

pISSN: 1411-8327  
eISSN: 2477-5665

# Jurnal Veteriner

## INDONESIAN VETERINARY JOURNAL

**Vol. 19 No. 3, September 2018**

- Genetic Characterization of Caspian Horse Population ●
- Pola Gen Extended Spectrum beta-lactamase Bakteri Usus Sapi Perah ●
- The Bioactive Compounds of *Avicenia* sp Stem Extract ●
- Ekstrak Etanol Daun Eboni Menurunkan Kadar Glukosa Darah ●
- Ekstrak Daun Singkong Berpotensi Sebagai Antioksidan ●
- Siklus Estrus dan Struktur Histologi Ovarium ●
- Setelah diberi Kaliandra Merah ●
- Cogongrass Root Ethanol Extract Causes Mouse Epididymal ●
- Sperm Abnormality ●
- Toksin Binders untuk Mengurangi Efek Mikotoksin Zearalenon ●
- Kepadatan dan Kekuatan Tulang Sapi Bali ●
- Human Wharton's Jelly Mesenchymal Stem Cells ●
- Perbaiki Fungsi Testis Tikus Tua ●
- Artificial Activation of oocyte by Using Strontium Chloride ●
- and Cytochalasin B ●
- Gangguan Reproduksi pada Ovarium Sapi Potong ●
- Anestrus Postpartum Panjang ●
- LACTOSE-ASTAXANTHIN INCREASED THE FROZEN SEMEN QUALITY ●
- OF GEMBRONG GOAT ●
- Deteksi Antibodi dan Isolasi *Toxoplasma gondii* pada Itik ●
- Kualitas Semen Kambing Sapera yang Dibekukan ●
- Anemia and Eosinophilia in Traditional Goat Farmers ●
- Wabah Penyakit Ingusan pada Sapi Bali di Pulau Lombok ●
- Rekombinan Outer Membrane Protein-31 dengan Superoxide ●
- Dismutase Kandidat Vaksin Brucellosis ●
- Radiographic Evaluation of Rabbit Femur Implanted Bali ●
- Cattle Bone Graft ●

Home (<https://ojs.unud.ac.id/index.php/jvet/index>) / Editorial Team

# Editorial Team

---

## CHIEF EDITOR

**I Wayan Batan** (<https://scholar.google.co.id/citations?user=iVWvtZ4AAAAJ&hl=id>), Faculty of Veterinary Medicine, Udayana University, Bali, Indonesia

## EDITORIAL BOARD

**Nyoman Mantik Astawa** (<https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=35774161000>), Faculty of Veterinary Medicine, Udayana University, Bali, Indonesia

**Nyoman Sadra Dharmawan** (<https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=12140168300>), Faculty of Veterinary Medicine, Udayana University, Bali, Indonesia

**Rama Jayaraj** (<https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=37026163100>), Faculty of Engineering, Health, Science and the Environment, Charles Darwin University, Darwin, Northern Territory 0909 Australia

**Randall C. Kyes** (<https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=6602641427>), Division of Global Programs, Washington National Primate Research Center, University of Washington, Seattle, United States

**R. Wasito** (<https://www.scopus.com/results/authorNamesList.uri?sort=count-f&src=al&affilName=Gadjah+Mada+University&sid=e14af161c5a34983dcae9f5f4c65bc40&sot=al&sdt=al&sl=84&s=AUTHLASTNAME%28EQUALS%28wasito%29%29+AND+AUTHFIRST%28wasito%29+AND+AFFIL%28Gadjah+Mada+University%29&st1=wasito&st2=wasito&orcidId=&selectionPageSearch=anl&reselectAuthor=false&activeFlag=false&showDocument=false&resultsPerPage=20&offset=1&jtp=false&currentPage=1&previousSelectionCount=0&tooManySelections=false&previousResultCount=0&authSubject=LFSC&authSubject=HLSC&authSubject=PHSC&authSubject=SOSC&exactAuthorSearch=true&showFullList=false&authorPreferredName=&origin=searchauthorfreelookup&affiliationId=&txGid=6944e310ae1023d9e9414c1080597208>), Department of Patology, Faculty of Veterinary Medicine, Gadjah Mada University, Yogyakarta, Indonesia

**Wasmen Manalu** (<https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=6701769736>), Department of Anatomy, Faculty of Veterinary Medicine, Bogor Agricultural University, Bogor, Indonesia

(<https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=6701769736>) **I Wayan Teguh**

**Wibawan** (<https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=6701679381>), Department of Animal Diseases and Veterinary Public Health, Faculty of Veterinary Medicine, Bogor Agricultural University, Bogor, Indonesia

(<https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=6701769736>) **Komang G. Wiryawan**

(<https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=7801509481>), Department of Nutrition and Feed Technology, Faculty of Animal Science, Bogor Agricultural University, Bogor, Indonesia

(<https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=6701769736>) **Tongku Nizwan Siregar** (<https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57142415800>), Faculty of Veterinary Medicine, Syiah Kuala University, Banda Aceh, Indonesia

(<https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=6701769736>) **Max UE Sanam** (<http://sinta2.ristekdikti.go.id/authors/detail?id=6007479&view=overview>), Faculty of Veterinary Medicine, Cendana University, Kupang, Indonesia

(<https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=6701769736>) **Fedik Abdul Rantam** (<https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=6506692524>), Faculty of Veterinary Medicine, Airlangga University, Surabaya, Indonesia

(<https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=6701769736>) **Mohamad Lazuardi** (<https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57188854964>), Division Pharmacy-Veteriner, Faculty of Veterinary Medicine, Airlangga University, Surabaya, Indonesia

(<https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=6701769736>) **Adji Santoso Dradjat** (<https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=6504236174>), Faculty of Animal Husbandry, University of Mataram, Lombok, Indonesia

(<https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=6701769736>) **Iwan Harjono Utama** (<https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=6602262215>), Animal Biomedical and Molecular Biology Laboratory, Udayana University, Bali, Indonesia

(<https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=6701769736>) **I Gusti Ngurah Kade Mahardika** (<https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=6503977071>), Animal Biomedical and Molecular Biology Laboratory, Udayana University, Bali, Indonesia

(<https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=6701769736>) **I Ketut Puja** (<https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=55342151000>), Departement of Veterinary Anatomy, Udayana University, Bali, Indonesia

**I Ketut Suatha** (<https://scholar.google.co.id/citations?user=I4K-2yIAAAAJ&hl=id>), Faculty of Veterinary Medicine, Udayana University, Bali, Indonesia

(<https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=6701769736>) **Tjok Gde Oka Pelayun** (<https://scholar.google.com/citations?user=VTvJcNIAAAAJ&hl=en>), Faculty of Veterinary Medicine, Udayana University, Bali, Indonesia

(<https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=6701769736>) **I Ketut Berata** (<https://scholar.google.co.id/citations?user=CERVKHkAAAAJ&hl=id>), Faculty of Veterinary Medicine, Udayana University, Bali, Indonesia

**Roostita L. Balia** (<https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=55178542800>), Padjadjaran University, Bandung, Indonesia

(<https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=6701769736>) **Aida Louise Tendén Rompis** (<https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=8590120300>), Animal Biomedical and Molecular Biology Laboratory, Udayana University, Bali, Indonesia

**Anak Agung Ayu Mirah Adi** (<https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=36128464800>), Animal Biomedical and Molecular Biology Laboratory, Udayana University, Bali, Indonesia

**Bibin Bintang Andriana** (<https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=6602435732>), Department of Biomedical Chemistry, Graduate School of Science & Technology, Kwansei Gakuin University, Japan

**I Nyoman Suarsana** (<https://www.scopus.com/results/authorNamesList.uri?sort=count-f&src=al&affilName=udayana&>

**sid=44065a6ecbb35991a20455bdad849ef3&sot=al&sdt=al&sl=49&s=AUTHLASTNAME%28EQUALS%28Suarsana%29%29+AND+AFFIL%28udayana%29&st1=Suarsana&orcidId=&selectionPageSearch=anl&reselectAuthor=false&activeFlag=false&showDocument=false&resultsPerPage=20&offset=1&jtp=false&currentPage=1&previousSelectionCount=0&tooManySelections=false&previousResultCount=0&authSubject=LFSC&authSubject=HLSC&authSubject=PHSC&authSubject=SOSC&exactAuthorSearch=true&showFullList=false&authorPreferredName=&origin=searchauthorfreelookup&affiliationId=&**

**txGid=66d67787d24d6a378c3defcefo88209f**), Faculty of Veterinary Medicine, Udayana University, Bali, Indonesia

**Gusti Ayu Yuniati Kencana** (<https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57200800798>), Faculty of Veterinary Medicine, Udayana University, Bali, Indonesia

**Alan Dargantes** (<https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=6506730472>), College of Veterinary Medicine, Central Mindanao University, University Town, Musuan, Bukidnon, Philippines

#### **ASSOCIATE EDITOR**

I Nyoman Suartha

I Gusti Made Krisna Erawan

I Wayan Suardana

I Gusti Ngurah Sudisma

Ni Gusti Agung Ayu Suartini

I Made Kardena

I Putu Sampurna

I Made Sukada

Anak Agung Sagung Kendran

Ni Nyoman Werdi Susari

Putu Ayu Sisyawati Putriningsih

Tjokorda Sari Nindhia



**MENDELEY** (<http://www.mendeley.com/>)

[Make a Submission \(https://ojs.unud.ac.id/index.php/jvet/about/submissions\)](https://ojs.unud.ac.id/index.php/jvet/about/submissions)

[Editorial Policies \(https://ojs.unud.ac.id/index.php/jvet/policies\)](https://ojs.unud.ac.id/index.php/jvet/policies)

[Editorial Team \(https://ojs.unud.ac.id/index.php/jvet/about/editorialTeam\)](https://ojs.unud.ac.id/index.php/jvet/about/editorialTeam)

[Publication Ethics \(https://ojs.unud.ac.id/index.php/jvet/ethic\)](https://ojs.unud.ac.id/index.php/jvet/ethic)

[Instructions to Author \(https://ojs.unud.ac.id/index.php/jvet/instruction\)](https://ojs.unud.ac.id/index.php/jvet/instruction)

Home (<https://ojs.unud.ac.id/index.php/jvet/index>)

/ Archives (<https://ojs.unud.ac.id/index.php/jvet/issue/archive>) / Vol 19 No 3 (2018)



(<https://ojs.unud.ac.id/index.php/jvet/issue/view/2871>)

**Published:** 2018-09-10

## Articles

### Genetic Characterization and Bottleneck Demographic Assessment of Caspian Horse Population (KARAKTERISASI GENETIK DAN HAMBATAN DEMOGRAFI PADA PENILAIAN POPULASI KUDA KASPIA) (<https://ojs.unud.ac.id/index.php/jvet/article/view/42141>)

Hamid Reza Seyedabadi, Sima Savar Sofla

305-312

PDF (<https://ojs.unud.ac.id/index.php/jvet/article/view/42141/25643>)

 Abstract views: 25,  PDF downloads: 22

### Prevalensi dan Pola Gen Extended Spectrum B-lactamase Bakteri Usus Sapi Perah dan Penduduk Sekitar Peternakan di Surabaya (<https://ojs.unud.ac.id/index.php/jvet/article/view/32890>)

Triffit Imasari, Wiwiek Tyasningsih, Eddy Bagus Wasito, Kuntaman Kuntaman

313-320

# Prevalensi dan Pola Gen *Extended Spectrum $\beta$ -lactamase* Bakteri Usus Sapi Perah dan Penduduk Sekitar Peternakan di Surabaya

(*THE PREVALENCE AND PATTERNS OF EXTENDED SPECTRUM  $\beta$ -LACTAMASE  
GENE AMONG BACTERIAL GUT FLORA OF DAIRY COWS  
AND PEOPLE AROUND FARM IN SURABAYA*)

Triffit Imasari<sup>1</sup>, Wiwiek Tyasningsih<sup>2</sup>,  
Eddy Bagus Wasito<sup>3</sup>, Kuntaman Kuntaman<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Program Pascasarjana Ilmu Kedokteran Dasar,  
Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga Surabaya

<sup>2</sup>Departemen Mikrobiologi,  
Fakultas Kedokteran Hewan, Unair

<sup>3</sup>Departemen Mikrobiologi,  
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/RSUD Dr. Soetomo Surabaya

\*Penulis korespondensi: Kuntaman Kuntaman, FK Unair,  
Jl. Dr. Moestopo 47 Surabaya, Jawa Timur, Indonesia  
Email. [kuntaman@fk.unair.ac.id](mailto:kuntaman@fk.unair.ac.id)

## ABSTRAK

Sejak diidentifikasi pada tahun 1980-an, beberapa organisme resisten antibiotik seperti bakteri penghasil *Extended Spectrum  $\beta$ -lactamase* (ESBL) semakin meningkat. Galur bakteri *Enterobacteriaceae* ini sebagian besar resisten terhadap sefalosporin generasi ketiga dan keempat. Bakteri penghasil ESBL diidentifikasi baik pada manusia, lingkungan dan hewan. Ada tiga gen utama ESBL yang umum ditemukan yaitu SHV, TEM dan CTX-M. Tujuan penelitian ini untuk menganalisis prevalensi dan pola gen ESBL di antara sapi perah dan penduduk sekitar peternakan di Surabaya. Sampel feses dikumpulkan dari sapi dan penduduk sekitar peternakan, ditanam pada agar-agar MacConkey yang mengandung cefotaxim 1 mg/L, diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Koloni yang positif sebagai *skrining* penghasil ESBL diuji dengan Double Disk Synergy Test (DDST) untuk uji konfirmasi bakteri penghasil ESBL, kemudian dilakukan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) untuk mendeteksi gen ESBL. Teknik pengambilan sampel total sampling dengan kriteria inklusi dan eksklusi, diperoleh total 49 sampel, terdiri dari 25 sampel feses sapi perah dan 24 sampel feses penduduk sekitar peternakan. Diidentifikasi hasil positif pada sapi 18 sampel (72%) dan penduduk sekitar peternakan 19 sampel (79,1%). Gen ESBL, SHV, TEM dan CTX-M sapi perah positif gen SHV (0%), gen TEM (12%) dan gen CTX-M (72 %) sedangkan penduduk sekitar peternakan ditemukan positif gen SHV (25%), gen TEM (16,7%) dan gen CTX-M (66,7%). Terdapat perbedaan bermakna ( $p < 0,05$ ) gen SHV ESBL dan tidak ada perbedaan ( $p > 0,05$ ) dari masing-masing gen TEM dan CTX-M ESBL. Gen ESBL telah menyebar di antara sapi perah dan penduduk di sekitar peternakan.

Kata-kata kunci: *Enterobacteriaceae*; gen ESBL; sapi perah; flora usus

## ABSTRACT

Since identified in 1980s, the multiple drug resistant organisms such as Extended Spectrum Beta Lactamases (ESBL) producing bacteria is increasing. These bacteria *Enterobacteriaceae* strain are mostly resistant against third and also fourth generation cephalosporin. ESBL-producing bacteria are identified in both of human, environment and also in animal. There are three main ESBL genes that are commonly found namely SHV, TEM and CTX-M. The aims of this study were to explore the prevalence and pattern of ESBL gene among dairy cows and people around the farm. The faecal samples were collected from dairy cows and people around the farm, cultured on MacConkey agar supplemented with cefotaxim 1 mg/L,

incubated at 37°C for 24 hours. Then the growing colony were tested for ESBL producer by Double Disk Synergy Test (DDST), then followed by Polymerase Chain Reaction (PCR) for ESBL gene. Total sampling technique with inclusion and exclusion criteria, Total 49 samples were collected, consisting of 25 dairy cows faeces and 24 people faeces. Among these, were identified 18 samples (72%) positive in dairy cows and 19 samples (79.1%) positive results in the people around the dairy farm. The ESBL gene, SHV, TEM, CTX-M were identified dairy cows were zero for SHV, TEM (12%), CTX-M (72%) while in people around the farm SHV (25%), TEM (16.7%), CTX-M (66.7%). There were significant different ( $p < 0.05$ ) between dairy cows and people around the farm, of SHV ESBL gene and not different ( $p > 0.05$ ) of TEM and CTX-M ESBL gene respectively. The ESBL genes have spread among dairy cows and people around the farm.

Keywords: *Enterobacteriaceae*; ESBL gene; dairy cows; gut flora

## PENDAHULUAN

Bakteri yang menempati usus kebanyakan berupa bakteri Gram negatif anaerob (*Bacteroides*) diikuti dengan Gram positif *Lactobacillus* dan fakultatif enterobacteria seperti *Escherichia coli*, *Enterobacter spp*, *Proteus spp*, *Klebsiella spp* (Bauman, 2015). Flora usus dapat menjadi reservoir gen resisten antibiotik, dan dapat ditransfer ke bakteri patogen lain (Schjørring dan Krogfelt, 2011). *Enterobacteriaceae* adalah bakteri Gram negatif, flora gastrointestinal manusia dan hewan, di samping banyak juga tersebar luas di lingkungan. Bakteri ini dapat menyebabkan penyakit serta infeksi nosokomial, seperti septikemia, infeksi saluran kemih, pneumonia, kolesistitis, kolangitis, peritonitis, infeksi luka, meningitis, dan gastroenteritis, dan dapat menimbulkan infeksi sporadis atau wabah (Mandell *et al.*, 2010). *Enterobacteriaceae* yang menghasilkan *Extended Spectrum  $\hat{a}$ -laktamase* (ESBLs) telah muncul sebagai patogen utama di rumah-rumah sakit. Gen tersebut pertama kali dilaporkan pada pertengahan 1980-an, terutama ditemukan pada *Klebsiella pneumoniae* dan *Escherichia coli* (Bradford, 2001). *Enterobacteriaceae* penghasil ESBL juga terdapat pada hewan, pada pasien dan populasi di masyarakat, dengan dan tanpa kondisi kronis (Mirelis *et al.*, 2003). *Extended Spectrum  $\hat{a}$ -laktamase* umumnya diketahui terkait dengan resistensi pada *Klebsiella spp.* dan *E. coli*, dan juga *Enterobacteriaceae* yang lain seperti *Citrobacter*, *Serratia*, *Proteus*, *Salmonella*, dan *Enterobacter* (Paterson dan Bonomo, 2005).

Resistensi terhadap sefalosporin generasi ketiga pada umumnya terjadi pada bakteri Gram negatif dengan menghasilkan enzim ESBL. Bakteri penghasil ESBL tidak hanya ditemukan di manusia, namun juga pada hewan ternak, dan di lingkungan sekitar hewan ternak (Umadevi *et al.*, 2011). Wittum *et al.*, (2010) menjelaskan adanya penghasil ESBL pada

sapi perah yang sehat dan daging di Amerika Serikat. Terdapat tiga gen utama pengkode ESBL yaitu TEM, SHV, dan CTX-M (Johns *et al.*, 2012). Ketiganya merupakan gen yang bertanggung jawab menghasilkan ESBL yang menghidrolisis antibiotik  $\hat{a}$ -laktam (Sana *et al.*, 2011). Gen ESBL berlokasi dalam plasmid yang dapat disebarkan dengan mudah antar dan intra spesies bakteri (Santos *et al.*, 2013).

Prevalensi bakteri penghasil ESBL pada manusia yang sehat berkisar antara 6 dan 7% (Luvsansharav *et al.*, 2011). Senyawa CTX-M juga merupakan tipe enzim yang sering muncul pada kejadian ESBL di peternakan dan rumah potong di Asia (30-33%). Prevalensi *E. coli* penghasil ESBL dari hasil penelitian yang dilakukan pada feses sapi perah di Jerman dilaporkan sebesar 60% (Friese *et al.*, 2013). Sementara itu Sukmawinata (2015) menunjukkan bahwa pada feses sapi potong di RPHR Kota Bogor, ditemukan *E. coli* penghasil ESBL sebanyak 19 sampel dari 120 sampel yang diperiksa (15,8%)

Manusia dapat terinfeksi bakteri resisten antibiotik melalui kontak langsung, mengkonsumsi daging tercemar dan berada pada lingkungan yang tercemar (FAO, 2011). Horton *et al.* (2011) menambahkan bahwa kontaminasi fekal merupakan faktor penting dalam penyebaran infeksi bakteri penghasil ESBL ke manusia. Gen ESBL dalam plasmid atau isolat *E. coli* penghasil ESBL dapat dideteksi pada hewan dan peternak (Dierikx *et al.*, 2013).

Tes fenotipik untuk deteksi ESBL hanya digunakan untuk mengkonfirmasi galur bakteri tersebut termasuk penghasil ESBL, namun tidak dapat mendeteksi sub tipe ESBL. Untuk mendeteksi sub tipe ESBL dapat dilakukan dengan teknik molekuler, salah satunya dengan teknik *Polymerase Chain Reactions* (Sharma *et al.*, 2010).

Berdasarkan atas pertimbangan masih

minimnya kajian deteksi gen bakteri penghasil ESBL pada feses sapi perah dan feses penduduk sekitar peternakan maka dilakukan penelitian dengan tujuan menganalisis prevalensi dan pola gen ESBL di antara sapi perah dan penduduk sekitar peternakan.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini adalah penelitian observasional analitik-komparatif dengan pendekatan *cross sectional*. Pengambilan sampel feses dilakukan dengan *swab steril*, kemudian dimasukkan ke dalam media transport *Amies*. Teknik pengambilan sampel subjek penelitian dilakukan dengan *Total sampling* yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi yang telah ditentukan. Total subjek penelitian berjumlah 49 sampel feses yaitu terdiri dari 25 feses sapi perah dan 24 feses penduduk sekitar peternakan yang tinggal disekitar peternakan sapi ( $\pm$  100 meter dari peternakan sapi perah) dengan rentang usia 17 hingga di atas 50 tahun.

### Identifikasi Bakteri Penghasil ESBL

Sampel dari media transport *Amies* ditanam pada Mac Conkey Agar yang mengandung *cefotaxime* (CTX) 1 mg/L. Kemudian dengan *ose*, dilakukan *streak* pada media tersebut untuk mendapatkan koloni yang terpisah. Setelah diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C, dilihat koloni yang tumbuh. Koloni yang tumbuh bermakna resisten terhadap *cefotaxime*, dan dicurigai sebagai bakteri penghasil ESBL. Selanjutnya dikonfirmasi sebagai bakteri penghasil ESBL.

### Konfirmasi secara Fenotipik Bakteri Penghasil ESBL

Konfirmasi ini dilakukan terhadap bakteri Gram negatif yang dicurigai sebagai penghasil ESBL (Schreckenberger dan Rekasius, 2007): membuat larutan 0,5 McFarland dari koloni yang tumbuh di MacConkey-CTX 1 mg/L agar, lalu ditanam secara merata pada Mueller Hinton Agar menggunakan lidi kapas steril, dibiarkan sekitar 15-30 menit dan kering lalu diletakkan disk Amoxicillin-Clavulanic Acid (AMC) (30/10 µg) ditengah lempeng agar. Lalu letakkan cakram berisi 30 mg Ceftazidime (CAZ), Ceftriaxone (CRO), Cefotaxime (CTX) dan Aztreonam (ATM) dengan jarak 15 mm dari AMC. Adanya peningkatan zona hambat antara salah satu *disk* beta lactam dan *disk* yang

mengandung asam klavulanat maka diinter prestasikan sebagai penghasil ESBL

### Uji Biokimia Bakteri Penghasil ESBL

Uji biokimia dilakukan untuk mendiagnosis spesies bakteri penghasil ESBL. Uji yang dilakukan adalah Uji *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), Indol, Uji *Methyl Red* (MR), Uji *Voges Proskauer* (VP (Voges Proskauer)), Uji sitrat, Uji Motilitas dan uji Urease. Dilakukan penanaman pada media tersebut dan dinilai hasilnya sesuai pedoman diagnosis (Tille, 2014)

### Konfirmasi Genotipik Menggunakan Polymerase Chain Reaction (PCR)

*Polymerase Chain Reaction* (PCR) dilakukan untuk mendeteksi adanya gen SHV, TEM, CTX-M. Multiple PCR digunakan dengan menggunakan primer dari tiap gen tersebut. Proses PCR dimulai dengan ekstraksi DNA : Satu koloni dipilih dengan *ose steril* dan dimasukkan ke dalam aquades steril 100 µL, Suspensi tersebut kemudian dipanasi pada suhu 100°C selama lima menit untuk melisiskan sel, sel yang sudah lisis kemudian disentrifugasi pada 10,000 rpm selama lima menit pada suhu ruang, Supernatan diambil sebagai *template* DNA sebanyak 15 µL, ekstrak DNA yang diperoleh disimpan pada suhu -20°C.

Amplifikasi gen SHV-: Campuran untuk reaksi PCR adalah 25 µL yang terdiri dari PCR Mastermix, 12,5 µL (0,5 U taq polymerase, 0,2 mM dNTP, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub> dan Buffer 1x), 1,25 µL untuk masing-masing primer dan 5 µL DNA bakteri. Kondisi PCR yang digunakan yaitu denaturasi awal 96°C selama lima menit diikuti dengan 35 siklus yang terdiri dari 96°C selama satu menit (denaturasi), 60°C selama satu menit (annealing) dan 72°C selama satu menit (ekstensi) dan diikuti dengan ekstensi akhir pada suhu 72°C selama 10 menit Primer yang digunakan adalah SHV-F 5'-GGTTATGCGTTATA TTCGCC-3' dan SHV-R 5'-TTAGGTTGCCAGTGCTC-3'. Besar produk ampikon yang dihasilkan yaitu 867 bp (Ferreira *et al.*, 2011)

Amplifikasi TEM-: Campuran untuk reaksi PCR adalah 25 µL yang terdiri dari PCR Mastermix, 12,5 µL (0,5 U taq polymerase, 0,2 mM dNTP, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub> dan Buffer 1x), 1,25 µL untuk masing-masing primer dan 5 µL DNA bakteri. Kondisi PCR yang digunakan yaitu denaturasi awal 96°C selama satu menit diikuti dengan 35 siklus yang terdiri dari 96°C selama satu menit (denaturasi), 58°C selama



satu menit (annealing) dan 72°C selama satu menit (ekstensi) dan diikuti dengan ekstensi akhir pada suhu 72°C selama 10 menit Primer yang digunakan adalah TEM-F 5'-ATGAGTATTCAACATTTCCG-3' dan TEM-R 5'-CTGACAGTTACCAATGCTTA-3'. Besar produk amplikon yang dihasilkan yaitu 867 bp (Ferreira *et al.*, 2011)

**Amplifikasi CTX-M-:** Campuran untuk reaksi PCR adalah 25 µL yang terdiri dari PCR Mastermix, 12,5 µL (0,5 U taq polymerase, 0,2 mM dNTP, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub> dan Buffer 1x), 1,25 µL untuk masing-masing primer dan 5 µL DNA bakteri. Kondisi PCR yang digunakan yaitu denaturasi awal 94°C selama tujuh menit diikuti dengan 35 siklus yang terdiri dari 96°C selama 50 detik (denaturasi), 50°C selama 40 detik (annealing) dan 72°C selama satu menit (ekstensi) dan diikuti dengan ekstensi akhir pada suhu 72°C selama 10 menit Primer yang digunakan adalah CTX-M-F 5'-ATGTGCAGYACCAGTAARGT-3' dimana R (purin), Y (pirimidin) dan S (untuk guanin dan cytosine) dan CTX-M-R 5'-TGGGTRAARTARCT SACCAGA-3'. Besar produk amplikon yang dihasilkan yaitu 593 bp (Ferreira *et al.*, 2011).

**Elektroforesis:** Produk hasil PCR divisualisasi dalam 1,5 % agarose gel. 0,4 gram bubuk agarose dilarutkan dalam 60 mL Tris-acetate (TAE) buffer pH 8,0 dengan cara dipanaskan dan diaduk hingga homogeny. Larutan agarose diangkat setelah mendidih dan dituang ke dalam tangki elektroforesis. Pada larutan agarose dipasang sisir sumuran dan didiamkan hingga agarose gel mengeras. Apabila agarose gel telah mengeras, sisir sumuran kemudian diambil. Pada tangki elektroforesis dituangkan larutan TAE (pH 8,0) hingga agarose gel terendam. Sebanyak 5 µL produk PCR diambil dan dicampur di atas parafilm. Sebagai penanda ukuran pita DNA, diambil 1 µL marker (DNA ladder 100 bp) diatas parafilm. Elektroforesis dilakukan pada voltase 100 selama ± 60 menit sampai indikator bromphenol blue dalam loading buffer bermigrasi mencapai bagian dasar gel. Setelah itu agarose gel diangkat dan direndam dalam larutan pewarna Ethidium Bromida (0,5 µg/mL) dan diinkubasi di tempat gelap selama 10 menit dan di goyang-goyang pada shaker. Agarose gel kemudian di cuci dengan air mengalir. Agarose gel diamati di bawah lampu UV Transilluminator pada panjang gelombang 360 nm dan diamati pita DNA.

#### Analisis Data

Hasil penelitian akan disajikan dalam

bentuk tabel. Analisis data dilakukan dengan menggunakan Uji Chi Square (jika memenuhi syarat) atau jika tidak memenuhi syarat maka dilakukan Uji Fisher Exact. Uji statistika dilakukan dengan program SPSS versi 22

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari 25 sapi dan 24 penduduk sekitar peternakan yang diperiksa fesesnya menunjukkan sebanyak tujuh sapi dan lima penduduk tidak tumbuh, artinya tidak ada bakteri penghasil ESBL. Pada Sedangkan 18 sapi dan 19 penduduk sekitar, menunjukkan adanya bakteri penghasil ESBL. Bakteri penghasil ESBL meliputi *Escherichia E. coli* sebanyak 35 isolat terdiri dari 18 isolat (72%) di feses sapi perah dan 17 isolat (70,8%) di feses penduduk sekitar peternakan. *Klebsiella pneumoniae* sebanyak satu isolate (4,2%) di feses penduduk sekitar peternakan dan *Enterobacter aerogenes* sebanyak satu isolat (4,2%) di feses penduduk sekitar peternakan. Bakteri *E. coli* banyak ditemukan sebagai bakteri penghasil ESBL baik pada sapi perah maupun penduduk sekitar peternakan, karena *E. coli* sebagai bakteri komensial usus yang terdistribusi baik pada hewan maupun manusia sebagai bacterial host (Woerther *et al.*, 2013).

Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa bakteri penghasil ESBL *E. coli* telah tersebar merata baik pada hewan maupun manusia. Sumber penyebaran ESBL pada penelitian ini sulit ditentukan, karena prevalensi pada kedua asal sampel yang sama tingginya, sehingga terdapat kemungkinan baik sapi perah maupun penduduk sekitar peternakan saling menularkan antar individu di dalam sampel tersebut.

Hal ini sesuai dengan laporan penelitian Price *et al.* (2007), Hewan penghasil pangan telah dikenal sebagai reservoir bagi bakteri penghasil ESBL dan mampu menyebarkan bakteri yang bersifat resisten terhadap antibiotik melalui feses. Bakteri resisten yang terkandung dalam feses hewan dapat bermigrasi di lingkungan sekitar peternakan. Beberapa jalur kontaminasi bakteri resisten terhadap antibiotik yang berkembang di peternakan, industri produksi pangan asal hewan atau di rumah potong hewan di antaranya pekerja yang telah terinfeksi oleh bakteri resisten yang berpotensi menyebarkan bakteri tersebut ke lingkungan atau orang di sekitarnya, air yang terdapat di industri yang telah terkontaminasi

oleh bakteri resisten, dan melalui udara selama transportasi hewan. Prevalensi tinggi pada *E. coli* penghasil ESBL pada hewan dan manusia, menunjukkan bahwa bakteriofag mungkin memegang peranan penting untuk transfer horisontal dari antibiotik (Muniesa *et al.*, 2013).

Hasil pemeriksaan gen pengkode ESBL, menunjukkan bahwa tidak ditemukan gen SHV pada feses sapi perah dan ditemukan sebanyak enam (25%) gen SHV pada penduduk sekitar peternakan, tiga (12%) gen TEM pada sapi perah dan empat (16,7%) pada penduduk sekitar peternakan serta 18 (72%) gen CTX-M pada sapi perah dan 16 (66,7%) pada penduduk sekitar peternakan (Tabel 1)

Sebanyak tiga sapi perah mengandung dua gen yaitu gen TEM+CTX-M sedangkan sebanyak delapan orang mengandung dua gen yaitu gen SHV+TEM = satu orang, SHV+CTX-M = empat orang, TEM+CTX-M = dua orang dan yang mengandung tiga gen SHV+TEM+CTX-M = satu orang.

Gen SHV pada penelitian ini hanya terdapat pada sampel feses penduduk sekitar peternakan hal ini kemungkinan karena gen SHV dapat ditularkan lewat makanan seperti laporan penelitian oleh Greko (2009), manusia bisa tercemar gen pengkode resistansi ESBL melalui makanan. Varian SHV telah terdeteksi pertama kali pada sayuran di Switzerland dengan bla SHV-12. Selain itu menurut Stefani *et al.* (2014) menambahkan bahwa analisis molekuler menunjukkan enzim yang paling dominan adalah CTX-M-1 dan TEM-15. CTX-M juga merupakan tipe enzim yang sering muncul pada kejadian ESBL di peternakan dan rumah potong di Asia (30-33%). Sifat dari TEM adalah dapat terekspresi bersama dengan CTX-M membentuk ESBL. Di seluruh dunia jenis gen CTX-M memiliki sifat terbanyak dibandingkan dengan gen TEM dan gen SHV.

Pada Gen TEM dan gen CTX-M pada feses sapi perah dan feses penduduk sekitar peternakan ada persamaan prevalensi dan pola genotifnya. Seperti pada laporan hasil penelitian di China bahwa distribusi epidemiologi gen CTX-M sebanding antara hewan dan manusia di China (Zheng *et al.*, 2011). Transfer gen-gen dari manusia ke hewan (atau sebaliknya) telah menjadikan laporan penting dari waktu ke waktu, dan gen ESBL sering terletak di plasmid (Carattoli, 2009) yang dengan mudah menular dalam atau antara spesies bakteri yang berbeda. Bahkan telah dilaporkan kesamaan gen genetik tersebut, plasmid terdeteksi di kedua manusia dan hewan (Madec *et al.*, 2012). Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa manusia yang mempunyai kontak langsung dengan hewan membawa galur yang sama atau strain dengan plasmid yang sama, hal ini karena adanya perpindahan plasmid secara horisontal antar kelompok (Dierikx *et al.*, 2013).

Pada penelitian ini juga ditemukan gen kombinasi TEM+CTX-M, SHV+TEM, SHV+CTX-M dan SHV+TEM+CTX-M, Hal ini sama dengan penelitian yang dilakukan oleh Dagi *et al.* (2015) menemukan sebanyak 8% memiliki gen CTX-M dan 77,4% memiliki gen gabungan TEM dan CTX-M. Hal ini karena plasmid yang mengkode gen CTX-M merupakan tipe plasmid IncFII yang merupakan plasmid besar, di samping juga menyandi gen resisten terhadap antibiotik golongan lain (Rao., 2012). Sebagian gen CTX-M yang ditemukan terkait dengan plasmid IncFII atau IncI1. Jenis plasmid IncFII yang paling umum adalah F2: A-: B-, yang juga telah ditemukan dikaitkan dengan gen bla CTX-M pada isolat *Enterobacteriaceae* dari negara lain (Zheng *et al.*, 2011). Gen CTX-M yang ditemukan pada isolat lain terdapat di dalam plasmid yang memiliki kemampuan menyebar yang sangat tinggi (*highly transmissible*

Tabel 1. Distribusi gen pengkode ESBL di feses sapi perah dan feses penduduk sekitar peternakan di Surabaya.

Nama gen		Sapi perah (n=25)	Penduduk sekitar (n=24)	Total negatif	Total positif
SHV	Pos	0	6 (25%)	43	6
	Neg	25 (100%)	18 (75%)		
TEM	Pos	3 (12%)	4 (16,7%)	42	7
	Neg	22 (88%)	20 (83,3%)		
CTX-M	Pos	18 (72%)	16 (66,7%)	15	34
	Neg	7 (28%)	8 (43,3%)		
Total gen		21 gen	26 gen	100 gen	47 gen

*plasmids*) sehingga resistensi menyebar dengan sangat cepat dan efisien. Bakteri yang mengekspresikan CTX-M sebagian besar merupakan bakteri *co-resistance* atau multiresisten (Livermore dan Brown, 2005). Gen pembentuk TEM dan SHV ditemukan pada elemen genetik yang *mobile* yaitu plasmid sehingga mudah disebarkan (Livermore dan Brown, 2005). Caratolli (2009) menambahkan bahwa gen CTX-M juga berasosiasi dengan gen TEM, OXA dan *aac*-(6)*lbr* pada plasmid IncFII, yang membawa lebih dari satu *replicon*. Pada gen CTX-M memiliki *insertion sequence* yang mengandung *strong promotor* dan banyak ditemukan pada isolat klinis.

### SIMPULAN

Berdasarkan hasil isolasi dan identifikasi serta deteksi gen SHV, TEM dan CTX-M, dapat disimpulkan sebagai berikut: sebesar 72% feses sapi perah mengandung bakteri penghasil *Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL), sedangkan feses penduduk sekitar peternakan di Surabaya, sebanyak 79,1% mengandung bakteri penghasil ESBL. Prevalensi bakteri penghasil ESBL di sapi perah dan penduduk sekitarnya sangat tinggi dan berpotensi sebagai sumber penular penyakit infeksi

Gen ESBL tersering adalah CTX-M, disusul TEM dan paling sedikit SHV. Baik pada sapi perah maupun penduduk sekitar peternakan, dalam satu bakteri bisa berisi dua jenis atau tiga jenis gen ESBL.

### SARAN

Guna menurunkan prevalensi bakteri penghasil ESBL diharapkan baik peternak sapi perah dan manusia untuk bijak dalam penggunaan antibiotik terutama golongan beta laktam. Keberadaan gen SHV, TEM dan CTX-M pada feses sapi perah dan penduduk sekitar peternakan perlu dilakukan pemeriksaan lebih lanjut, misalnya sekuensing untuk mengetahui asal penyebaran gen ESBL di manusia dan peternakan.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada pihak Institute of Tropical

Disease (ITD) Universitas Airlangga Surabaya yang telah mengizinkan dalam pemeriksaan genotipik dengan metode PCR.

### DAFTAR PUSTAKA

- Bauman RW. 2015. *Microbiology with Diseases by Body Systems*. 4th ed. Benjamin-Cummings Publishing Company
- Bradford PA. 2001. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in the 21<sup>st</sup> century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol* 14: 933-951
- Carattoli A. 2009. Resistance plasmid families in Enterobacteriaceae. *Antimicrob. Agents Chemother* 53: 2227-2238.
- Dagi HT, Al-Dulaimi AA, Kus H, Seyhan T, Findik D, Tuncer I, Arslan U. 2015. Genotype distribution of extended spectrum  $\beta$ -lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Biomed Res* 26(2): 235-238.
- Dierikx CM. 2013.  $\beta$ -lactamases in Enterobacteriaceae in broiler (*Tesis*). Utrecht (NL): GVO (Internet). (diunduh 2017 Feb 22). Tersedia pada: <http://dspace.library.uu.nl/handle/1874/275609>
- FAO (Food and Agriculture Organization). 2011. Antibiotics in farm animal production. Public health and animal welfare. *FAO* (Internet). (diunduh 2017 Feb 22). Tersedia pada: [http://www.fao.org/fileadmin/user\\_upload/animal\\_welfare/antibiotics\\_in\\_animal\\_farming.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/animal_welfare/antibiotics_in_animal_farming.pdf)
- Motta FC, Ferreira WA, Almeida NCOS, Naveca FG, Barbosa MG. 2011. Extended spectrum beta lactamase producing bacteria isolated from hematologic patients in Manaus, state of Amazonas, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology* 42: 1076-1084
- Friese A, Schulz J, Laube H. 2013. Faecal occurrence and emissions of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (laMRSA) and ESBL/AmpC-producing *E. coli* from animal farms in Germany. *Berl. Munch. Tier-arztl. Wochenschr* 126: 175-180

- Christina G. 2009. Reflection paper on the use of third and fourth generation cephalosporins in food producing animals in the European Union: development of resistance and impact on human and animal health. *J Vet Pharmacol Therap* 32: 515-533
- Horton RA, Randall LP, Snary EL. 2011. Fecal carriage and shedding density of CTX-M extended spectrum  $\beta$ -lactamase producing *Escherichia coli* in cattle, chickens, and pigs: implications for environmental contamination and food production. *Appl Environ Microbiol* 77(11): 3715-3719
- Livermore DM, Brown DFJ. 2005. Detection of  $\beta$ -lactamase-mediated resistance. *BSAC* [Internet]. [diunduh 2017 Feb 22]. Tersedia pada: [http://bsac.org.uk/wp-content/uploads/2012/02/Chapter\\_6.pdf](http://bsac.org.uk/wp-content/uploads/2012/02/Chapter_6.pdf).
- Luvsansharav UO, et al. 2011. Prevalence of fecal carriage of extended spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* among healthy adult people in Japan. *J Infect Chemother* 17(5): 722-725.
- Maded JY, Poirel L, Saras E, Gourguechon A, Girlich D, Normann P, Haenni M. 2012. Non-ST131 *Escherichia coli* from cattle harbouring human-like bla(CTX-M-15)-carrying plasmids. *J Antimicrob Chemother* 67: 578-581.10.1093/jac/dr542
- Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE, Dolin R. 2010.. *Enterobacteriaceae*. In *Principles and practice of infectious diseases*. 7th ed. New York. Elsevier, Churchill Livingstone. Hlm. 2815-2833
- Mirelis B, Navarro F, Miro' E. 2003. Community transmission of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase. *Emerg Infect Dis* 9: 1024-1025
- Muniesa M, Colomer-Lluch M, Jofre, J. 2013. Potential impact of environmental bacteriophages in spreading antibiotic resistance genes. *Future Microbiol* 8: 739-751.
- Paterson DL, Bonomo RA. 2005. Extended spectrum beta-lactamase: a clinical update. *Clin Microbiol* 18(4): 657-686
- Price LB, Graham JP, LackPrice LB, Graham JP, Lackey LG, Roess A, Vailes R, Silbergeld E. 2007. Elevated risk of carrying gentamicin-resistant *Escherichia coli* among US. poultry workers. *Environ Health Perspect*. 115(12):1738-1742. ey LG, Roess A, Vailes R, Silbergeld E. 2007. Elevated risk of carrying gentamicin-resistant *Escherichia coli* among US. poultry workers. *Environ Health Perspect* 115(12): 1738-1742.
- Rao S. 2012. CTX-M  $\beta$ -lactamases. (Internet). (diunduh 2017 Feb 22). Tersedia pada: [www.microrao.com/micronotes/pg/ctx-m-beta-lactamases.pdf](http://www.microrao.com/micronotes/pg/ctx-m-beta-lactamases.pdf).
- Sana T, Rami K, Racha B, Fouad D, Marcel A, Hassan M, Sani H, Monzer H. 2011. Detection of genes TEM, OXA, SHV and CTX-M in 73 clinical isolates of *Escherichia coli* producers of extended spectrum beta-lactamase and determination of their susceptibility to antibiotics. *iMedPub Journals* 1(1): 1-5
- Santos LL, Moura RA, Agilar-Ramires P, Castro AP, Lincopan N. 2013. Current status of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL)-producing *Enterobacteriaceae* in animals. *Formatex* 3: 1600-1607
- Schjørring S, Krogfelt KA. 2011 'Assessment of bacterial antibiotic resistance transfer in the gut', *International Journal of Microbiology*, Article ID 312956, 10 Hlm. <http://dx.doi.org/10.1155/2011/312956>
- Schreckenberger P, Rekasius V. 2007. Prosedure double disk diffusion confirmation of ESBL. Loyola University Medical Center. Hlm. 1-7
- Sharma J, Sharma M, Ray, P. 2010. Detection of TEM & SHV genes in *Escherichia coli* & *Klebsiella pneumoniae* isolates in a Tertiary Care Hospital from India. *Indian J Med Res* 132: 332-336
- Stefani S, Giovanelli I, Anacarso I, Condò C, Messi P, Niederhäusern S, Bondi M, Iseppi R, Sabia C. 2014. Prevalence and characterization of extended spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in food-producing animals in Northern Italy. *New Microbiol* 37: 551-555
- Sukmawinata E. 2015. Tingkat kejadian *Escherichia coli* penghasil *Extended spectrum  $\beta$ -lactamase* di feses sapi di rumah potong hewan ruminansia Kota Bogor. (Tesis). Bogor. Institut Pertanian Bogor
- Tille PM. 2014. *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology*. 13<sup>th</sup>. Mosby, Inc., an affiliate of Elsevier Inc. Riverport Lane St. Louis, Missouri 63043

- Umadevi S, Kandhakumari G, Joseph NM, Kumar S, Easow JM, Stephen S, Singh UK. 2011. Prevalence and antimicrobial susceptibility pattern of ESBL producing Gram negative bacilli. *J Clin Diagnos Res* 5(2): 236-239
- Wittum TE, Mollenkopf DF, Daniels JB, Parkinson AE Mathews JL, Fry PR, Abley MJ, Gebreyes WA. 2010. CTXM-type expanded-spectrum b-lactamases present in *Escherichia coli* from the feces of cattle in Ohio, United States. *Foodborne Pathog Dis* 7:1575-1579
- Woerther PL, Burdet C, Chachaty E, Andremont A. 2013. Trends in human fecal carriage of extended spectrum/  $\beta$ -lactamases in the community: Toward the globalization of CTXM. *Clinical Microbiology Reviews* 26(4): 744-758
- Hongqing Z, Zeng Z, Chen S. 2011. Prevalence and characterisation of CTX-M<sub>15</sub>-lactamases amongst *Escherichia coli* isolates from healthy food animals in China. 0924-8579/\$— see front matter © Elsevier BV, and the International Society of Chemotherapy. All rights reserved. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2011.12.001