i>Swab</i> kloaka	6
		<i>Swab</i> litter	6
		Sampel air minum	5
Bandung	Peternakan indukan	<i>Swab</i> kloaka	6
		<i>Swab</i> litter	6
		Sampel air minum	5
	Peternakan petelur	<i>Swab</i> kloaka	6
		<i>Swab</i> litter	6
		Sampel air minum	5
Total sampel			70 sampel

Uji Sensitivitas Antibiotik

Pengujian resistansi dilakukan dengan metode *disk diffusion* Kirby Bauer menggunakan agar Mueller-Hinton berdasarkan *Clinical and Laboratory Standards Institute guidelines* (CLSI 2018). Pemilihan golongan antibiotik di antaranya penisilin, tetrasiklin, kuinolon, polimiksin, makrolida. Adapun antibiotik yang digunakan pada penelitian ini antara lain ampicilin (AMP) 10 µg, tetrasiklin (TE) 30 µg, gentamisin (CN) 10 µg, dan eritromisin (E) 15 µg, asam nalidiksat (NA) 30 µg, oksitetrasiklin (OT) 30 µg, kloramfenikol (C) 30 µg, enrofloksasin (EN) 5 µg. Suspensi bakteri yang digunakan berasal dari koloni bakteri yang diencerkan hingga mencapai standar Mc Farland 0,5 atau setara dengan $1,5 \times 10^8$ CFU/mL, sebanyak 1 mL suspensi dituang kemudian diratakan pada agar Mueller-Hinton. *Disk diffusion* yang mengandung antibiotik diletakkan di atas agar Mueller-Hinton menggunakan pinset steril dengan jarak yang sama kemudian diinkubasi pada suhu 35°C selama 16–18 jam dan diukur zona hambat antibiotik berdasarkan standar sesuai dengan CLSI 2018 Standar berupa kategori antara lain *susceptible* (S), *intermediate* (I), dan *resistant* (R). Kategori ditentukan dari rentangan diameter zona hambat antibiotik yang terbentuk pada agar Mueller-Hinton (CLSI 2018).

Ekstraksi dan Deteksi Gen Resistansi Antibiotik

Ekstraksi dilakukan terhadap bakteri *Salmonella spp.*, yang memiliki sifat resistan dengan metode *boiling*. Keberadaan gen resistansi antibiotik dideteksi menggunakan PCR dengan primer gen target *ampC* (ampisilin), *tet(A)* dan *tet(B)* (tetrasiklin), *qnr(A)*, *qnr(B)* dan *qnr(S)* (kuinolon) (Tabel 1). Volume total reaksi PCR sebanyak 10 µL, terdiri dari 1 µL DNA template, 5 µL mastermix (KAPA2G Fast Hotstart Readymix PCR kit), 0,6 µL primer forward 10 µM, 0,6 µM primer reverse 10 µM, dan 3,8 µL H₂O. Proses amplifikasi diawali dengan predenaturasi pada suhu 95°C selama tiga menit, proses amplifikasi dengan suhu denaturasi 95°C selama 30 detik. Proses selanjutnya yaitu *annealing* pada suhu 50-60°C sesuai dengan primer yang digunakan (Tabel 1), ekstensi pada suhu 72°C selama satu menit dan pada akhir amplifikasi dilanjutkan dengan final ekstensi pada suhu 72°C selama lima menit. Proses amplifikasi tersebut sebanyak 35 siklus. Sampel yang telah diamplifikasi

selanjutnya divisualisasi dengan elektroforesis menggunakan 1,5% *gel agarose* dan pewarnaan menggunakan *ethidium bromida* 0,5 µg/mL. *Marker* yang digunakan 100 bp (VC 100 bp Plus BNA Ladder Vivantis) sebagai ukuran standar. Seluruh data yang diperoleh dari hasil penelitian ini ditampilkan dalam bentuk tabel dan gambar serta dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi *Salmonella spp.*

Hasil kultur dari 70 sampel yang terdiri dari sampel *swab* kloaka, *litter* dan air minum asal ayam *breeder* dan *layer* menunjukkan 33 koloni yang diduga *Salmonella*. Pengamatan secara makroskopis menunjukkan koloni merah muda dengan titik hitam di tengah pada media SSA. Pengamatan secara mikroskopis dilakukan dengan pewarnaan Gram untuk melihat morfologi bakteri dengan bentuk batang Gram negatif. Koloni tunggal dari media SSA yang telah teridentifikasi sebagai *Salmonella spp.*, dengan uji biokimia. Uji biokimia yang dilakukan adalah uji TSIA, Indol, MR-VP, urease, sitrat, katalase dan oksidase.

Pengujian selanjutnya dilakukan adalah uji konfirmasi secara molekuler dengan mendeteksi adanya gen *InvA* dengan PCR. *Salmonella spp.*, memiliki gen *invA* yang berperan dalam menyebabkan sakit. Gen tersebut terletak di daerah *Salmonella pathogenicity island (SPI-R)* yang mempunyai *operon* yang berfungsi sebagai tempat penyimpanan informasi genetik. Gen *invA* pada *Salmonella spp.*, terletak di kromosom yang mampu menghasilkan protein yang dapat memberikan sifat invasif untuk menginvasi sel epitel yang terdapat di dalam usus.

Hasil identifikasi *Salmonella spp.*, menggunakan PCR untuk menemukan adanya gen target *InvA*. Berdasarkan hasil PCR dari 33 isolat yang diduga *Salmonella*, hanya diperoleh 21 isolat (63.7%) sebagai *Salmonella spp.*

Resistansi terhadap Berbagai Antibiotik

Hasil uji resistansi berdasarkan zona hambat yang terbentuk pada agar Mueller-Hinton terhadap 21 isolat yang diuji, menunjukkan bahwa semua isolat (100%) resistan terhadap tetrasiklin, diikuti dengan 95,2% resistan dan 4,8% masih sensitif terhadap oksitetrasiklin, 95,2% resistan dan 4,8% sensitif

terhadap asam nalidiksat. Sebesar 76,2% resistan, 14,3% intermediate dan 9,5% sensitif terhadap enrofloksasin. Antibiotik yang masih cukup sensitif untuk digunakan adalah kloramfenikol dan gentamisin dengan persentase sensitif masing-masing sebesar 33,3% dan 23,8% (Tabel 2).

Resistansi terhadap berbagai macam antibiotik telah dikelompokkan sebagai kondisi yang sangat kritis (WHO 2017). Menurut data *Center for Indonesian Veterinary Analytical Studies* (CIVAS) tahun 2017 antibiotik yang paling banyak digunakan pada peternakan ayam yaitu enrofloksasin sebesar 60% diikuti antibiotik lain seperti tetrasiklin, oksitetrasiklin, dan eritromisin sebesar 35% dan jenis antibiotik yang paling sedikit digunakan adalah lincomisin hanya sekitar 5%. Hasil penelitian

yang dilakukan bahwa bakteri *Salmonella spp.*, asal sampel yang diambil dari peternakan ayam breeder memiliki resistansi yang cukup tinggi dibandingkan yang diambil dari ayam layer hal ini sesuai dengan penelitian Kusumaningsih (2007) bahwa resistansi yang terjadi pada telur tetas asal ayam breeder menunjukkan multidrug resistan sebesar 22,2%.

Deteksi Gen Penyandi Resistansi Antibiotik

Deteksi molekuler gen penyandi resistansi dilakukan terhadap isolat *Salmonella spp.*, dengan kategori resistan berdasarkan CLSI (2018). Hasil deteksi gen *tet(A)*, *tet(B)*, *qnr(A)*, *qnr(B)*, dan *qnr(S)* (Tabel 3). Hasil deteksi gen penyandi resistansi *tet(A)* dan *tet(B)* pada 20

Tabel 2. Daftar primer gen resistansi

Antibiotik	Gen	Sekuen basa	Amplikon (bp)	Suhu annealing
Ampisilin	<i>ampC</i> ^a	(F)5'-AATGGGTTTTCTACGGTCCTG-3' (R)5'-GGGCAGCAAATGTGGAGCAA-3'	191	Perlu optimasi
Tetrasiklin	<i>tet(A)</i> ^b	(F)5'-GGTTCCTCGAACGACGTCA-3' (R)5'-GGGCAGCAAATGTGGAGCAA-3'	577	57
	<i>tet(B)</i> ^b	(F)5'-CCTCAGCTTCTCAACCGCGTG-3' (R)5'-GCACCTTGCTCATGACTCTT-3'	634	56
Kuinolon	<i>qnr(A)</i> ^c	(F)5'-CCTGCGAGTACAAACTGG-3' (R)5'-TCAAGGTAACCAGCCAAC-3'	670	50
	<i>qnr(B)</i> ^c	(F)5'-GATCGTGAAAGCCAGAAAGG-3' (R)5'-ACGATGCCTGGTAGTTGTCC-3'	469	55
	<i>qnr(S)</i> ^c	(F)5'-GATCGTGAAAGCCAGAAAGG-3' (R)5'-ACGATGCCTGGTAGTTGTCC-3'	417	55

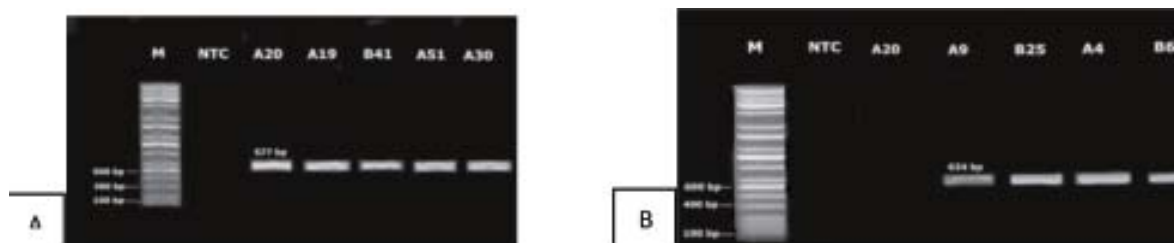
Keterangan: ^aampisilin (Brinas *et al.*, 2002), ^bTetrasiklin (Randal *et al.*, 2004), ^ckuinolon (Mammeri *et al.*, 2005)

Tabel 3. Persentase resistansi antibiotik dari *Salmonella spp.*, (n=21)

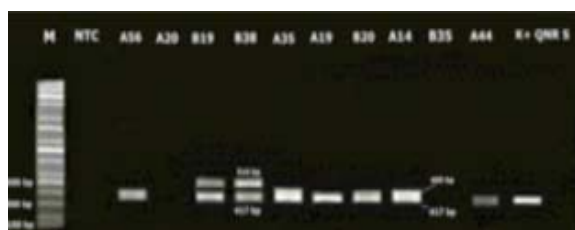
No	Antibiotik	Sensitif		Intermediate		Resistan	
		jumlah	persen	jumlah	persen	jumlah	persen
1	Tetrasiklin	0	0%	0	0%	21	100%
2	Oksitetrasiklin	1	4,8%	0	0%	20	95,2%
3	Ampisilin	0	0%	1	4,8%	20	95,2%
4	Asam nalidiksat	1	4,8%	1	4,8%	19	90,4%
5	Eritromisin	0	0%	3	14,3%	18	85,7%
6	Enrofloksasin	2	9,5%	3	14,3%	16	76,2%
7	Gentamisin	7	33,3%	4	19,1%	10	47,6%
8	Kloramfenikol	5	23,8%	8	38,1%	8	38,1%

Tabel 4. Resistansi berdasarkan golongan antibiotik dan gen penyandi resistansi antibiotik (n=21)

Golongan antibiotik	Jumlah isolat	Gen resistan resistan	Positif gen resistansi	
			Jumlah	Persentase
Betalaktam	21	<i>ampC</i>	20	95,2%
Tetrasiklin	21	<i>tet(A)</i>	13	61,9%
		<i>tet(B)</i>	8	38,1%
Kuinolon	21	<i>qnr(A)</i>	6	28,5%
		<i>qnr(B)</i>	3	14,3%
		<i>qnr(S)</i>	5	23,8%
		<i>qnr(A) & qnr(B)</i>	3	14,3%
		<i>qnr(A) & qnr(S)</i>	2	9,5%



Gambar 1. (A) Amplifikasi gen *tet(A)* (577 bp) penyandi resistansi tetrasiklin pada *Salmonella*. Sebanyak 13 isolat menunjukkan hasil positif *tet(A)*. (B) Amplifikasi gen *tet(B)* (634 bp) penyandi resistansi tetrasiklin pada salmonella. Sebanyak delapan isolat menunjukkan hasil positif terhadap *tet(B)* M: marker 100 bp; NTC : non template control



Gambar 2. Ampifikasi gen *qnr(A)* (516 bp), *qnr(B)* (469 bp) dan *qnr(S)* (417 bp) penyandi resistansi pada kuinolon pada *Salmonella*. Sebanyak delapan dari 21 isolat positif *qnr(A)*, empat dari 21 isolat positif *qnr(B)*, sembilan dari 21 isolat positif *qnr(S)*. M: marker 100 bp; NTC: Non template control

isolat yang resistan terhadap golongan tetrasiklin, didapatkan sebanyak *tet(A)* 61,9% dengan ampikon 577 bp dan 38,1% isolat positif *tet(B)* dengan ampikon 634 bp (Gambar 1). Dari hasil penelitian ini tampak bahwa keberadaan

gen *tet(A)* lebih dominan dibandingkan *tet(B)*. Menurut Kurnia et al. (2018) gen *tet(A)* lebih dominan daripada *tet(B)* pada bakteri golongan *Enterobacteriaceae*.

Resistansi terhadap tetrasiklin disebabkan adanya gen yang mengkode resistansi yaitu gen ekstrakromosomal yang mampu bereplikasi dan mensintesis protein untuk kebutuhan plasmid itu sendiri (Velhner dan Milanov, 2015). Ada empat mekanisme resistansi pada tetrasiklin yaitu *pompa efflux*, perubahan target reseptor, perlindungan ribosom dan inaktivasi enzimatis (Luby et al., 2016). Keragaman distribusi resistansi terhadap tetrasiklin tergantung pada kondisi lingkungan seperti limbah, tanah dan air. Transfer gen secara horizontal merupakan mekanisme utama yang dapat menyebabkan tingginya penyebaran gen resistansi pada bakteri lain di lingkungan (Geoffrey 2018).

Isolat yang resistan terhadap antibiotik golongan kuinolon sebanyak 21 isolat yang diuji menggunakan *multiplex* PCR dengan gen target *qnr(A)*, *qnr(B)* dan *qnr(S)*. Hasil *multiplex* PCR menunjukkan delapan dari 21 isolat (38,1%)

positif *qnrA*, sebesar empat dari 21 isolat (19%) positif *qnr(B)*, sebesar Sembilan dari 21 isolat (42,8%) positif *qnr(S)* (Gambar 3). Menurut Jacoby *et al* (2006) bahwa gen *qnr(A)* memiliki prevalensi yang lebih tinggi dibanding *qnr(B)* dan *qnr(S)* pada 85 isolat *Salmonella spp.* Menurut Cattoir (2007) dalam satu isolat bakteri dapat terdiri dari satu atau lebih gen *qnr*. Penelitian lain menunjukkan bahwa adanya gen *qnr(S)* muncul bersama *qnr(B)* atau *qnr(A)*. Pada percobaan transkonjugasi menunjukkan bahwa adanya efek antar gen *qnr(A)* dan *qnr(B)* dapat saling bersaing untuk menempel pada DNA *gyrase* (Hu *et al.*, 2008).

Resistansi terhadap kuinolon disebabkan oleh perubahan target enzim (DNA *gyrase* dan topoisomerase IV), penurunan permeabilitas membran luar sel bakteri atau pengembangan mekanisme *efflux*. Penelitian lain mendeteksi adanya hubungan gen *Extended Spectrum Betalaktamase* (ESBL) dengan gen *qnr*. Hal ini menunjukkan kemungkinan resistansi terhadap antibiotik golongan betalaktam berhubungan dengan resistansi pada antibiotik golongan kuinolon (Sharma *et al.*, 2006).

Menurut Hu *et al.* (2008) adanya resistansi antibiotik yang tinggi dapat menjadi perhatian khusus karena transfer resistansi juga dapat terjadi akibat faktor lingkungan, faktor ekologi seperti dari hewan ternak lain, rodensia, hewan kesayangan atau dari pekerja kandang. Meningkatnya industri peternakan, dapat meningkatkan jumlah kontaminasi bakteri yang ada di lingkungan sekitar peternakan dan dapat mengkontaminasi secara tidak langsung pada manusia. Pada penelitian ini terdapat lima isolat yang berasal dari air dan lima isolat yang berasal dari *litter* atau sekam yang positif *Salmonella spp.* Air yang ada di peternakan kemungkinan dapat mengkontaminasi lingkungan sekitar sedangkan *litter* yang menjadi alas untuk ayam banyak digunakan untuk pupuk tanaman. Menurut beberapa penelitian adanya antibiotik di lingkungan menimbulkan kekhawatiran bahwa populasi mikrob yang resistan meningkatkan transfer gen secara horisontal. Urumova (2016) menemukan gen-gen resistansi yang sama pada peternakan dengan yang ada di limbah peternakan, air tanah, dan di dalam mikrob tanah ratusan meter dari hilir. Hal ini tentu sangat menarik perhatian karena bakteri tersebut dapat berada di lingkungan karena dapat menularkan sifat resistansi tersebut ke manusia secara langsung dan tidak langsung

Resistansi antibiotik telah banyak dilaporkan, khususnya bakteri golongan *Enterobacteriaceae* termasuk *E. coli*. Penelitian pada sampel asal peternakan ayam *broiler* menunjukkan resistansi antibiotik ampisilin sebesar 100%, tetrasiklin sebesar 64%, oksitetrasiklin 76%, siprofloksasin 36% (Kurnia *et al.*, 2018). Adanya resistansi yang cukup tinggi pada golongan *Enterobacteriaceae* dapat menyebabkan adanya gen transfer antar bakteri. Transfer gen secara horisontal dapat terjadi antara garis keturunan bakteri yang berbeda secara taksonomi, dan bahkan antar *kingdom* (Heinemann dan Prague, 1998). Penelitian lain juga menunjukkan bahwa sifat resistansi yang ditransfer secara horisontal seperti plasmid, dapat dipindahkan dari bakteri donor *E. coli* ke bakteri resipien *Salmonella spp.*, sehingga menyebabkan bakteri tersebut dapat menjadi resistan terhadap antibiotik tertentu (Palupi *et al.*, 2018). Hal ini tentu menjadi perhatian karena resistansi dapat ditularkan ke lingkungan dan dapat berpindah ke bakteri lain, sehingga ke depan tantangan terhadap resistansi antibiotik semakin besar. Tindakan pencegahan dan pengendalian harus dilakukan mengingat tingginya tingkat resistansi antibiotik.

SIMPULAN

Keseluruhan isolat yang digunakan pada penelitian ini merupakan bakteri *Salmonella spp.*, yang diperoleh dari peternakan ayam di Bandung dan Purwakarta. Sebanyak 21 isolat *Salmonella spp.*, telah resistan terhadap antibiotik ampisilin, oksitetrasiklin, asam nalidiksat, enrofloksasin, eritromisin, gentamisin dan kloramfenikol. Gen penyandi *tet* dan *qnr* telah ditemukan dalam bakteri *Salmonella spp.*, tersebut.

SARAN

Penggunaan antibiotik sebagai terapi selayaknya diawasi secara ketat melalui monitoring. Uji sensitivitas dan deteksi gen resistansi secara berkala perlu dilakukan untuk mengetahui kondisi yang ada di lapangan. Hal tersebut perlu dilakukan untuk mencegah terjadinya multiresistansi.

DAFTAR PUSTAKA

- Aidara-Kane A, Andremont A, Collignon P. 2013. Antimicrobial resistance in the food chain and the AGISAR initiative. *J Infect PubHea* 6: 162-165.
- Braoudaki M, Anthony CH. 2004. Mechanisms of resistance in *Salmonella enterica* adapted to erythromycin, benzalkonium chloride, and triclosan. *Int J Antimicrob Ag* 25: 31-37.
- Cattoir V, Poirel L, Nordmann P. 2007. In-vitro mutagenesis of qnrA and qnrS genes and quinolone resistance in *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Infect* 13: 940–943.
- [CDC] Centers for Diseases Control and Prevention. 2013. *Salmonella enteritidis*. Diseases Information, Division of Bacterial and Mycotic Diseases, <http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/salmentg.htm>. 20 Juli 2018.
- [CIVAS] Center for Indonesian Veterinary Analytical Studies. 2017. Ancaman Resistensi Antimikroba. [internet] [diunduh 5 April 2019]. Tersedia pada : ivas.net/2017/02/01/ancaman-resistensi-antimikroba/
- [CLSI] Clinical and Laboratory Standarts Institute. 2018. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard 481 11th Edition. Wayne, PA, *CLSI document M02-A11: Clinical and Laboratory 482 Standards Institute; 2018.14*.
- [Disnak] Dinas Peternakan Provinsi Jawa Barat. 2015. Buku Statistik Peternakan 2018. Statistical on Live Stock. Bandung
- Geoffrey NH, Wibawan IWT, Denny WL, Mirnawati B. 2018. Detection of multi-drug resistant (MDR) *Escherichia coli* and tet gene prevalence at a pig farm in Kupang Indonesia. *J Adv Vet Anim Res* 5(4): 388-396
- Hu Y, Yang X, Li J, Lv N, Liu F, Wu J. 2016. The bacterial mobile resistome transfer network connecting the animal and human microbiomes. *Appl Environ Microbiol*: 82(22): 6672–6681. <https://doi.org/10.1128/AEM.01802-16>
- Jacoby GA. 2009. AmpC beta-Lactamases. *American Society for Microbiol* 22(1): 161–182.
- [Kementan] Kementerian Pertanian. 2019. Situasi saat ini dan kebijakan pemerintah tentang Antimicrobial Resistance (AMR) Disektor Peternakan dan Kesehatan Hewan. Disampaikan dalam Studium Generale AMR di Menara 165 Jakarta
- Kurnia RS, Agustin I, Ni Luh PIM. 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. *Vet World* 11(11): 1581-1586
- Kusumaningsih A. 2007. Infeksi *Salmonella enteritidis* pada Telur Ayam dan Manusia serta Resistensinya terhadap Antibiotika. *Berita Biologi* 10(6).
- Luby EM, Moorman TB, Soupier ML. 2016. Fate and transport of tylosin-resistant bacteria and macrolide resistance genes in artificially drained agricultural fields receiving swine manure. *Sci Total Environ* 550: 1126–33;
- Marshall BM, Levy SB. 2011. Food animals and antimicrobials: impacts on human health. *Clin Microbiol Rev* 24: 718-733
- Nghiem MN, Viet Thanh Nguyen, Thu Thi Hoai Nguyen, Ton Dang Nguyen, Thuy Thi Bich Vo. 2017. Antimicrobial resistance gene expression associated with multidrug resistant *Salmonella spp.* isolated from retail meat in Hanoi, Vietnam. *J Inter Microbiol* 20(2): 85-93.
- O’Neill J. 2016. *Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations*. London, UK. Wellcome trust and HM Government,
- Palupi MF, Hera M, Huda SD, Etih S, I Wayan TW. 2018. Resistansi *Escherichia coli* terhadap Kolistin dan Deteksi Gen Mobilized Colistin Resistance-1 pada Ayam Pedaging Akibat Pemberian Kolistin Sulfat. *Jurnal Veteriner* 19(2): 196-207
- [Puslitbangnak] Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan. 2017. *Kebijakan Pengendalian Penggunaan AGP dan Ractopamine dalam Mendukung Keamanan Pangan*. Bogor (ID): Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian
- Sharma KK, Soni SS, Meharchandani S. 2006. Congo red dye agar test as an indicator test

- for detection of invasive bovine *Escherichia coli*. *Vet Arh* 76(4): 363-366.
- Urumova V. 2016. Investigations on tetracycline resistance in commensal *Escherichia coli* isolates from swine. *Bulgarian J Vet Med* 19(3): 179–188.
- Velhner, M, Milanov D. 2015. Resistance to tetracycline in *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*: Brief overview on mechanisms of resistance and epidemiology. *Arh Vet Med* 8(1): 27-36.
- [WHO] World Health Organization. 2017. Global Antimicrobial Resistance Surveillance system (GLASS). Report.