

TESIS

IDENTIFIKASI GEN *bla*_{TEM} PENYANDI *EXTENDED SPECTRUM BETA LACTAMASE* (ESBL) DAN GEN *stx-2* PENYANDI TOKSIN SHIGA PADA *Escherichia coli* YANG DIISOLASI DARI DAGING SAPI SEGAR DI PASAR TRADISIONAL KOTA SURABAYA

PENELITIAN EKSPLORATIF LABORATORIK



Oleh :

LAILATUL MAGHFIROH
NIM. 062014253001

**PROGRAM STUDI MAGISTER
ILMU PENYAKIT DAN KESEHATAN MASYARAKAT VETERINER
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

TESIS

IDENTIFIKASI GEN *bla*_{TEM} PENYANDI *EXTENDED SPECTRUM BETA LACTAMASE* (ESBL) DAN GEN *stx-2* PENYANDI TOKSIN SHIGA PADA *Escherichia coli* YANG DIISOLASI DARI DAGING SAPI SEGAR DI PASAR TRADISIONAL KOTA SURABAYA

PENELITIAN EKSPLORATIF LABORATORIK



Oleh :

LAILATUL MAGHFIROH
NIM. 062014253001

**PROGRAM STUDI MAGISTER
ILMU PENYAKIT DAN KESEHATAN MASYARAKAT VETERINER
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

IDENTIFIKASI GEN *bla*_{TEM} PENYANDI *EXTENDED SPECTRUM BETA LACTAMASE* (ESBL) DAN GEN *stx-2* PENYANDI TOKSIN SHIGA PADA *Escherichia coli* YANG DIISOLASI DARI DAGING SAPI SEGAR DI PASAR TRADISIONAL KOTA SURABAYA

PENELITIAN EKSPLORATIF LABORATORIK

TESIS

untuk memperoleh gelar Magister
dalam Program Studi Ilmu Penyakit dan Kesehatan Masyarakat Veteriner
pada Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga
Surabaya

LAILATUL MAGHFIROH
NIM. 062014253001

**PROGRAM STUDI MAGISTER
ILMU PENYAKIT DAN KESEHATAN MASYARAKAT VETERINER
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam Tesis berjudul :

IDENTIFIKASI GEN *bla*TEM PENYANDI *EXTENDED SPECTRUM BETA LACTAMASE* (ESBL) DAN GEN *stx-2* PENYANDI TOKSIN SHIGA PADA *Escherichia coli* YANG DIISOLASI DARI DAGING SAPI SEGAR DI PASAR TRADISIONAL KOTA SURABAYA

tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar Magister di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuann saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surabaya, 12 Oktober 2022



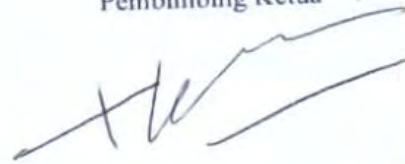
Lailatul Maghfiroh

NIM. 062014253001

LEMBAR PENGESAHAN

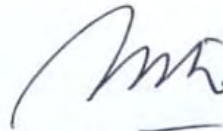
TESIS INI TELAH DISETUJUI
Tanggal 23 November 2022

Oleh:
Pembimbing Ketua



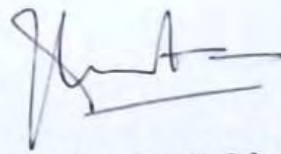
Prof. Dr. Mustofa Helmi Effendi, drh., DTAPH.
NIP. 196201151988031002

Pembimbing Serta



Dr. Wiwiek Tyasningsih, drh., M.Kes.
NIP. 196203281988032001

Mengetahui,
Ketua Program Studi Ilmu Penyakit dan Kesehatan Masyarakat Veteriner
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga



Dr. Eka Pramyrtha Hestianah, drh., M.Kes.
NIP. 196403161990022001

Usulan Penelitian Tesis ini telah disetujui dan dinilai pada
Tanggal : 2 Februari 2022

PANITIA PENGUJI USULAN PENELITIAN TESIS

Ketua : Prof. Dr. Mustofa Helmi Effendi, drh., DTAPH.
Anggota : 1. Dr. Dadik Raharjo, drh., M.Kes.
2. Prof. Dr. Suwarno, drh., M.Si.
3. Drh. Yuliana Puspitasari, MVSc., Ph.D.
4. Dr. Wiwiek Tyasningsih, drh., M.Kes.

Tesis ini telah diuji dan dinilai pada
Tanggal : 15 November 2022

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Dr. Dadik Raharjo, drh., M.Kes.
Anggota : 1. Prof. Dr. Suwarno, drh., M.Si.
2. Drh. Yuliana Puspitasari, MVSc., Ph.D.
3. Prof. Dr. Mustofa Helmi Effendi, drh., DTAPH.
4. Dr. Wiwiek Tyasningsih, drh., M.Kes.

Surabaya, 23 November 2022

Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Airlangga

Dekan,



Prof. Mirni Lami, drh., M.P.
NIP. 19620118199203200

UCAPAN TERIMA KASIH

Bismillahirrahmanirrahim

Alhamdulillah, puji syukur kepada Allah SWT., karena rahmat dan ridha-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan Tesis yang berjudul **IDENTIFIKASI GEN *bla*_{TEM} PENYANDI *EXTENDED SPECTRUM BETA LACTAMASE* (ESBL) DAN GEN *stx-2* PENYANDI TOKSIN SHIGA PADA *Escherichia coli* YANG DIISOLASI DARI DAGING SAPI SEGAR DI PASAR TRADISIONAL KOTA SURABAYA**. Penulis menyadari Tesis ini tidak akan selesai tanpa doa, dukungan dan dorongan dari banyak pihak. Adapun dalam kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

Rektor Universitas Airlangga, Prof. Dr. Mohammad Nasih, S.E., M.T., Ak. dan Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Prof. Dr. Mirni Lamid, drh., MP. atas kesempatan yang diberikan kepada saya untuk dapat menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Surabaya. Dr. Eka Pramytha Hestianah, drh., M.Kes. selaku Ketua Program Studi Ilmu Penyakit dan Kesehatan Masyarakat Veteriner yang selalu memberikan arahan dan bimbingan kepada saya selama menempuh pendidikan Magister di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Surabaya.

Prof. Dr. Mustofa Helmi Effendi, drh., DTAPH. selaku pembimbing utama, dan Dr. Wiwiek Tyasningsih, drh., M.Kes. selaku pembimbing serta atas waktu, ilmu, arahan serta bimbingannya sehingga saya dapat menyelesaikan penelitian dan tesis ini. Dr. Dadik Raharjo, drh., M.Kes. selaku ketua penguji, Prof. Dr. Suwarno, drh., M.Si. selaku sekretaris penguji, dan Drh. Yuliana Puspitasari, MVSc., Ph.D selaku anggota penguji atas saran dan kritik membangun yang telah diberikan kepada saya guna meningkatkan kualitas penulisan maupun substansi pada tesis ini.

Seluruh staf pengajar S2 Ilmu Penyakit dan Kesehatan Masyarakat Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas bimbingan, pendidikan dan pengarahan yang diberikan selama saya menempuh pendidikan Magister. Mas Deny petugas Lab. Bakteriologi dan Mikologi Divisi Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas bantuannya selama saya melaksanakan penelitian di Laboratorium.

Lembaga Pengelola Dana Pendidikan (LPDP) Kementerian Keuangan RI atas kesempatan beasiswa yang diberikan kepada saya sehingga saya dapat menempuh pendidikan Strata 2 seperti yang saya impikan selama ini guna untuk mencapai cita-cita saya. Semoga dengan kesempatan berkuliah magister ini dapat menjadi satu anak tangga yang menghantarkan saya lebih dekat untuk sampai pada cita-cita yang selama ini saya perjuangkan dan ingin saya raih. Serta, semoga segala ilmu yang saya peroleh semasa mengenyam pendidikan magister ini, dapat menjadi ilmu yang bermanfaat serta berguna bagi diri saya, masyarakat dan bangsa Indonesia.

Bapak Chabib dan Ibu Chomsah (Almh) terkasih, atas segala kebaikannya mendoakan dan mengikhtiarkan sehingga saya dapat menempuh pendidikan hingga Magister. Bapak Rebat dan Ibu Luthfiyah terkasih, atas segala kebaikannya mendukung dan membesarkan saya hingga saat ini. Kepada

Muchammad Chabib, suami tercinta, atas segala kebaikannya mendampingi dan mendukung segala cita-cita saya. Serta, bayi mungil kami yang baru saja lahir pada 11 Mei 2022, Fashihah Al Hafidzah, atas segala kebaikannya, mendampingi bunda sejak dalam kandungan selama proses penulisan proposal tesis, melaksanakan penelitian di Lab hingga hasil penulisan tesis selesai. Semoga kelak ananda dapat menjadi insan yang shalihah, ahli ilmu, berwawasan dan bermanfaat luas serta senantiasa terjaga.

Teman-teman seperjuangan, drh. Farah Fannisa, drh. Daniah Asri Afnani, drh. Nurullah Fatih, atas dukungan, dorongan, serta semangat kebersamaan dalam menjalani pendidikan Magister di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Teman-teman ADPRC-OHCC, Firdausy Kurnia Maulana, drh., Msi., Siti Shofiya Novitasari, SKM., M.Epid., Annisa Vivianti, drh., Asma Nadia dan Laura atas dorongan, bantuan serta semangat yang selalu diberikan kepada penulis.

Penulis mengakui bahwa tulisan ini masih kurang dan jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang akan membantu dalam perbaikan tesis ini. Dengan kerendahan hati, penulis berharap agar hasil penelitian ini bermanfaat untuk kemajuan ilmu pengetahuan dan dapat memberi kontribusi pada bidang kedokteran hewan, kedokteran manusia dan semua pihak yang membutuhkannya.

Surabaya, 12 Oktober 2022

Penulis

RINGKASAN

Identifikasi Gen *bla*_{TEM} Penyandi *Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL) dan Gen *stx-2* Penyandi Toksin Shiga pada *Escherichia coli* yang Diisolasi dari Daging Sapi Segar di Pasar Tradisional Kota Surabaya

Kesehatan merupakan salah satu sektor prioritas pemerintah. Namun pada abad 21, kejadian resistensi antimikroba semakin meluas pada manusia, hewan maupun lingkungan dan menjadi permasalahan bagi kesehatan masyarakat. Salah satu bakteri yang berperan pada kasus AMR adalah *Escherichia coli*. *Escherichia coli* digunakan sebagai bioindikator dari resistensi antimikroba karena menghasilkan enzim *Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL) dan salah satu gen penyandi ESBL yang paling banyak ditemukan yaitu *bla*_{TEM}. Selain memiliki resiko sebagai penyebab AMR, *Escherichia coli* juga dapat menjadi penyebab *foodborne disease*. Hal ini disebabkan karena *Escherichia coli* memiliki beberapa strain patogen yang menyebabkan penyakit salah satunya *Shiga Toxin producing Escherichia coli* (STEC). Salah satu gen pengkode STEC yang banyak ditemukan pada pangan asal hewan yaitu *stx2*.

Daging sapi merupakan salah satu sumber pangan asal hewan yang penting bagi masyarakat, utamanya untuk memenuhi kebutuhan protein hewani. Daging yang mengandung nutrisi lengkap menjadikannya media baik bagi pertumbuhan bakteri, termasuk *Escherichia coli*. Adanya *Escherichia coli* pada daging memperparah kejadian infeksi pada manusia karena dapat mentransmisikan agen infeksius dan penyakit pada pangan asal hewan ketika pengolahan, persiapan atau ketika dikonsumsi oleh konsumen. Dilaporkan bahwa daging sapi segar yang dijual di pasar dapat menjadi transmisi ESBL maupun STEC dari hewan ke manusia. Berdasarkan latar belakang diatas, maka tujuan dari penelitian ini yaitu mendeteksi adanya gen *bla*_{TEM} penyandi ESBL dan *stx2* penyandi toksin shiga pada *Escherichia coli* yang diisolasi dari daging sapi segar di Pasar Tradisional Kota Surabaya.

Pada penelitian ini, sampel diambil dengan cara swab pada seluruh permukaan daging sapi segar yang dibeli dari kios pedagang di pasar tradisional Kota Surabaya yang tidak terjaga kebersihannya. Kemudian sampel swab diinokulasikan pada media isolasi seperti *Buffered Peptone Water* (BPW), *Brilliant Green-bile Lactose Broth* (BGLB), dan *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA). Sampel kemudian diidentifikasi dengan pewarnaan Gram dan uji biokimiawi IMViC (*Indol*, *Methyl red*, *Voges-Proskauer* dan *Citrate*) untuk memastikan fenotip isolat *Escherichia coli*. Hasil penelitian menunjukkan adanya 68 isolat *Escherichia coli* dari 150 sampel daging sapi segar di Pasar Tradisional Kota Surabaya (45,3%). Hasil ini membuktikan bahwa terdapat resiko kontaminasi *Escherichia coli* dari lingkungan pada daging sapi segar di pasar Tradisional Kota Surabaya yang dapat membahayakan kesehatan masyarakat. Selanjutnya, isolat *Escherichia coli* diuji sensitivitas antibiotika untuk mengetahui pola resistensinya menggunakan metode *disc diffusion Kirby-Bauer* menggunakan lima jenis antibiotika berbeda. Hasilnya menunjukkan bahwa isolat *Escherichia coli* memiliki sensitivitas terhadap antibiotik Aztreonam sebesar 100%, *Ampicillin*

73,5%, *Tetracycline* 75%, *Gentamycin* 95% dan *Ciprofloxacin* 95%. Terdapat 5,8% (4/68) isolat *Escherichia coli* multidrug resistance (MDR). Kemudian terdapat delapan pola resistensi yang dihasilkan yaitu AMP, TE, GM, CIP, AMP-TE, TE-GM, AMP-TE-GM, dan AMP-TE-GM-CIP. Isolat *Escherichia coli* mengalami resistensi paling besar terhadap antibiotik *Ampicillin* yaitu 19,1% (13/68). Hasil ini disebabkan karena bakteri Gram negatif memiliki enzim beta laktamase yang mampu menghidrolisis antibiotik golongan beta laktam, termasuk antibiotik golongan Penisilin. Kemudian, 13 isolat yang mengalami resistensi terhadap antibiotik *Ampicillin* dilanjutkan dengan deteksi gen *bla_{TEM}* penyandi ESBL dan *stx2* penyandi toksin shiga. Metode yang digunakan yaitu *Polymerase Chain Reaction* (PCR), yang merupakan pemeriksaan molekuler untuk mendeteksi suatu gen tertentu dengan cepat, tepat dan akurat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat 7 isolat *Escherichia coli* penghasil enzim beta laktamase yang memiliki gen *bla_{TEM}* penyandi ESBL dan tidak terdapat isolat *Escherichia coli* penghasil enzim beta laktamase yang memiliki gen *stx2* penyandi toksin shiga. Hasil ini membuktikan bahwa *Escherichia coli* yang diisolasi dari daging sapi segar di Pasar Tradisional Kota Surabaya berpotensi menjadi sumber penularan ESBL dan AMR di masyarakat. Melalui penelitian ini diharapkan *public awarness* masyarakat di bidang *food safety* dapat meningkat.

SUMMARY

Identification of *bla*_{TEM} Gene Encoding Extended Spectrum Beta Lactamase (ESBL) and *stx-2* Gene Encoding Shiga toxin on *Escherichia coli* Isolated from Fresh Beef at Traditional Market in Surabaya

Health is one of the government's priority sectors. But in the 21st century, the incidence of antimicrobial resistance (AMR) is increasingly widespread in humans, animals and the environment, and becomes a problem for public health. One of the bacteria that plays a role in AMR cases is *Escherichia coli*. *Escherichia coli* is used as a bioindicator of antimicrobial resistance because it produces the Extended Spectrum Beta Lactamase (ESBL) enzyme and one of the most common ESBL encoding genes, *bla*_{TEM}. In addition to having a risk as a cause of AMR, *Escherichia coli* can also be a cause of foodborne disease. This is because *Escherichia coli* has several strains of disease-causing pathogens, one of which is Shiga Toxin produced by *Escherichia coli* (STEC). One of the STEC coding genes found in foods of animal origin is *stx2*.

Beef is one of the important sources of food of animal origin for the community, especially to meet the needs of animal protein. Beef that contains complete nutrition makes it a good medium for the growth of bacteria, including *Escherichia coli*. The presence of *Escherichia coli* in beef exacerbates the incidence of infection in humans because it can transmit infectious agent and disease in food from animal origin during processing, preparation or when consumed by consumers. Fresh beef sold in the market is reported to transmit ESBL and STEC from animals to humans. Based on the above background, the purpose of this study was to detect the presence of the *bla*_{TEM} gene encoding ESBL and the shiga toxin encoding *stx2* on *Escherichia coli* isolated from fresh beef at Traditional Market in Surabaya.

In this study, samples were taken by swab on all surfaces of fresh beef purchased from stalls in traditional market in Surabaya that were not kept the hygiene and sanitation and then swab sample inoculated on isolation media such as Buffered Peptone Water (BPW), Brilliant Green-bile Lactose Broth (BGLB), and Eosin Methylene. Blue Agar. (EMBA). The samples were then identified by Gram staining and IMViC biochemical assay (Indol, Methyl red, Voges-Proskauer and Citrate) to confirm the phenotype of *Escherichia coli* isolates. The results showed that there were 68 isolates of *Escherichia coli* from 150 samples of fresh beef at Traditional Market in Surabaya (45.3%). These results prove that there is a risk of *Escherichia coli* contamination from the environment in fresh beef in Traditional Market which can endanger public health. Furthermore, isolates of *Escherichia coli* were tested for antibiotic sensitivity to determine the pattern of resistance using the Kirby-Bauer disk diffusion method using five different types of antibiotics. The results showed that *Escherichia coli* isolates had a sensitivity to antibiotics Aztreonam by 100%, Ampicillin 73.5%, Tetracycline 75%, Gentamycin 95% and Ciprofloxacin 95%. There were 5.8% (4/68) isolates of *Escherichia coli* multidrug resistance (MDR). Then, there were eight resistance patterns produced, namely AMP, TE, GM, CIP, AMP-TE,

TE-GM, AMP-TE-GM, and AMP-TE-GM-CIP. *Escherichia coli* isolates had the greatest resistance to the antibiotic Ampicillin, which was 19.1% (13/68). This result was caused by Gram negative bacteria which have beta lactamase enzymes which are able to hydrolyze beta lactam antibiotics, including Penicillin class antibiotics. Then, 13 isolates that were resistant to the antibiotic Ampicillin were continued with the detection of the *bla*_{TEM} gene encoding ESBL and *stx2* encoding the shiga toxin. The method used is Polymerase Chain Reaction (PCR), which is a molecular examination to detect a certain gene quickly, precisely and accurately. The results showed that there were 7 *Escherichia coli* isolates that produce beta-lactamase enzyme had the *bla*_{TEM} gene encoding ESBL and no *Escherichia coli* isolates that produce beta-lactamase enzyme had the *stx2* gene encoding the shiga toxin. These results prove that *Escherichia coli* isolated from fresh beef at Traditional Markets in Surabaya have the potential to be a source of ESBL and AMR transmission in the community. Through this research, it is hoped that public awareness in the field of food safety can increase.

IDENTIFICATION OF *bla*_{TEM} GENE ENCODING EXTENDED SPECTRUM BETA LACTAMASE (ESBL) AND *stx2* GENE ENCODING SHIGA TOXIN ON *Escherichia coli* ISOLATED FROM FRESH BEEF AT TRADITIONAL MARKET IN SURABAYA.

Lailatul Maghfiroh

ABSTRACT

The aim of this study was to detect the presence of the *bla*_{TEM} gene encoding ESBL and the *stx2* encoding shiga toxin on *Escherichia coli* isolated from fresh beef at Traditional Market in Surabaya. The sample is a swab on the surface of fresh beef purchased from several traditional markets in Surabaya. The results showed that there were 68 isolates of *Escherichia coli* from 150 fresh beef samples at the Surabaya Traditional Market (45.3%). The results of the antibiotic sensitivity test showed that *Escherichia coli* isolates had sensitivity to antibiotics Aztreonam by 100%, Ampicillin 73.5%, Tetracycline 75%, Gentamycin 95% and Ciprofloxacin 95%. There were 5.8% (4/68) isolates of *Escherichia coli* multidrug resistance (MDR). Then, there were eight resistance patterns produced, namely AMP, TE, GM, CIP, AMP-TE, TE-GM, AMP-TE-GM, and AMP- TE-GM-CIP. *Escherichia coli* isolates has the greatest resistance to the antibiotic Ampicillin, which was 19.1% (13/68). The isolates that were resistant to Ampicillin were continued by PCR and showed the results that there were 7 from 13 *Escherichia coli* isolates resistant to Ampicillin (53,8%) that had the *bla*_{TEM} gene encoding ESBL and no *Escherichia coli* isolates resistant to Ampicillin (0%) which had the *stx2* gene encoding the shiga toxin. These results prove that *Escherichia coli* isolates isolated from fresh beef at Traditional Market in Surabaya have the potential to be a source of ESBL and AMR transmission in the community. Through this research, it is hoped that public awareness in the field of food safety can increase.

Key words : *Escherichia coli*, ESBL, STEC, antimicrobial resistance, foodborne disease

DAFTAR ISI

SAMPUL DALAM.....	ii
LEMBAR PRASYARAT GELAR.....	iii
LEMBAR PERNYATAAN.....	iv
LEMBAR PENGESAHAN.....	v
PANITIA PENGUJI USULAN PENELITIAN TESIS.....	vi
PANITIA PENGUJI TESIS.....	vii
UCAPAN TERIMA KASIH.....	viii
RINGKASAN.....	x
SUMMARY.....	xii
ABSTRACT.....	xiv
DAFTAR ISI.....	xv
DAFTAR TABEL.....	xvii
DAFTAR GAMBAR.....	xviii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xix
DAFTAR SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG.....	xx
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	7
1.3 Tujuan Penelitian.....	7
1.3.1 Tujuan Umum :.....	7
1.3.2 Tujuan Khusus :.....	8
1.4 Manfaat Penelitian.....	8
1.4.1 Manfaat Teoritis.....	8
1.4.2 Manfaat Praktis.....	8
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	10
2.1 Daging Sapi.....	10
2.2 Bakteri <i>Escherichia coli</i>	12
2.3 <i>Shiga Toxin Escherichia coli</i> (STEC).....	15
2.4 Gen <i>Stx2</i>	17
2.5 <i>Extended Spectrum Beta Lactamase</i> (ESBL).....	19
2.6 Gen <i>bla_{TEM}</i>	21
2.7 <i>Escherichia coli</i> Penghasil ESBL pada Daging.....	23
2.8 Antibiotik.....	25
2.9 Resistensi Antibiotik.....	30
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL.....	34
BAB 4 MATERI DAN METODE.....	37
4.1 Jenis Penelitian.....	37
4.2 Sampel, Besar Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel.....	37
4.3 Definisi Operasional Penelitian.....	38
4.4 Bahan Penelitian.....	39
4.4 Instrumen Penelitian.....	40
4.5 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	40

4.6	Prosedur Pengambilan dan Pengumpulan Data.....	40
4.6.1	Pengambilan Sampel.....	40
4.6.2	Isolasi dan Identifikasi <i>Escherichia coli</i>	41
4.6.3	Uji Sensitifitas Bakteri terhadap Antibiotik.....	44
4.6.4	Esktraksi DNA.....	45
4.6.5	Amplifikasi DNA Menggunakan PCR.....	46
4.6.6	Elektroforesis Produk PCR.....	47
4.7	Analisis Data.....	47
4.8	Kerangka Operasional.....	48
BAB 5	HASIL PENELITIAN.....	49
5.1	Isolasi dan Identifikasi <i>Escherichia coli</i>	49
5.2	Uji Sensitivitas Antibiotik terhadap Bakteri <i>Escherichia coli</i>	51
5.3	Deteksi Gen <i>bla</i> _{TEM} dan <i>stx2</i>	54
BAB 6	PEMBAHASAN.....	57
6.1	Isolasi dan Identifikasi Bakteri <i>Escherichia coli</i>	57
6.2	Uji Sensitivitas Bakteri <i>Escherichia coli</i> terhadap Antibiotik.....	64
6.3	Deteksi Gen <i>bla</i> _{TEM}	71
6.4	Deteksi Gen <i>stx2</i>	73
BAB 7	KESIMPULAN DAN SARAN.....	75
7.1	Kesimpulan.....	75
7.2	Saran.....	75
DAFTAR	PUSTAKA.....	77
LAMPIRAN		89

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Tingkatan mutu daging secara fisik.....	11
Tabel 2.2 Syarat mutu mikrobiologis daging sapi.....	11
Tabel 2.3 <i>Escherichia coli</i> patogen.....	15
Tabel 4.1 Besaran sampel berdasarkan metode <i>purposive sampling</i>	37
Tabel 4.2 Standar intepretasi diameter zona hambat.....	45
Tabel 4.3 Primer yang digunakan dalam amplifikasi PCR.....	47
Tabel 5.1 Hasil isolasi dan identifikasi bakteri <i>Escherichia coli</i>	49
Tabel 5.2 Hasil uji sensitivitas antibiotika terhadap isolat <i>Escherichia coli</i>	53
Tabel 5.3 Profil resistensi isolat <i>Escherichia coli</i> terhadap antibiotik.....	54
Tabel 5.4 Hasil deteksi gen <i>bla</i> _{TEM} dan gen <i>stx2</i> pada isolat <i>E. coli</i>	55

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Peta karkas sapi.....	10
Gambar 2.2 <i>Escherichia coli</i> tiga dimensi.....	13
Gambar 2.3 Kasus ESBL-Enterobacteriaceae meningkat sejak 2012.....	20
Gambar 2.4 Struktur genetik yang menyimpan gen <i>bla</i> _{TEM}	22
Gambar 2.5 Distribusi enzim ESBL pada hewan penghasil pangan di Eropa	24
Gambar 2.6 Titik target antibiotik.....	28
Gambar 2.7 Mekanisme resistensi antibiotika.....	32
Gambar 3.1 Diagram alir kerangka konseptual penelitian.....	34
Gambar 5.1 Hasil isolasi sekunder pada media EMBA.....	50
Gambar 5.2 Pemeriksaan mikroskopis perbesaran 1000x.....	50
Gambar 5.3 Hasil uji biokimiawi bakteri <i>Escherichia coli</i>	51
Gambar 5.4 Hasil uji sensitivitas antibiotika bakteri <i>Escherichia coli</i>	52
Gambar 5.5 Hasil elektroforesis produk PCR gen <i>bla</i> _{TEM}	55
Gambar 5.6 Hasil elektroforesis produk PCR gen <i>stx2</i>	56

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Isolasi dan Identifikasi Bakteri <i>Escherichia coli</i>	89
Lampiran 2. Hasil Pengukuran Uji Sensitivitas Antibiotika.....	92
Lampiran 3. Hasil Uji Sensitivitas Antibiotika.....	94
Lampiran 4. Dokumentasi Penelitian.....	96
Lampiran 5. NCBI Gen <i>bla</i> _{TEM}	96
Lampiran 6. NCBI Gen <i>stx2</i>	100

DAFTAR SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

AMP	: <i>Ampicillin</i>
AMR	: <i>Antimicrobial resistance</i>
ATM	: <i>Aztreonam</i>
CIP	: <i>Ciprofloxacin</i>
CFU	: <i>Colony Forming Unit</i>
CTX-M	: Gen Cefotaxime
<i>E. coli</i>	: <i>Escherchia coli</i>
ESBL	: <i>Extended Spectrum Beta Lactamase</i>
GM	: <i>Gentamycin</i>
MDR	: <i>Multidrug resistance</i>
OIE	: <i>Office International des Epizooties</i>
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
SHV	: Gen Sulphydryl
TE	: <i>Tetracycline</i>
TEM	: Gen Temoneira
WHO	: <i>World Health Organization</i>

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kesehatan merupakan salah satu sektor prioritas pemerintah. Hal ini diwujudkan melalui berbagai program, salah satunya *National Action Plan – Antimicrobial Resistance* (NAP-AMR). Upaya ini dilakukan pemerintah untuk menanggulangi kejadian resistensi antimikroba (AMR) yang terjadi di Indonesia, dimana Indonesia dengan jumlah penduduk 258 juta jiwa serta menempati urutan keempat sebagai negara terpadat di dunia, sangat memungkinkan untuk kejadian AMR yang tinggi dan meningkat (Parathon *et al.*, 2017; BAPPENAS, 2019).

Pada abad 21, resistensi antimikroba menjadi salah satu permasalahan terbesar bagi kesehatan masyarakat disebabkan kejadiannya meluas pada manusia, hewan maupun lingkungan (Inderbinen *et al.*, 2020). AMR menjadi masalah global yang mengancam manusia karena kurangnya penelitian, komitmen, kontrol infeksi, serta penggunaan antimikroba yang irrasional, kualitas antibiotik yang buruk dan pengawasan yang lemah (Hadi *et al.*, 2013). Di Indonesia, data AMR terbatas dan rata-rata dilakukan oleh laboratorium dari universitas besar yang tidak terkoneksi pada sebuah jaringan nasional. Data epidemiologi menunjukkan bahwa kasus bakteri yang mengalami resistensi di Indonesia telah terjadi sejak tahun 1990 (Parathon *et al.*, 2017).

Bakteri patogen yang resisten terhadap antibiotika menyebabkan adanya peningkatan pasien terinfeksi bakteri lebih sulit diobati dan membutuhkan waktu

lebih lama untuk sembuh serta membutuhkan antibiotik jenis baru (Safitri *et al.*, 2017). Menurut Dahesihdewi *et al.*, (2019) data laporan rumah sakit di Indonesia tentang pola dan sensitivitas bakteri yaitu ditemukan bahwa resistensi *methicillin S. aureus* (MRSA) adalah 13-26%, kemudian *E. coli* penghasil enzim ESBL sebesar 25-57% dan *K. pneumonia* penghasil enzim ESBL sebesar 32-56%. Kemudian dilaporkan adanya peningkatan kemampuan resistensi terhadap antimikroba yang penting secara klinis seperti Beta-laktam, Fluoroquinolone, Tetrasiklin dan Aminoglikosida (Fannisa, 2022; Yamamoto *et al.*, 2022).

Antibiotik beta laktam merupakan antibiotik berspektrum luas, yang memiliki cincin beta laktam di struktur molekularnya, termasuk yaitu cefalosporin, monobactam, penicillin dan carbapenem (Zango *et.al.*, 2019). Salah satu antibiotik golongan Beta-laktam yang merupakan turunan penicillin yaitu *Ampicillin*. *Ampicillin* digunakan pada pengobatan infeksi pencernaan, infeksi saluran pernafasan, infeksi saluran kencing, infeksi jaringan dan kulit. *Ampicillin* bersifat bakterisidal, dengan menempel pada *penicillin binding protein* (PBP) bakteri dan menghambat sintesa dinding sel bakteri. *Ampicillin* efektif menghambat bakteri Gram negatif seperti *Escherichia coli* (Maqbool *et al.*, 2020). Namun, saat ini menurut Khoirani *et al*, (2019) bahwa bakteri *E. coli* yang berasal dari pangan asal hewan 100% mengalami resistensi terhadap Ampicillin. Hal ini dimungkinkan karena antibiotik ini digunakan secara luas di kedokteran manusia dan kedokteran hewan (Li *et al.*, 2019).

Beberapa penelitian sebelumnya juga menemukan adanya resistensi antimikroba pada jenis antibiotik yang lain seperti golongan *Tetracycline*,

Aminoglikosida, dan Ciprofloxasin. Penelitian Adzitey *et al.*, (2021) menunjukkan bahwa lebih dari 50% antibiotik *Tetracycline* mengalami resisten terhadap bakteri *Escherichia coli* yang diisolasi dari daging sapi, kemudian resistensi terhadap antibiotik *Gentamycin* sebesar 28% dan resistensi terhadap antibiotik *Ciprofloxacin* sebesar 30,5%.

Salah satu bakteri yang berperan pada kasus AMR adalah *Escherichia coli*. *Escherichia coli* memainkan peran penting dalam ekologi dan digunakan sebagai bioindikator dari resistensi antimikroba (Ramos *et al.*, 2020). *Escherichia coli* bertindak sebagai donor maupun penerima gen resistensi sehingga ia dapat memperoleh gen resistensi dari bakteri lain dan juga mewariskan gen ketahanannya ke bakteri lain. Sehingga *Escherichia coli* disebut sebagai reservoir utama gen resistensi yang bertanggung jawab atas kegagalan pengobatan baik dalam kedokteran manusia maupun kedokteran hewan (Poirel *et al.*, 2018). *Escherichia coli* berpotensi menjadi penyebab terbesar kejadian AMR dan memerankan peran penting dalam akusisi dan desiminasi mekanisme AMR karena menghasilkan enzim *Extended Spectrum Beta Lactamase (ESBL)* (Inderbinen *et al.*, 2020).

Extended Spectrum Beta Lactamase (ESBL) merupakan enzim yang dapat menghidrolisa antibiotik golongan penisilin dan sefalosporin generasi ketiga dan keempat dan monobactam kecuali sefamisin dan karbapenem (Hassuna *et al.*, 2020). Penyebaran global *Escherichia coli* yang memproduksi enzim ESBL menimbulkan ancaman yang signifikan terhadap keefektifan antimikroba, terutama sefalosporin generasi ketiga dan keempat (Geser *et al.*, 2012). Menurut

Hassuna *et al.*, (2020) pengobatan pasien yang mengalami infeksi saluran perkemihan yang disebabkan oleh ESBL yang diproduksi *Escherichia coli* lebih mahal dibanding dengan non ESBL.

Enzim ESBL disandi oleh tiga gen penyandi resistensi yaitu *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV} dan *bla*_{CTX-M}. Penelitian Ansharieta *et al.*, (2021) menunjukkan bahwa pada bahan pangan asal hewan ditemukan gen TEM penyandi ESBL. Hal ini juga dikuatkan oleh Imasari (2017) bahwa gen penyandi ESBL telah menyebar antara manusia dan hewan. Gen TEM telah dideteksi pada 48,1% pada isolat positif ESBL (Mensah *et al.*, 2016). *bla*_{TEM} merupakan salah satu gen penyandi ESBL yang paling sering dikonfirmasi pada suatu penelitian (Dirar *et al.*, 2020). Penelitian Naelasari *et al.*, (2018) juga menunjukkan bahwa gen TEM ditemukan pada isolat pasien Rumah Sakit Dr. Soetomo. Menurut Bajpal *et al.*, (2017) bahwa gen penyandi ESBL yang paling banyak ditemukan pada isolat yang berasal dari pasien infeksi saluran perkemihan yaitu gen TEM sebesar 48,7%.

Selain memiliki resiko sebagai penyebab AMR, *Escherichia coli* juga dapat menjadi penyebab *foodborne disease*. *Escherichia coli* memiliki beberapa strain virulen yang sangat beragam dan tersebar secara luas di sistem terbuka, bakteri ini mudah menyebar ke lingkungan dan berbahaya bagi kesehatan manusia (Li *et al.*, 2020). *Escherichia coli* memiliki strain O157:H7 yang menghasilkan shiga toxin (STEC) yang merupakan ancaman bagi kesehatan masyarakat. Strain ini menyebabkan penyakit *hemorrhagic colitis* (HS) dan *hemolytic-uremic syndrome* (HUS) pada manusia. Selain menyebabkan penyakit, *Escherichia coli* juga menjadi penyebab gagalnya terapi antimikroba untuk infeksi STEC karena

terjadinya resistensi (Poirel *et al.*, 2018). Salah satu gen yang mengkode STEC dan banyak ditemukan pada ternak, utamanya sapi yaitu *stx2* (Ansharieta *et al.*, 2021).

Stx2 merupakan salah satu gen yang mengkode STEC. Menurut penelitian Aslan *et al.*, (2018) bahwa ditemukan gen *stx* pengkode STEC sebanyak 12,06% pada sampel daging yang diteliti. Kemudian penelitian Okuno *et al.*, (2021) menunjukkan bahwa dari 90 sampel sapi potong positif gen *stx*, 58 sampel menunjukkan gen *stx2*, 13 sampel *stx1* dan 19 sampel menunjukkan *stx1* dan *stx 2*. Begitu juga dengan penelitian Minh *et al.*, (2015) yang menunjukkan bahwa gen *stx-2* merupakan sub tipe gen yang paling banyak dideteksi pada daging segar. Gen *stx-2* biasanya dihubungkan dengan penyakit HUS pada manusia (Suardana *et al.*, 2016).

Daging sapi merupakan salah satu sumber pangan asal hewan yang penting bagi masyarakat, utamanya untuk memenuhi kebutuhan protein hewani. Daging yang mengandung nutrisi lengkap menjadikannya media baik bagi pertumbuhan bakteri, salah satunya *Escherichia coli*. Adanya *Escherichia coli* pada daging memperparah kejadian infeksi pada manusia, karena dapat mentransmisikan infeksi dan penyakit ketika pengolahan, persiapan atau ketika dikonsumsi oleh konsumen (Shabana and Al Enazi, 2020). *Escherichia coli* pada feses sapi potong dapat masuk kedalam rantai penyediaan daging melalui kontaminasi fekal ketika pemotongan, kontak hewan dan manusia, langsung/tidak langsung, kontak manusia dan manusia menjadi peran penting transmisi infeksi (Shabana and Al Enazi, 2020). Kemudian ESBL yang dihasilkan oleh *Escherichia coli* dapat

ditransmisikan melalui daging jika standar operasional prosedur seperti praktik hygiene dan sanitasi lingkungan tidak diimplementasikan di peternakan, rumah pemotongan (RPH) maupun tempat penjualan daging. Daging sapi segar yang dijual secara ecer di pasar, toko, supermarket dapat menjadi transmisi ESBL dari hewan ke manusia (Irrgang *et al.*, 2018).

Pendekatan *One Health* merupakan salah satu solusi untuk menanggulangi kejadian AMR. Melalui pendekatan ini, peneliti dapat mengidentifikasi reservoir dari AMR dan mendemonstrasikan rute transmisi potensial di dalam dan di antara hubungan manusia, hewan dan lingkungan (Inderbinen *et al.*, 2020). Kejadian ESBL yang terus meningkat menjadi fokus kesehatan masyarakat. Namun data kejadian ESBL yang dihasilkan oleh *Escherichia coli* pada pangan asal hewan khususnya daging segar di Kota Surabaya masih terbatas. Bahkan belum ada penelitian molekuler yang mendeteksi penyebaran gen penyandi resistensi ESBL (*bla*_{TEM}) dan toksin shiga (*stx-2*) yang dihasilkan *Escherichia coli* yang diisolasi dari daging sapi segar yang dijual di pasar tradisional Kota Surabaya.

Berdasarkan latar belakang diatas, maka penting dilakukan penelitian untuk mengetahui keberadaan gen *bla*_{TEM} penyandi ESBL dan *stx-2* penyandi toksin shiga pada *Escherichia coli* yang diisolasi dari daging sapi segar yang dijual di pasar tradisional Kota Surabaya.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, rumusan masalah pada penelitian ini yaitu :

1. Apakah ditemukan bakteri *Escherichia coli* yang di isolasi dari daging sapi segar di pasar tradisional Kota Surabaya?
2. Bagaimana pola resistensi isolat *Escherichia coli* yang di isolasi dari daging sapi segar yang dijual di pasar tradisional Kota Surabaya terhadap antibiotik *Aztreonam*, *Ampicillin*, *Tetracycline*, *Gentamycin*, dan *Ciprofloxacin*?
3. Apakah ditemukan gen *bla_{TEM}* penyandi *Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL) pada isolat *Escherichia coli* yang di isolasi dari daging sapi segar yang dijual di pasar tradisional Kota Surabaya?
4. Apakah ditemukan gen *stx-2* penyandi toksin shiga pada isolat *Escherichia coli* yang di isolasi dari daging sapi segar yang dijual di pasar tradisional Kota Surabaya?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum :

Melakukan isolasi dan identifikasi bakteri *Escherichia coli* yang di isolasi dari daging sapi segar yang dijual di pasar tradisional Kota Surabaya. Kemudian mengetahui pola resistensinya terhadap beberapa jenis golongan antibiotik dan menemukan gen penyandi resistensi antibiotik ESBL serta toksin shiga pada isolat *Escherichia coli*.

1.3.2 Tujuan Khusus :

1. Menemukan bakteri *Escherichia coli* yang di isolasi dari daging segar yang dijual di pasar tradisional Kota Surabaya
2. Mengetahui pola resistensi isolat *Escherichia coli* yang di isolasi dari daging segar yang dijual di pasar tradisional Kota Surabaya terhadap antibiotik *Aztreonam*, *Ampicillin*, *Tetracycline*, *Gentamycin*, dan *Ciprofloxacin*
3. Menemukan gen *bla_{TEM}* penyandi *Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL) pada isolat *Escherichia coli* yang di isolasi dari daging segar yang dijual di pasar tradisional Kota Surabaya
4. Menemukan gen *stx-2* penyandi toksin shiga pada isolat *Escherichia coli* yang di isolasi dari daging segar yang dijual di pasar tradisional Kota Surabaya

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Manfaat teoritis yang diperoleh dari penelitian ini yaitu memberikan tambahan informasi dan ilmu pengetahuan tentang adanya *antimicrobial resistance* dan *foodborne disease* yang disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* yang ada di daging sapi segar di Pasar Tradisional Kota Surabaya.

1.4.2 Manfaat Praktis

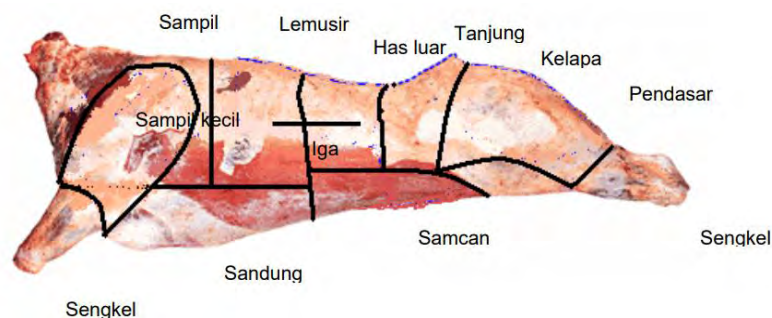
Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini yaitu menjawab kebutuhan nasional akan jaminan keamanan pangan asal hewan yang sangat

mempengaruhi kesehatan manusia. Melalui penelitian ini, peneliti berharap dapat memberikan informasi *scientific* mengenai keberadaan gen *bla*_{TEM} penyandi *Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL) dan gen *stx-2* penyandi toksin shiga yang dihasilkan oleh bakteri *Escherichia coli* yang diisolasi dari daging segar yang dijual di pasar tradisional Kota Surabaya. Penelitian ini juga diharapkan dapat menjawab isu *One Health*, yaitu tercapainya keseimbangan makhluk hidup di bumi melalui terjaganya kesehatan manusia, hewan dan lingkungan. Sehingga dari penelitian ini, diharapkan dapat membantu pemerintah dalam menjalankan evaluasi dan monitoring terhadap kejadian *Antimicrobial Resistance* di Indonesia.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Daging Sapi

Daging adalah bagian otot skeletal dari karkas sapi yang aman, layak dan lazim dikonsumsi manusia. Daging segar adalah daging yang belum diolah dan atau tidak ditambahkan dengan bahan apapun (SNI 3932:200). Mutu daging memiliki standar yang telah diatur oleh SNI 3932:200. Berikut merupakan peta karkas daging sapi sesuai Standar Nasional Indonesia (Gambar 2.1).



Gambar 2. 1 Peta karkas sapi (SNI 3932:200).

Daging merupakan salah satu bahan pangan yang sangat penting untuk memenuhi kebutuhan gizi masyarakat utamanya protein hewani. Daging sapi kaya akan protein, zat besi dan beberapa vitamin penting, terutama vitamin B. Zat gizi dalam daging sapi yaitu air 66,0 g, protein 18,8 g, energi 207,0 K, lemak 14,0 g, kalsium 11,0 mg dan zat besi 2,8 mg. Selain karena nilai gizinya, masyarakat menilai daging dari sifat-sifatnya seperti kelembutan, rasa, aroma, warna dan sari minyaknya (Tim EWS, 2014). Menurut Elsie, (2016) daging memiliki nutrisi yang tinggi dengan komposisi 75% air, 18% protein dan 3,5% lemak, 3,5% zat non protein larut air.

Berdasarkan SNI 3932:200 daging sapi harus memenuhi persyaratan mutu fisik (Tabel 2.1) dan secara mikrobiologis (Tabel 2.2) untuk menjamin bahwa daging yang beredar di masyarakat aman, sehat, utuh, halal dan thayyib.

Tabel 2. 1 Tingkatan mutu daging secara fisik.

No	Jenis Uji	Persyaratan Mutu		
		1	2	3
1	Warna daging	Merah terang Skor 1-5	Merah kegelapan Skor 6-7	Merah gelap Skor 8-9
2	Warna lemak	Putih Skor 1-3	Putih kekuningan Skor 4-6	Kuning Skor 7-9
3	Marbling	Skor 9-12	Skor 5-8	Skor 1-4
4	Tekstur	Halus	Sedang	Kasar

Tabel 2.2 Syarat mutu mikrobiologis daging sapi.

No	Jenis Uji	Satuan	Persyaratan
1	<i>Total Plate Count</i>	cfu/g	Maksimum 1×10^6
2	Coliform	cfu/g	Maksimum 1×10^2
3	<i>Staphylococcus aureus</i>	cfu/g	Maksimum 1×10^2
4	<i>Salmonella sp.</i>	Per 25 g	Negatif
5	<i>Escherichia coli</i>	cfu/g	Maksimum 1×10^1

Beberapa uji yang dapat dilakukan untuk mengetahui kualitas daging sapi antara lain pemeriksaan organoleptik (uji warna, bau, konsistensi), pengukuran nilai pH, pemeriksaan susut masak, pemeriksaan awal pembusukan menggunakan metode Uji Eber atau Uji Postma. Pemeriksaan organoleptik bertujuan untuk mengetahui daging yang masih segar dengan yang sudah busuk. Daging segar berwarna merah terang, baunya khas daging sapi, citarasa dan jus daging (*juiciness*) enak serta konsistensinya kenyal (Fikri dkk., 2017). Menurut Wibisono (2014) daging yang berkualitas baik mempunyai rasa gurih dan aromanya sedap. Kemudian untuk pH, nilai pH menentukan pertumbuhan dan perkembangan bakteri pada daging. Pengukuran nilai pH dapat menggunakan gelas elektroda dari

pH meter. Nilai pH normal pada daging segar yaitu 5,5-5,8 setelah 24 jam disembelih. Bakteri rata-rata tumbuh optimal pada pH 7,0 dan tidak akan tumbuh pada pH dibawah 4,0 dan diatas 9,0.

Pemeriksaan susut masak (*cooking loss*) merupakan persentase berat daging yang hilang karena pemasakan. Apabila daging tersebut memiliki persentase susut masak lebih rendah, maka daging tersebut memiliki kualitas yang baik dibanding daging yang lain. Hal ini disebabkan persentase susut masak yang tinggi menyebabkan nutrisi dalam daging hilang lebih banyak. Menurut Wibisono (2014) susut masak daging normal berkisar 1,5 hingga 54,5 %. Kemudian untuk uji kebusukan, dapat dilakukan dengan Uji Eber, dimana daging yang busuk akan mengeluarkan awan putih/embun di dinding tabung, disebabkan rantai asam amino akan terputus oleh asam kuat (HCl) dan membentuk gas (NH₄Cl). Waktu dehidrasi daging serta pengeluaran darah yang belum berlangsung sempurna juga dapat meningkatkan laju awal pembusukan. Sedangkan pada Uji Postma, perubahan terjadi pada kertas lakmus karena adanya gas NH₃ yang terakumulasi pada cawan petri. Proses awal pembusukan pada daging diindikasikan dengan adanya gas NH₃.

2.2 Bakteri *Escherichia coli*

Klasifikasi bakteri *Escherichia coli*

Kingdom : Bacteria

Divisi : Proteobacteria

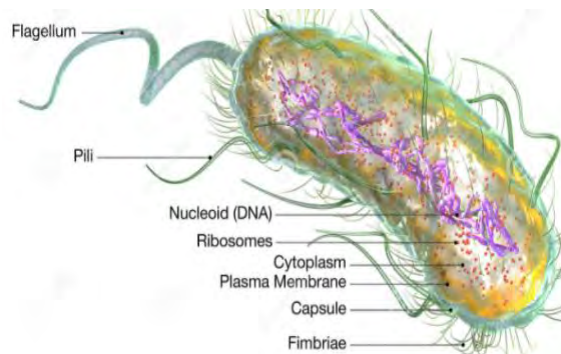
Classis : Gammaproteobacteria

Ordo : Enterobacteriales

Family : Enterobacteriaceae

Genus : *Escherichia*
Species : *Escherichia coli*
(CABI Data Mining, 2001).

Bakteri *Escherichia coli* merupakan Gram negatif, berbentuk batang, tidak berspora, motil dengan flagella petrikus, fakultatif anaerob, berdiameter 0,5 μm dan panjang 1,0-3,0 μm dari famili Enterobacteriaceae (Gambar 2.2) (Jang *et al.*, 2017 dan Prasetya dkk., 2019). Bakteri *Escherichia coli* mempunyai tiga jenis antigen, yaitu antigen O, antigen K dan antigen H. Antigen-O yang merupakan inti dari lipopolisakarida dan unit-unit polisakarida, biasanya antigen-O berhubungan dengan penyakit khusus pada manusia, misalnya tipe spesifik O dari *Escherichia coli* ditemukan pada diare. Antigen-K yang merupakan kapsul dari polisakarida, sedangkan antigen-H merupakan antigen flagella (Wibowo dkk., 2008).



Gambar 2.2 *Escherichia coli* tiga dimensi (Kock, 2022).

Escherichia coli mudah tumbuh pada media *macConkays Agar* dengan menghasilkan warna koloni pink kemerahan karena menfermentasi laktosa. *Escherichia coli* tumbuh pada *MacConkey Agar* dengan diameter koloni 2-3 mm berwarna merah/tidak berwarna (Normaliska dkk, 2019). Kemudian *Eosin Methylen Blue Agar* merupakan media potensial untuk melakukan isolasi bakteri *Escherichia coli* dengan menunjukkan karakteristik hijau metalik. Bakteri

Escherichia coli juga menunjukkan oksidase negatif, indol positif serta dapat menfermentasi laktosa, glukosa dan sukrosa. Bakteri *Escherichia coli* tumbuh dengan baik pada suhu 37° C dan pH 6,0-7,0 (Prasetya dkk., 2019; Shabana and Al Enazi, 2020).

Escherichia coli merupakan flora normal pada saluran pencernaan (komensal). *Escherichia coli* berperan penting dalam sintesis vitamin K, konversi pigmen-pigmen empedu, asam-asam empedu dan penyerapan zat-zat makanan. *Escherichia coli* termasuk ke dalam bakteri heterotrof yang memperoleh makanan berupa zat organik dari lingkungannya karena tidak dapat menyusun sendiri zat organik yang dibutuhkannya. Zat organik diperoleh dari sisa organisme lain. Bakteri ini menguraikan zat organik dalam makanan menjadi zat anorganik, yaitu CO₂, H₂O, energi, dan mineral (Ganiswarna 1995 dalam Kusuma 2010).

Selain memiliki peran penting sebagai flora normal, *Escherichia coli* dapat menjadi bakteri berbahaya (patogen). Bakteri *E.coli* patogen dapat menyebabkan penyakit seperti infeksi saluran kemih, diare, sepsis, maupun meningitis (Kusuma, 2010). Pada kasus diare atau strain inaintestinal *Escherichia coli* diklasifikasikan berdasarkan sifat-sifat virulensinya antara lain, *Enterotoksigenik Escherichia coli* (ETEC), *Enteroinvasif Escherichia coli* (EIEC), *Enteropatogenik Escherichia coli* (EPEC), *Enterohemoragik Escherichia coli* (EHEC) atau *Shiga Toxin Escherichia coli* (STEC), dan *Enteroagregatif Escherichia coli* (EAEC). Kelima strain bakteri tersebut dapat menyebabkan diare pada manusia maupun hewan dengan derajat keparahan yang beragam. Hal ini disebabkan karena bakteri *E.coli* patogen mampu mengeluarkan racun atau yang disebut *Shiga-like toxin*.

Kemudian juga terdapat strain extra-intestinal antara lain *uropathogenic* (UPEC), *meningitic* (NMEC), *avian pathogenic* (APEC) dan *septicemic pathotypes* (Tabel 2.3) (Shinha *et al.*, 2019).

Tabel 2.3 *Escherichia coli* patogen.

Patotipe	Host	Dosis infeksi	Gejala klinis	Gen / faktor virulensi	Plasmid virulensi	Tempat kolonisasi
EPEC	Anak-anak < 5 tahun	10^8 - 10^{10}	Diare berair, muntah, panas, sakit perut, mual	LEE, Intimin (eae^+), BFP ($bfp^{+/-}$)	EAF	Usus halus
STEC	Dewasa, anak-anak	<1000	Diare berair, HC, HUS	hemolysin (hly), $eae^{+/-}$, stx^+ , $ehxA^+$	Toksin pengkode pO157	Ileum distal, kolon
EIEC	Anak-anak < 5 tahun, dewasa, orang dengan imunosupresi, traveler	10^6 - 10^8 10 - 100	Diare berair, berpotensi HUS	ial^+ , $ipaA$, B,C,D,H $^+$, ShET1, ShET2, Pet, $aggR^+$, AAF/I ($aggA^+$) AAF/II ($aafA^+$), AAF/III ($agg3A$), AAF/IV ($agg4A$), AAF/V ($agg5A$) EAST1($astA^+$), dispersin (aap^+)	Virulensi/ plasmid invasi (pINV)	Kolon
EAEC	Dewasa, anak-anak di negara berkembang, traveler	10^{10}	Diare persisten, HUS		pAA mengkode faktor dan toksin adheren	Usus halus, kolon
ETEC	Anak-anak < 5 tahun, dewasa, orang dengan imunosupresi, traveler	10^8	Diare berair	CFs, LT, ST	Plasmid mengkode toksin dan faktor kolonisasi	Usus halus

Yang *et al.*, (2017).

2.3 Shiga Toxin *Escherichia coli* (STEC)

Shiga Toxin Escherichia coli (STEC) adalah grup *Escherichia coli* yang menghasilkan toksin shiga. Toksin ini dapat menyebabkan manusia mengalami diare berdarah. *Outbreak* yang terjadi di Amerika Serikat karena *Escherichia coli* disebabkan karena STEC O157 (CDC, 2020). Manusia yang lebih rentan

terinfeksi *Escherichia coli* adalah orang dewasa dengan usia 65 tahun keatas, anak-anak yang usianya dibawah lima tahun, manusia dengan imun sistem yang buruk termasuk wanita hamil serta manusia yang bepergian ke negara-negara tertentu. Gejala klinis STEC yaitu mengalami diare berdarah, perut mengalami kram hingga parah. Beberapa juga mengalami muntah dan jarang terjadi demam. Simptom biasanya terjadi selama lima hingga tujuh hari (CDC, 2020).

Menurut Yang *et al.*, (2017) STEC atau biasa disebut EHEC merupakan strain yang menyebabkan radang kolon berdarah (*hemorrhagic colitis*). Penularan infeksi STEC utamanya melalui memakan atau menangani pangan yang terkontaminasi, juga melalui kontak dengan hewan terinfeksi. Selain itu, kontak langsung antara manusia, keluarga, sekolah, perawatan rumah sakit juga menyebabkan transmisi STEC. STEC dapat tumbuh di rentang suhu yang luas dan kondisi asam. Infeksi STEC sebagian besar merupakan *foodborne*, dan berbagai sumber seperti makanan seperti daging sapi setengah matang, susu segar, salad, sayur segar, buah dan makanan lain berhubungan dengan penyebab wabah. Faktor virulensi utama STEC adalah Stx, intimin, *translocated intimin receptor* (Tir), *type III secretion system* (T3SS) dan hemolysin (hly).

Menurut White *et al.*, (2016) sejak 1988 hingga 2014, 470 wabah STEC dilaporkan di Amerika Serikat. Sebanyak 237 wabah berasal dari makanan, antara lain 125 (53%) dari daging sapi, 44 (19%) dari buah, 30 (13%) dari susu, 7 (3%) dari kecambah. Prevalensi STEC tidak tergantung jenis kelamin tapi cenderung pada cara konsumsi makanan yang dilakukan tiap individu. Seperti kasus STEC lebih banyak pada wanita karena mereka mengkonsumsi buah dan sayur lebih

banyak dari pria. Musim juga dilaporkan berpengaruh, dimana wabah STEC di musim hangat, beberapa di musim dingin. Angka kejadian meningkat pada bulan-bulan hangat, dimana terjadi peningkatan kemampuan bertahan dan proliferasi bakteri. Untuk wabah akibat produk susu, rata-rata terjadi secara lokal, hal ini disebabkan susu tidak dipasturisasi tidak dapat dijual di toko, sehingga distribusinya terbatas.

Untuk mencegah infeksi STEC pada pangan dapat dilakukan dengan perlakuan panas. Suhu pasturisasi (63 °C selama 30 menit, 72 °C selama 15 detik, atau 89 °C selama 1 detik) telah terbukti efektif untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri STEC, namun tidak terbukti efektif untuk pengendalian toksin shiga. Toksin shiga ditemukan stabil terhadap panas pada proses pasturisasi dan tidak terdapat pengurangan aktivitas biologis. Namun peningkatan suhu pemanasan hingga 100 °C selama lima menit dapat menginaktivasi toksin tersebut (Rahayu dkk., 2018).

2.4 Gen *Stx2*

Gen *stx* (*stx1* dan/atau *stx2*) merupakan gen yang mengkode toksin shiga yang merupakan faktor virulensi utama dari EHEC/STEC. Istilah *enterohemorrhagic Escherichia coli* (EHEC) awalnya digunakan untuk menunjukkan bakteri *Escherichia coli* penghasil toksin shiga (STEC), sehingga EHEC telah ditetapkan sebagai bagian dari STEC. Gen *stx* terletak di kromosom yang diperantarai oleh fag merupakan gen yang mengkode produksi toksin shiga 1 (Stx1) atau toksin shiga 2 (Stx2). Toksin shiga merupakan faktor virulensi yang memberikan efek biologis dengan menghambat sintesa protein dan apoptosis rRNA (Eklund, 2005).

Toksin shiga merupakan holotoksin yang terdiri dari subunit A dan B pentametrik. Pada membran sel eukariotik, reseptor Stx merupakan globotriaosylceramide (Gb3). Ketika terikat pada membran sel target, molekul toksin shiga diinternalisasi melalui vesikel oleh mekanisme endositik sel epitel usu, diangkut melalui jaringan trans-Golgi dan aparatus Golgi ke retikulum endoplasma dan membran nukleus. Selanjutnya ketika subunit Stx A dipotong oleh protease menghasilkan fragmen A1 dan A2 yang aktif secara katalitik. A1 mampu menghambat langkah pemanjangan rantai peptida protein sintesis yang menyebabkan kematian sel (Eklund, 2005).

Stx1 dan Stx2 memiliki cara kerja yang sama, namun toksisitas berbeda. Stx2 memiliki kemampuan seribu kali lebih sitotoksik terhadap sel endotel mikrovaskular ginjal manusia dibanding Stx1, sehingga dipercaya menjadi penyebab HUS. Stx2 menjadi toksin paling umum terkait HUS atau pasien dengan gejala parah. Stx2 juga telah diidentifikasi sebagai toksin yang ditemukan pada sapi (Eklund, 2005).

Beberapa metode untuk mendeteksi toksin shiga (Stx) baik itu Stx1 atau Stx2 yaitu dengan enzyme-immunoassays (EIA-assays) pada kultur bakteri atau tinja. Uji EIA sebagian besar menggunakan metode sandwich, dimana antibodi monoklonal atau poliklonal *immobile* digunakan sebagai ligan untuk molekul Stx. Ikatan toksin Stx dan antibodi-enzym-konjugat kit membentuk reaksi warna yang terlihat sehingga menunjukkan adanya toksin Stx dalam sampel. Selain itu, uji aglutinasi lateks pasif terbalik (RPLA) dapat mendeteksi toksin shiga dalam kultur bakteri. Dalam RPLA, keberadaan Stx dideteksi dengan anti-Stx yang terikat pada

partikel lateks. Selama inkubasi, adanya Stx ditunjukkan dengan aglutinasi toksin Stx dan molekul anti-Stx yang terikat lateks di dinding mikrotiter (Eklund, 2005).

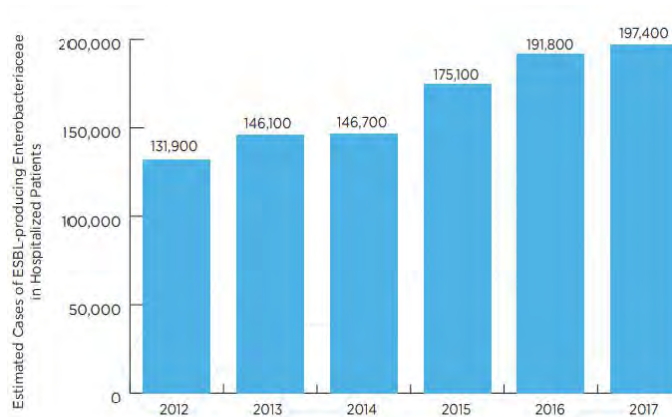
Selain itu terdapat metode genetik molekuler seperti reaksi polimerase berantai (PCR) dan metode hibridisasi sangat bermanfaat untuk mendeteksi gen stx. PCR memungkinkan pengujian kultur bakteri atau sampel pasien langsung seperti tinja untuk mencari gen virulensi. Namun umumnya, kultur tinja atau kultur bakteri murni lebih direkomendasikan karena tinja biasanya mengandung zat penghambat untuk reaksi PCR, menurunkan spesifitas dan sensitivitas dari pengujian (Eklund, 2005).

2.5 *Extended Spectrum Beta Lactamase (ESBL)*

Extended Spectrum β -Lactamase (ESBL) merupakan enzim penting dalam klinis dan ekonomi karena dapat menghirolisa dan menginaktivasi antibiotik golongan β -laktam. Keberadaan ESBL juga terkait dengan antibiotik kelas lain seperti fluroquinolon, *Aminoglycoside* dan trimetoprim-sulfamethoxazole. Sehingga hal ini menyebabkan infeksi yang disebabkan oleh bakteri yang menghasilkan ESBL semakin terbatas pemilihan terapinya (Nobrega and Marcelo, 2014). Infeksi ESBL menyebabkan tingkat kematian yang lebih tinggi akibat keterlambatan dalam menerapkan terapi antimikroba yang tepat, karena antibiotik yang diresepkan secara empiris tidak efektif (Falagas and Karageorgopoulos, 2009).

Extended Spectrum Beta Lactamase (ESBL) merupakan enzim yang mampu menghidrolisa antibiotik golongan *Penicillin*, sefalosporin generasi ketiga dan keempat serta golongan monobaktam. ESBL dihasilkan oleh bakteri gram negatif

seperti *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumoniae* (Montso *et al.*, 2019). Gen ESBL terletak di plasmid yang mudah ditasmisikan dari strain satu ke strain yang lain dan diantara spesies bakteri. Meskipun prevalensinya tidak diketahui, namun peningkatannya jelas (Gambar 2.3) dan di dunia 10-40% strain *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumonia* mengeskpresikan ESBL (Rupp and Fey, 2003). Di Eropa, infeksi *Escherichia coli* penghasil ESBL pada tiga ratus ribu jiwa dan menyebabkan kematian sembilan ratus orang (Cassini *et al.*, 2019).



Gambar 2.3 Kasus ESBL-Enterobacteriaceae meningkat sejak 2012 (CDC, 2019).

Gen penyandi enzim ESBL telah diklasifikasikan menjadi tiga subtype utama yaitu TEM, SHV dan CTX-M. ESBL tipe TEM dan SHV adalah kelompok besar yang berbeda dari enzim pearental dengan sedikitnya satu atau dua asam amino. Perbedaan ini memperluas spektrum aktivitas enzimatiknya, meyebabkan mampu menghidrolisa sefalosporin yang memiliki rantai samping oxyimino yaitu sefalosporin generasi ketiga dan *Aztreonam* (Rawat and Nair, 2010). Kemudian, tipe CTX-M merupakan kelompok heterogen dan kompleks enzim yang berasal dari relokasi gen Kluivera kromosom ke elemen genetik seluler, memberikan resistensi terhadap cefotaxime dan ceftazidime (Canton, *et al.*, 2012). Tipe TEM

dan SHV sempat mendominasi diseluruh dunia, namun situasi ini berubah. Saat ini tipe CTX-M menjadi jenis ESBL yang paling luas (Jena *et al.*, 2017).

Deteksi ESBL yang diproduksi bakteri Gram negatif di laboratorium mikrobiologi klinis dilakukan untuk melihat fenotipnya. CLSI merekomendasikan uji skrining dan konfirmasi untuk mendeteksi produksi ESBL. Kedua uji tersebut bervariasi berdasarkan breakpoint sefalosporin yang diterapkan di laboratorium. Menurut Biutifasari (2018) uji skrining yaitu uji penyaringan untuk melihat kerentanan pada lebih dari satu indikator *cephalosporin* (*cefotaxime*, *ceftriaxone*, *ceftazidime*, *cefpodoxime* dan *Aztreonam*). Pengurangan kerentanan dari *cephalosporin* menunjukkan hasil yang positif. Hasil positif dari tes skrining dilanjutkan dengan tes konfirmasi ESBL. Tes konfirmasi ESBL memberikan gambaran sinergi antara *ceftazidime* atau *cefotaxime* dan *clavaculanat*. Metode ESBL memerlukan inkubasi semalam dan memiliki keterbatasan yang mempengaruhi sensitivitas dan spesifitas. Deteksi ESBL tidak hanya bermanfaat untuk pengendalian infeksi tetapi juga membantu pengambilan keputusan terapeutik (Castanheira *et al.*, 2021).

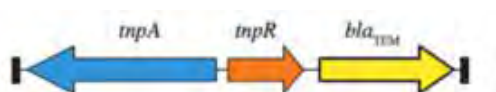
2.6 Gen *bla*_{TEM}

Gen *bla*_{TEM} merupakan salah satu gen penentu resistensi antibiotik yang paling terkenal. Gen *bla*_{TEM} memberikan resistensi terhadap antibiotik golongan *Penicillin* dan sefalosporin generasi pertama, kedua, ketiga, keempat dan monobaktam. Gen *bla*_{TEM} ditemukan pertama kali pada tahun 1963 pada bakteri yang resistensi terhadap *Penicillin*. Lebih dari 170 varian dari *bla*_{TEM-1} dengan urutan asam amino berbeda dan fenotip yang resisten diisolasi di rumah sakit dan

klinik di seluruh dunia. Gen *bla*_{TEM} bekerja dengan menghidrolisis cincin beta laktam *Penicillin*, sefalosporin dan antibiotik sejenisnya dan ditemukan dengan frekuensi tinggi di rumah sakit dan klinik di seluruh dunia (Salverda *et al.*, 2010).

Varian TEM telah diidentifikasi sebanyak 234 varian, meskipun tidak semuanya memiliki fenotipe ESBL. TEM-1 merupakan varian ESBL yang dimediasi plasmid. Enzim TEM dinamakan demikian karena ditemukan pada isolat *Escherichia coli* yang berasal dari darah pasien Yunani bernama Temoneira. Turunan pertama dari TEM yaitu TEM-2 memiliki substitusi asam amino tunggal Gln29Lys dari TEM-1. Perubahan ini tidak mengubah profil substrat dari TEM-1, namun TEM-2 berfungsi sebagai nenek moyang untuk banyak tipe TEM. Varian tipe TEM yang pertama kali menunjukkan fenotipe ESBL adalah TEM-3 (Castanheira *et al.*, 2021).

Mobile genetic elements (MGE) seperti plasmid, transposon, urutan penyisipan (IS) integron dan bakteriofag berkontribusi terhadap penyebaran berbagai gen penyandi ESBL. MGE dapat memindahkan dirinya sendiri dan/atau gen dari satu lokasi ke lokasi lain di dalam sel atau dipindahkan dari sel ke sel secara horizontal melalui konjugasi, transformasi, atau dalam kasus bakteriofag, melalui transduksi. MGE membawa banyak gen resistensi yang memberikan fenotip MDR ke inangnya. Gen yang mengkode TEM-1, TEM-2 dan turunan ESBLnya biasanya dibawa oleh transposon mirip Tn1-, Tn2- atau Tn3- seperti Gambar 2.4 (Castanheira *et al.*, 2021)



Gambar 2.4 Struktur genetik yang menyimpan gen *bla*_{TEM} yang mengkode ESBL (Castanheira *et al.*, 2021).

2.7 *Escherichia coli* Penghasil ESBL pada Daging

Daging sapi segar mengandung banyak air dan protein yang merupakan media pertumbuhan mikroba yang baik. Adanya *Escherichia coli* dalam daging segar dapat terjadi melalui penyembelihan hewan diluar RPH, praktik penyembelihan yang tidak higienis, dan praktik tradisional konsumsi daging mentah. Rantai penyediaan daging yang dimulai dari RPH hingga siap dikonsumsi masyarakat, menyebabkan kemungkinan terjadinya beberapa kali kontak, sehingga meningkatkan kemungkinan kontaminasi mikroba. Pada daging sapi segar ditemukan *Escherichia coli* penghasil ESBL (Abayneh *et al.*, 2019).

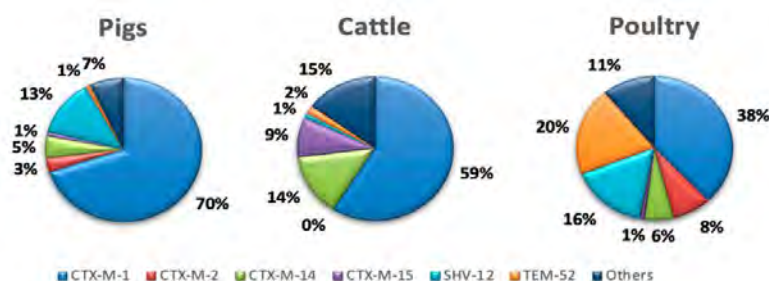
Pada tiap negara, prevalensi *Escherichia coli* yang ditemukan pada daging berbeda, hal ini disebabkan oleh perbedaan standar sanitasi daging tempat toko pengecer dan praktik higienis penjamah daging. Praktik sanitasi dan higienis yang rendah berkontribusi terhadap kontaminasi silang daging dengan isolat *Escherichia coli*. Jumlah *Escherichia coli* pada daging lebih tinggi dibanding tangan penjamah, pisau, papan pemotong, dan pakaian pelindung. Hal ini membuktikan bahwa daging segar mengandung proporsi aktivitas air yang tinggi dan protein internal yang menyediakan lingkungan yang cocok bagi mikroba (Abayneh *et al.*, 2019).

Kontaminasi dapat terjadi pada proses pengangkutan usus, tangan penjamah, penanganan, pemrosesan, toko eceran tempat menjual daging. Praktik penanganan dan pengolahan daging yang tidak higienis merupakan kontributor utama penyebaran ESBL dan bakteri MDR (Abayneh *et al.*, 2019). Prevalensi

Escherichia coli penghasil ESBL di daging sapi segar di Singapura yaitu 7,3% dan Australia 5,3% (Guo *et al.*, 2020).

Adanya *Escherichia coli* penghasil ESBL di daging sapi segar dapat disebabkan kontaminasi dari feses. Hal ini dibuktikan oleh penelitian Palmeira *et al.*, (2020) bahwa ditemukan *Escherichia coli* penghasil ESBL di feses sapi potong di Brazil. Di Jerman sebanyak 11,2% sapi potong juga memiliki *Escherichia coli* penghasil ESBL (Michael *et al.*, 2016). Juga penelitian Montso *et al.*, (2019) yang menunjukkan adanya *Escherichia coli* penghasil ESBL pada isolat daging sapi segar dan sapi potong di Afrika selatan.

Perbedaan geografis yang besar dalam gen ESBL diamati di seluruh dunia. Namun meskipun gen ini tersebar luas, perbedaan lokal jelas ada. Beberapa penelitian telah menggambarkan keberadaan ESBL-*Escherichia coli* pada hewan dan daging, kemungkinan besar disebabkan oleh penggunaan sefalosporin ceftiofur generasi ketiga dalam pangan asal hewan. Sejak akhir 1990-an, ESBL-*Escherichia coli* telah terdeteksi pada daging eceran dan hewan produksi di Eropa, Asia, Afrika, dan Amerika Serikat. Gambar 2.5 menunjukkan distribusi enzim ESBL pada hewan penghasil pangan di Eropa.



Gambar 2.5 Distribusi enzim ESBL pada hewan penghasil pangan di Eropa (Ramos *et al.*, 2019).

2.8 Antibiotik

Menurut Etebu *and* Ariekpar (2016) antibiotik berasal dari kata ‘antibiosis’ yang berarti ‘melawan kehidupan (*against life*)’. Antibiotik pada awalnya dianggap sebagai senyawa organik yang dihasilkan oleh mikroorganisme yang bersifat toksik bagi mikroorganisme lain. Sehingga antibiotik diartikan secara luas sebagai zat yang dihasilkan oleh mikroorganisme atau berasal dari bahan biologis, dimana dengan konsentrasi rendah dapat menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroorganisme lain. Dan saat ini, definisinya telah dimodifikasi, termasuk antimikroba yang diproduksi dengan setengah atau sepenuhnya melalui sintesis. Antibiotik yang mampu membunuh bakteri secara penuh disebut bakterisidal, sedangkan antibiotik yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri disebut bakteriostatik (Satari, 2013).

Etebu *and* Ariekpar (2016) menyebutkan terdapat beberapa klasifikasi antibiotik, yang sebagian besar didasarkan pada struktur molekul, mode aksi, aktivitas spektrum dan rute administrasi. Untuk antibiotik dengan struktur yang sama, biasanya memiliki efektivitas, toksisitas dan potensi efek samping alergi yang mirip. Beberapa kelas antibiotik berdasarkan struktur molekuler dan kimiawi adalah Beta laktam, Makrolida, *Tetracycline*, Quinolon, *Aminoglycoside*, Sulfonamida, Glikopeptida dan Oxazolidinones.

Menurut Etebu *and* Ariekpar (2016) antibiotik Beta Laktam mengandung cincin 3-karbon dan 1-nitrogen yang sangat reaktif. Cincin beta laktam dapat mengganggu protein penting untuk sintesis dinding sel, sehingga dapat menyebabkan kematian atau hambatan pertumbuhan bakteri. Selain itu, enzim

bakteri tertentu seperti *penicillin-binding protein* (PBP) bertanggung jawab untuk ikatan silang unit peptida selama sintesis peptidoglikan. Antibiotik beta laktam dapat mengikatkan diri mereka dengan enzim PBP sehingga mengganggu sintesis peptidoglikan sehingga menyebabkan lisis dinding dan kematian sel bakteri. Antibiotik beta laktam antara lain *Penicillin*, Sefalosporin, Monobaktam dan Karbapenem

a) *Monobaktam*

Menurut Etebu *and* Ariekpar (2016) antibiotik kelas monobaktam diperoleh dari bakteri *Chromobacterium violaceum*. Cincin beta laktam pada monobaktam berdiri sendiri dan tidak bergabung dengan cincin yang lain. *Aztreonam* merupakan sediaan antibiotik monobaktam yang tersedia secara komersial. *Aztreonam* aktif melawan bakteri Gram negatif (*narrow spectrum*) dan digunakan untuk pengobatan pneumonia, sepsis, dan infeksi saluran kemih. Antibiotik monobaktam tidak efektif untuk bakteri Gram positif atau anaerob.

b) *Penicillin*

Etebu *and* Ariekpar (2016) mengungkapkan bahwa antibiotik pertama yang ditemukan adalah *Penicillin*, dilaporkan pada tahun 1929 oleh Alexander Fleming. *Penicillin* G diisolasi dari jamur *P. notatum*, dan saat ini produksi antibiotik melalui fermentasi mikroba biokimiawi dinilai lebih efektif dibanding mensintesis dari bahan baku asli. Contohnya *Ampicillin*, karbenisilin, dan amoxicillin yang dikembangkan dengan semi sintesis dengan rantai samping berbeda, sehingga memiliki kemampuan menghindari kapasitas degradatif enzim bakteri tertentu

yang memfasilitasi pergerakan antibiotik melalui membran luar seperti dinding sel bakteri.

c) *Tetracycline*

Tetracycline merupakan antibiotik yang diperoleh dari jamur *Streptomyces aureofaciens*. Antibiotik *tetracycline* bersifat bakteristatik dan berspektrum luas karena peka terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Shigella*, *Salmonella*, *Proteus* dan *Pseudomonas* (Pelt dkk., 2016). *Tetracycline* efektif melawan bakteri Gram negatif dan Gram positif. Antibiotik *tetracycline* telah diproduksi secara sintesis. Antibiotik ini bekerja dengan cara menghambat ribosom 30S dan mengikat aminoacyl-tRNA (Sumampouw, 2018).

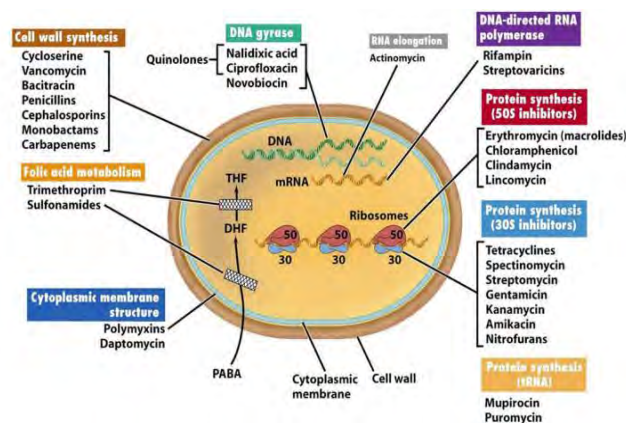
d) *Aminoglycoside*

Etebu and Ariekpar (2016) mengungkapkan bahwa *Aminoglycoside* merupakan salah satu kelas antibiotik dan anggota obat yang pertama kali ditemukan yaitu streptomycin, pada 1943. Streptomycin mampu melawan bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Antibiotik ini berhasil diperoleh dari tanah *Actinomycetes* dan memiliki aktifitas antibakteri berspektrum luas. Antibiotik ini mampu menghambat sintesis protein pada bakteri dengan mengikat salah satu subunit ribosomal serta mampu efektif melawan bakteri Gram negatif anaerob dan bakteri Gram positif tertentu. Namun seiring berjalannya waktu, streptomycin ditemukan toxic tinggi sehingga ditemukan anggota *Aminoglycoside* baru yaitu *Gentamycin*, Neomycin, Tobramycin dan Amikacin. *Gentamycin* tidak terlalu toksik dan digunakan secara luas untuk infeksi Gram negatif batang seperti *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Shigella* dan *Salmonella*.

e) *Quinolone*

Etebu *and* Ariekpar (2016) menjelaskan bahwa quinolone merupakan antibiotik yang awalnya disebut asam nalidixic oleh ilmuwan pada penelitian obat antimalaria. Kemudian setelah perkembangannya, diketahui bahwa kuinine mampu mengganggu replikasi dan transkripsi DNA bakteri. Dua kelompok yang dikembangkan dasar molekulnya yaitu quinolone dan naphthyridone termasuk cinoxacin, norfloxacin, ofloxacin, ciproxacin, temafloxacin, sparfloxacin, nalidixic acid dan enoxacin. Struktur secara umum mengandung dua cincin, namun modifikasi struktur quinolon dilaporkan mengembangkan kemampuan bioavailability dan aktivitas spektrum dan potensi mereka, dalam pengobatan infeksi saluran pernafasan, perkemihan dan sistemik.

Menurut Etebu *and* Ariekpar (2016) potensi antimikroba pada sebagian besar kelas antibiotik didasarkan pada alat unik pada struktur bakteri atau proses metabolisme. Gambar 2.6 menunjukkan mekanisme aksi antibiotik antara lain menghambat sintesa dinding sel, memecah struktur atau fungsi membran sel, menghambat struktur dan fungsi asam nukleat, menghambat sintesis protein, dan memblok jalur metabolisme kunci.



Gambar 2.6 Titik target antibiotik (Etebu *and* Ariekpar, 2016).

1) Menghambat sintesa dinding sel

Sebagian besar bakteri dibungkus oleh lapisan rigid peptidoglikan yang akan menjaga sel dari tekanan osmotik. Untuk tetap hidup, bakteri akan mensintesis peptidoglikan dengan aktivitas PBP menggunakan enzim transglikosilase dan transpeptidase. Kedua enzim berfungsi menambahkan molekul disakarida pentapeptidase dan menaut silangkan (*cross-link*) strand unit peptidoglikan immatur. Antibiotik seperti *Penicillin*, karbapenem dan sefalosporin melakukan blok terhadap cross-linking unit peptidoglikan dengan menghambat katalisasi formasi ikatan peptida dengan PBP.

2) Memecah struktur atau fungsi membran sel

Kelas antibiotik yang merusak membran sel bakteri adalah spesifik pada setiap kelompok antibiotik tergantung perbedaan tipe lipid pada membran sel. Contohnya daptomycin yang melakukan depolarisasi kalsium pada membran sehingga menyebabkan penghentian dari sintesa makromolekul dan distrupsi membran sel bakteri. Sedangkan polymyxin menyebabkan disintegrasi dari membran sel bakteri dengan secara efektif mengikat bagian lipid dari lipopolisakarida pada sel bakteri.

3) Menghambat struktur dan fungsi asam nukleat

Jalur metabolik yang menghasilkan sintesis asam nukleat sangat penting. Distrupsi sintesis asam nukleat bertentangan dengan kelangsungan hidup dan keturunan sel bakteri. Antibiotik mengganggu sintesis asam nukleat dengan memblok replikasi atau memberhentikan transkripsi. Replikasi DNA akan membentuk struktur double helix yang difasilitasi oleh enzim helikase. Contohnya

pada antibiotoik kuinolon, mereka mengganggu fungsi enzim helikase sehingga merusak proses penguntaian DNA.

4) Menghambat sintesis protein

Bakteri sangat memerlukan protein untuk struktur, metabolisme, proses fisiologis dan merespon kondisi. Protein dalam bakteri tergantung molekul DNA-nya. Antibiotik menghambat sintesa protein dapat dibagi menjadi dua subkelas yaitu inhibitor 50S dan inhibitor 30S. Inhibitor 50S contohnya erythromycin, sehingga menghambat ribosom 50S dan memblokir fase inisiasi pada translasi protein atau fase elongasi pada sintesis protein. Inhibitor 30S contohnya *Aminoglycoside*.

5) Memblok jalur metabolisme kunci

Beberapa antibiotik seperti sulfonamid dan trimetoprim menunjukkan wajah dengan meniru substrat yang dibutuhkan untuk metabolisme seluler bakteri. Sulfonamid bertindak seperti tetrahydrofolate yang dibutuhkan dalam sintesis asam folat pada bakteri. Asam folat sangat penting untuk metabolisme asam nukleat dan asam amino, sehingga sulfonamid merusak produksi DNA/RNA dan asam amino dengan cara meniru substrat yang dibutuhkan oleh metabolisme asam amino.

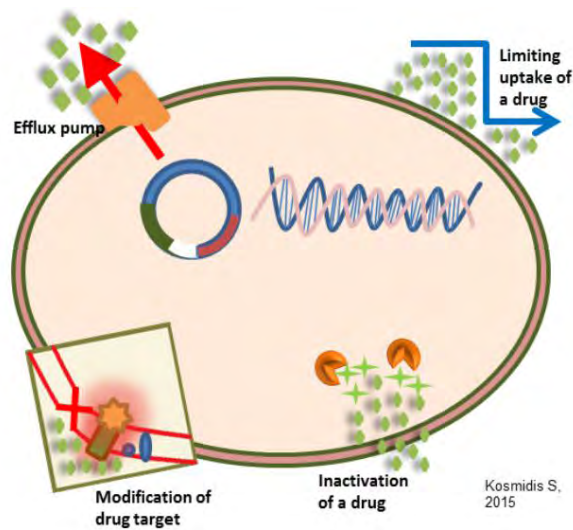
2.9 Resistensi Antibiotik

Menurut Cesur *and* Demiroz (2013) resistensi adalah kemampuan bakteri melawan efek antagonis dari agen antibakterial baik dalam mencegah perkembangbiakan atau bakterisidal. Perkembangan resistensi antibiotik pada bakteri seringkali disebabkan oleh penggunaan antibiotik yang tidak perlu dan

tidak sesuai. Terdapat empat tipe utama resistensi antibiotik yang berkembang yaitu, resistensi alami (intrinsik), resistensi perolehan, resistensi persilangan dan resistensi multi/pan obat.

Strain bakteri yang resisten terhadap tiga atau lebih kelas antimikroba disebut *multidrug resistance* contohnya *Acinetobacter spp.* resisten terhadap *Penicillin*, sefalosporin, fluroquinolon, dan *Aminoglycoside*. Menurut Cesur and Demiroz (2013) *multidrug resistance* biasanya terjadi pada bakteri yang sebelumnya pernah diobati dengan antibiotik tersebut. Hal ini menunjukkan bahwa sebagian obat tidak mampu lama dalam membunuh atau mengontol bakteri. Penggunaan antibiotik secara tidak tepat menyebabkan *multidrug resistance*. Mekanisme terjadinya dapat melalui dua cara yaitu pertama, bakteri mengakumulasi gen multiple yang mengkode resistensi pada satu obat (tipe plasmid) dan kedua, meningkatnya ekspresi gen yang mengkode effluk pump, inaktivasi enzim, perubahan struktur target.

Menurut Cesur and Demiroz (2013) terdapat lima mekanisme resistensi antibiotik seperti pada Gambar 2.7 yaitu (1) perubahan terjadi pada reseptor yang menghubungkan obat dan bagian target koneksi antibiotik berbeda, variasinya bisa berupa enzim atau ribosom. Resistensi dihubungkan dengan perubahan target ribosom yang seringkali diamati pada antibiotik makrolida. Mutasi protein pengikat *Penicillin* (enzim beta *Lactamase*) dan *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* dan *Enterococcus faecium* berkembang menjadi resisten terhadap antibiotik *Penicillin*.



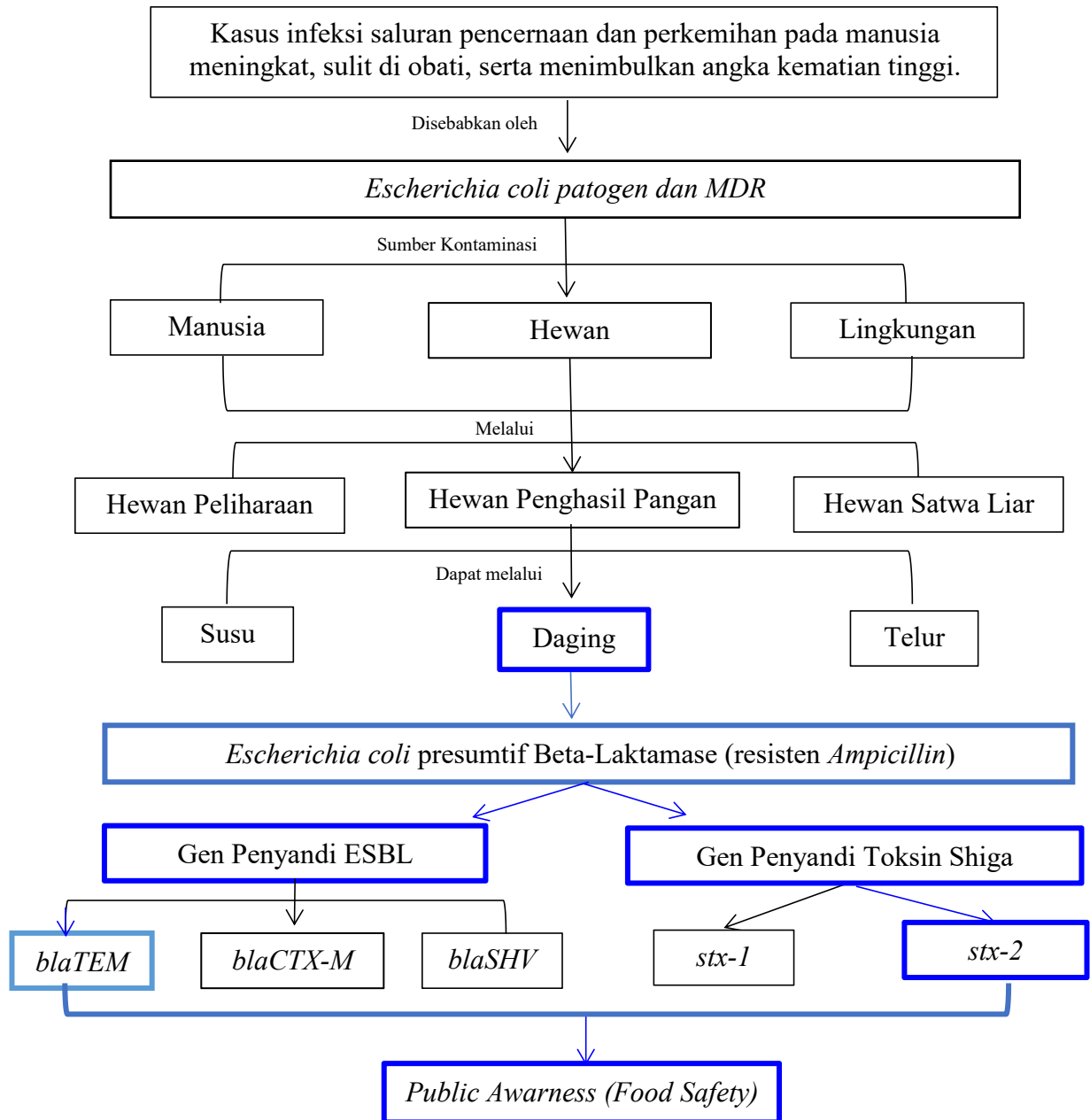
Gambar 2.7 Mekanisme resistensi antibiotika (Reygaert, 2018).

Kemudian (2) inaktivasi enzim antibiotik. Sebagian besar bakteri Gram positif dan Gram negatif mensintesis enzim yang menggradasi antibiotik. Mekanisme inaktivasi merupakan salah satu mekanisme penting. Beta *Lactamase*, *Aminoglycoside*, modifikasi enzim seperti enzim acetylase, fosforiase dan adenilase dapat menggradasi antibiotik beta laktam dan secara terus menerus meningkatkan jumlah enzim inaktivasi termasuk terhadap chloramphenicol dan erythromycin.

Selanjutnya (3) mereduksi permeabilitas membran luar dan dalam. Perubahan permeabilitas membran menurunkan penyerapan obat ke dalam sel atau cepat dikeluarkan melalui sistem pompa aktif. Hasil dari perubahan permeabilitas membran menurunkan mutasi prin pada strain resisten dapat terjadi pada protein. Contohnya *Pseudomonas aeruginosa*, strain spesifik porin (OprD) dapat menyebabkan mutasi resistensi carbapenem. Reduksi permeabilitas dari membran luar dapat memainkan jalur penting resistensi *Quinolone* dan *Aminoglycoside*.

Kemudian (4) pengeluaran obat (sistem pompa aktif), seringkali terjadi pada *Tetracycline*. *Tetracycline* dikeluarkan dengan energi pompa aktif dan tidak dapat berakumulasi di dalam sel. Hal ini juga efektif pada resistensi *Quinolone*, *Macrolide*, *Streptogramin*, *Chloramphenicol*, dan *Beta lactam*. Dan (5) menggunakan jalur metabolik alternatif, yang sering terjadi pada sulfonamide dan trimetoprim. Bakteri dapat memperoleh sifat menyiapkan folat dari lingkungan daripada mensintesis folat.

BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL



Gambar 3.1 Diagram alir kerangka konseptual penelitian.

Keterangan : Diteliti =
 Tidak diteliti =

Keterangan Kerangka Konseptual

Kejadian kasus infeksi saluran pencernaan maupun saluran perkemihan pada manusia meningkat setiap tahun. Di negara berkembang termasuk Indonesia, kasus diare mengalami kenaikan morbiditas dan mortalitas utamanya pada anak-anak, serta kasus infeksi saluran perkemihan menempati posisi kedua tersering setelah infeksi luka operasi. Di Jawa Timur sekitar 123 juta jiwa menderita infeksi saluran kemih, dimana infeksi saluran perkemihan merupakan penyebab morbiditas dan mortalitas yang cukup signifikan. (Bakri dkk., 2015; Halim dkk., 2017; Mawaddah, 2018).

Penyebab utama terjadinya kasus infeksi pada saluran pencernaan dan saluran perkemihan yaitu bakteri *Escherichia coli*. Selain menyebabkan infeksi, bakteri *Escherichia coli* berkontribusi besar terhadap terjadinya infeksi *multidrug-resistant-organism* (MDRO) yang menyebabkan infeksi yang dialami pasien semakin sulit diobati, meningkatkan biaya perawatan, angka kesakitan, angka kematian dan menyebabkan prognosis yang buruk (Prasetya dkk., 2019; Halim dkk., 2017; Nazmi dkk., 2017).

Sumber kontaminasi bakteri *Escherichia coli* yaitu berasal dari lingkungan (air, tanah, udara) yang tercemar, kontak langsung dengan manusia penderita (karier), serta kontak dengan hewan penghasil pangan atau konsumsi pangan asal hewan seperti susu, daging sapi, telur dan daging ayam yang terkontaminasi sehingga dapat menjadi sumber infeksi *Escherichia coli*. Menurut beberapa penelitian ditemukan bahwa terdapat bakteri *Escherichia coli* penghasil Extended

Spectrum Beta Lactamase pada sampel daging sapi segar (Safitri, 2018; Bahri dkk., 2019; Widodo *et al.*, 2020; Wardhana *et al.*, 2021)

ESBL merupakan enzim yang diproduksi di plasmid bakteri *Escherichia coli* yang secara global diklasifikasikan pada beberapa macam yaitu CTX-M, SHV dan TEM. *bla*_{TEM} merupakan salah satu gen pengkode ESBL yang banyak ditemukan pada bakteri Gram negatif (Alcock *et al.*, 2020).

Selain itu, bakteri *Escherichia coli* juga memiliki strain patogen STEC yang menghasilkan toksin shiga. Diketahui sapi potong merupakan reservoir utama dari STEC dan beberapa penelitian mendeteksi adanya gen *stx2* pada sampel daging sapi segar, dimana gen *stx-2* dihubungkan dengan penyakit HUS pada manusia (Minh *et al.*, 2015; Suardana *et al.*, 2016; Aslan *et al.*, 2018; Okuno *et al.*, 2021).

Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian tentang deteksi gen pembawa resistensi enzim ESBL (*bla*_{TEM}) dan gen pembawa shiga toksin (*stx-2*) yang dihasilkan oleh bakteri *Escherichia coli* yang diisolasi dari daging sapi segar yang dijual di pasar tradisional di Kota Surabaya.

Berdasarkan kerangka konseptual diatas, diharapkan hasil dari penelitian ini dapat menjadi informasi ilmiah bagi masyarakat dan dapat meningkatkan *Public Awareness* dibidang keamanan pangan asal hewan (*food safety from animal origin*).

BAB 4 MATERI DAN METODE

4.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian pada penelitian yaitu penelitian Eksploratif Laboratorik. Penelitian Eksploratif Laboratorik adalah penelitian yang bertujuan untuk memperdalam pengetahuan mengenai gejala tertentu atau dugaan yang sifatnya masih baru dengan memanfaatkan alat-alat laboratorium (Safitri, 2018).

4.2 Sampel, Besar Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan yaitu swab daging sapi segar seberat 100 g yang dibeli dari pasar tradisional Kota Surabaya. Besaran sampel pada penelitian ini sebanyak 150 sampel yang diperoleh dari beberapa pasar tradisional di Kota Surabaya yaitu Pasar Wonokromo, Pasar Keputran, Pasar Pacar Keling, Pasar Pabean, Pasar Manukan dan Pasar Jagir (Tabel 4.1). Teknik pengambilan sampel dilakukan menggunakan metode *purposive sampling*, yaitu teknik pengambilan sampel sesuai tujuan peneliti. Adapun sampel yang dipilih yaitu sampel daging sapi segar yang dijual oleh pedagang dengan sanitasi dan higienitas yang buruk.

Tabel 4.1 Besaran sampel berdasarkan metode *purposive sampling*

No	Asal Sampel	Jumlah Sampel
1	Pasar Wonokromo	30
2	Pasar Keputran	30
3	Pasar Pacar Keling	30
4	Pasar Pabean	15
5	Pasar Manukan	15
6	Pasar Jagir	30

4.3 Definisi Operasional Penelitian

Definisi operasional penelitian dimaksudkan untuk menghindari kesalahan pemahaman dan perbedaan penafsiran, yang berkaitan judul tesis. Maka definisi operasional yang perlu dijelaskan yaitu:

1. Daging sapi segar

Daging sapi segar adalah bagian otot skeletal dari karkas sapi yang aman, layak dan lazim dikonsumsi manusia serta yang belum diolah dan atau tidak ditambahkan dengan bahan apapun. Adapun daging sapi segar pada penelitian ini yaitu daging yang dibeli dari pasar tradisional di Kota Surabaya.

2. *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan bakteri Gram negatif dari famili Enterobacteriaceae, berbentuk batang, motil, fakultatif anaerob, menunjukkan hasil indol positif, sitrat negatif, methyl red positif dan Voges-Proskauer negatif.

3. Gen *bla*_{TEM}

Gen *bla*_{TEM} didefinisikan sebagai gen penyandi enzim *Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL) yang memberikan resistensi terhadap antibiotik golongan penisilin dan sefalosporin generasi pertama, kedua, ketiga, keempat dan monobaktam.

4. Gen *stx2*

Gen *stx2* merupakan gen yang mengkode toksin shiga yang merupakan faktor virulensi utama dari *Escherichia coli* penghasil toksin shiga (STEC).

4.4 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan untuk pengambilan sampel yaitu ice gel (Ice cool, 170). Bahan untuk isolasi dan identifikasi *Escherichia coli* yaitu *Buffered Peptone Water* 1% (E-Merck 107228, Darmstadt, Germany), *Brilliant Green-bile Lactose Broth*, *Eosin Methylene Blue Agar* (E. Merck 101347, Darmstadt, Germany), MR-VP Broth, reagen Kovach, *Sulfide Indol Motility* (SIM), *Simmon Citrate Agar*, *Metyl Red*, *Alpha naphtol* 5%, aquadest steril, larutan KOH 40%.

Uji resistensi antibiotika pada *Escherichia coli* menggunakan bahan yaitu NaCl fisiologis, standard Mac Farland 0,5, disk antibiotik diameter 6 mm yaitu *Aztreonam* (30 µg), *Ampicillin* (10 µg), *Tetracycline* (30 µg), *Gentamycin* (10 µg), *Ciprofloxacin* (5 µg), lalu *Muller Hinton Agar* (OXOID CM0337). Kemudian untuk media destruksi, antiseptik maupun desinfektan yaitu Alkohol 70% (One-Med).

Deteksi gen *bla*_{TEM} dan gen *stx-2* menggunakan bahan yaitu QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, 51304) untuk ekstraksi DNA, Go Taq® Green Master Mix (Promega, M7123), primer (Macrogen) gen *bla*_{TEM} F' : 5'-ATA AAA TTC TTG AAG ACG AAA 3, *bla*_{TEM} R' : 5' GAC AGT TAC CAA TGC TTA ATC-3', gen *stx2* F: 5'-CCA TGA CAA CGG ACA GCA GTT-3', gen *stx2* R: 3'- CCT GTC AAC TGA GCA CTT TG-5'. Kemudian campuran reagen PCRnya memiliki volume total 21 µl dengan rincian 12,5 µL Go ta Green, 1 µL *primary forward*, 1 µL *reverse primer*, 5,5 µL DNA *RNase free water*, 1µL DNA *template*. Untuk elektroforesis menggunakan bahan UltraPure TBE Buffer (Invitrogen, 15581044),

Ultrapure Agarosa Gel (Invitrogen, 16500500), 100bp DNA Ladder (Promega, G2101).

4.4 Instrumen Penelitian

Peralatan yang akan digunakan dalam pengambilan sampel yaitu tabung reaksi steril, *cotton bud* steril, plastik steril, *cool box*, dan *handscoon* steril. Peralatan yang digunakan untuk isolasi, identifikasi dan uji resistensi yaitu tabung reaksi, tabung durham, cawan petri, rak tabung reaksi, erlenmeyer, gelas ukur, ose *loop*, ose jarum, cottonbud steril, pipet hisap, inkubator (Binder), autoklaf (All-American Model 75X), pembakar bunsen, pinset, alumunium foil, kapas, spiritus, kertas label dan jangka sorong. Peralatan untuk uji PCR yaitu mikropipet, tabung eppendorf, *microtube*, *white tip*, *yellow tip*, *thermal cycler* PCR, transluminator-UV, perangkat dokumentasi gel, mesin elektroforesis, dan sentrifus (Safitri, 2018).

4.5 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian akan dilaksanakan pada bulan Februari s.d. April 2022 di Laboratorium Mikrobiologi (Lab. Bakteriologi) Divisi Mikrobiologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Untuk Uji PCR dilakukan di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya.

4.6 Prosedur Pengambilan dan Pengumpulan Data

4.6.1 Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan dengan metode *purposive sampling*, dimana cara penarikan sampel dilakukan dengan memilih subjek berdasarkan kriteria

spesifik yang ditetapkan oleh peneliti (Mundi, 2018). Sampel daging sapi segar yang dipilih yaitu berasal dari kios pedagang yang tidak terjaga kebersihan atau sanitasinya, serta higienitas pedagang yang buruk. Hal ini sesuai tujuan peneliti yaitu untuk menemukan bakteri *Escherichia coli*, dimana bakteri ini merupakan indikator sanitasi lingkungan. Sampel daging sapi segar sebanyak 150 sampel dibeli dari beberapa pasar tradisional di Surabaya dan kemudian sampel dimasukkan ke dalam ice box berisi ice gel dan dibawa ke Laboratorium Bakteriologi Divisi Mikrobiologi FKH UNAIR untuk dilanjutkan isolasi dan identifikasi bakteri.

4.6.2 Isolasi dan Identifikasi *Escherichia coli*

a) Non Selective pre-enrichment

Sampel daging sapi segar yang diperoleh diswab secara menyeluruh pada permukaannya menggunakan *cottonbud* steril dan ditanam di media *Buffered Peptone Water* (BPW). Kemudian diinkubasi selama 16-20 jam dengan suhu 37° C *aerobically*. Pertumbuhan bakteri ditandai dengan media yang berwarna kuning jernih menjadi keruh.

b) Selective enrichment

Media BPW yang menunjukkan hasil adanya pertumbuhan bakteri dilanjutkan untuk ditanam ke media *Brilliant Green-bile Lactose Broth* (BGLB). Sampel pada media BPW divortek lalu diinokulasikan 1 ml ke 9 ml media BGLB dan diinkubasi 24-48 jam dengan suhu 35° C *aerobically*. Perubahan warna media dari hijau jernih menjadi hijau keruh dan terdapat gas yang terperangkap di dalam tabung durham menunjukkan hasil presumtif *E. coli* (Merck, 2022).

c) *Selective media*

Setelah ditanam pada media BGGB, sampel presumtif *E. coli* divortek lalu ditanam pada media selektif yaitu *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) dengan cara distreak. Setelah diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 35° C *aerobically* maka akan nampak koloni *E. coli* berwarna hijau metalik, pada pantulan cahaya nampak titik tengah hitam atau biru. Hijau metalik pada koloni *E. coli* karena bakteri *E. coli* menfermentasi laktosa sehingga kadar asam pada media tinggi dan mengendapkan *methylene blue* (Langgar dkk., 2021).

d) Uji Identikasi Pewarnaan Gram

Bakteri yang menunjukkan *presumtif E. coli* maka dilanjutkan dengan pemeriksaan mikroskopis dan uji biokimiawi untuk mengidentifikasi sifat fisiologinya. Pada pemeriksaan mikroskopis, isolat *presumtif E. coli* dari media EMBA dilakukan pewarnaan Gram. Langkahnya yaitu mengambil 1 koloni bakteri menggunakan ose steril lalu diratakan diatas gelas objek dengan 1 tetes aquadest steril, kemudian difixsasi diatas api bunsen. Selanjutnya, menuangkan pewarnaan kristal violet pada preparat, ditunggu 1 menit lalu dibilas dengan air mengalir. Kemudian meneteskan cairan yodium selama 1 menit, lalu dibilas. Lalu meneteskan cairan aseton/etanol dan bilas dengan air mengalir. Kemudian meneteskan larutan safranin selama 1 menit dan dibilas menggunakan air mengalir. Setelah preparat mengering, maka diberi 1 tetes oil emersi dan diamati dibawah mikroskop perbesaran 1000x.

e) Uji Indol

Uji indol dilakukan menggunakan media *Sulphid Indol Motility* (SIM). Langkahnya yaitu menanam 2-3 mata ose koloni bakteri dari media EMBA, lalu diinokulasi pada media semisolid SIM dengan cara ditusuk dan diinkubasi 18-24 jam dengan suhu 35° C. Bentukan H₂S ditunjukkan dengan adanya warna hitam pada media. Uji indol dilakukan dengan menambahkan reagen Kovac pada media dan hasil positif jika pada lapisan permukaan atas membentuk cincin merah atau merah muda. Motilitas diindikasikan dengan adanya kekeruhan difus dari media pertumbuhan mengelilingi garis tusukan seperti pohon cemara terbalik. Bakteri *E.coli* akan menunjukkan hasil H₂S negatif, indol positif dan motilitas positif (Merck, 2022).

f) Uji MR-VP

Koloni bakteri pada media EMBA diinokulasikan 2-3 mata ose pada media MRVP dan diinkubasi selama dua hari dengan suhu 37° C. Kemudian uji MR dilakukan dengan menambahkan lima tetes indikator methyl red pada media MRVP yang sudah divortek, sedangkan uji VP dilakukan dengan menambahkan lima tetes cairan BARRIT (suspensi 5 g alfa naphthol/100 ml etanol dan 1 ml pottasium hydroxide (KOH) 40%. Hasil positif jika terjadi perubahan warna media dari kuning menjadi merah (Merck, 2022).

g) Uji Sitrat

Koloni dikultur dengan cara streak pada permukaan miring media *Simmon Citrate Agar* (SCA) lalu diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37° C

aerobically. *E. coli* menghasilkan sitrat negatif yaitu tetap hijau, tidak berubah warna menjadi biru (Merck, 2022).

4.6.3 Uji Sensitifitas Bakteri terhadap Antibiotik

Uji sensitifitas antibiotika dilakukan dengan metode *disc diffusion method* pada media *Mueeler Hinton Agar* (MHA). Pertama, melakukan biakan kuman untuk mendapatkan suspensi dengan cara menanam bakteri pada tabung reaksi berisi 8 ml NaCl fisiologis, dilakukan homogenisasi menggunakan vortex sampai didapatkan kekeruhan yang sama dengan standart McFarland 0,5 (setara dengan $1,5 \times 10^8$ CFU/ml). Selanjutnya dilakukan uji sensitifitas dengan cara 0,2 ml suspensi bakteri diambil menggunakan pipet steril dan ditanam di media plate *Mueeler Hinton Agar* (MHA) kemudian diratakan menggunakan cotton bud steril keseluruhan permukaan media dan didiamkan selama 15 menit (Ansharieta *et al.*, 2021).

Kemudian disk antibiotik yang digunakan yaitu *Aztreonam* (30 µg), *Ampicillin* (10 µg), *Tetracycline* (30 µg), *Gentamycin* (10 µg), dan *Ciprofloxacin* (5 µg) diletakkan diatas media MHA menggunakan pinset dan diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam. Selanjutnya mengukur zona hambat pertumbuhan bakteri menggunakan jangka sorong. Interpretasi hasil diketahui melalui pengukuran diameter zona hambatan/inhibitor yang terbentuk sesuai rekomendasi dari *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS, 2018). Terdapat tiga kriteria yaitu Susceptible (S), Intermediet (I) dan Resistant (R) (Tabel 4.2). Selanjutnya isolat sampel yang menunjukkan hasil presumtif beta

Lactamase (resisten terhadap *Ampicillin*) maka akan dilanjutkan ke deteksi gen *bla_{TEM}* dan gen *stx2* menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

Tabel 4.2 Standar interpretasi diameter zona hambat (NCCLS, 2018)

Jenis Antibiotik	Diameter Zona Hambat (mm)		
	Sensitif (S)	Intermediet (I)	Resisten (R)
<i>Aztreonam</i> (30 µg)	≥ 21	18-20	≤ 17
<i>Ampicillin</i> (10 µg)	≥ 17	14-16	≤ 13
<i>Tetracycline</i> (30 µg)	≥ 15	12-14	≤ 11
<i>Gentamycin</i> (10 µg)	≥ 15	13-14	≤ 12
<i>Ciprofloxacin</i> (5 µg)	≥ 21	16-20	≤ 15

4.6.4 Ekstraksi DNA

Sebelum melakukan amplifikasi pada reaksi PCR, dilakukan proses ekstraksi DNA yang bertujuan untuk menarik DNA keluar dari sel bakteri. Ekstraksi DNA yang digunakan pada penelitian ini mengikuti prosedur Ekstraksi DNA Gram negatif batang QIAGEN KIT. Tahapannya yaitu mengambil 1-2 mata ose koloni kuman dan 180 µL Buffer ATL ke dalam microtube, lalu di vortek. Kemudian ditambahkan 20 µL Proteinase K dan diinkubasi 56° C selama 1 jam (laminar air flow), lalu di spindown. Selanjutnya ditambahkan 200 µL Buffer AL, di vortek 15 detik, dan di inkubasi 70° C selama 10 menit di waterbath, lalu spindown. Kemudian, ditambahkan 200 µL Ethanol (96-100%), di vortek 15 detik, lalu spindown. Lalu memindahkan suspensi ke spin column, sentrifuge 6000 g/80000 rpm (1 menit). Lalu ganti collection tube, ditambahkan 500 µL Buffer AW1, dan sentrifuge 6000 g/80000 rpm (1 menit). Selanjutnya ganti collection tube, ditambahkan 500 µL Buffer AW2, dan sentrifuge 20.000 g/14.000 rpm (3 menit). Lalu terakhir, pindahkan spin column

kedalam centrifuge tube, ditambahkan 200 µL Buffer AE, diinkubasi suhu kamar 1 menit, dan sentrifuge 6000 g/8000 rpm selama 1 menit. Kemudian DNA disimpan pada suhu -20° C untuk penyimpanan jangka panjang.

4.6.5 Amplifikasi DNA Menggunakan PCR

Untuk mendeteksi gen spesifik dilakukan dengan menggunakan metode molekuler *Polymerase Chain Reaction* (PCR). PCR merupakan proses yang didasarkan pada reaksi enzimatik invitro dalam amplifikasi DNA pada target tertentu dengan cara mensintesis molekul DNA baru yang berkomplemen dengan molekul DNA target dengan bantuan enzim dan oligonukleotida sebagai primer dalam suatu *thermocycler*. Empat komponen utama yang dibutuhkan untuk melakukan proses PCR yaitu DNA target, primer, DNA polymerase dan dNTP. Terdapat tiga tahapan dalam proses PCR yaitu denaturasi, annealing dan elongasi. Denaturasi yaitu proses pemisahan untai ganda DNA menjadi untai tunggal dengan menaikkan suhu perputaran hingga 94° C. Kemudian annealing yaitu proses penempelan primer pada DNA template dengan menurunkan suhu hingga 35-65° C. Elongasi yaitu tahap pemajangan yang dibantu oleh enzim DNA polymerase dan memiliki suhu perputaran sekitar 65-72° C (Prasetya, 2017).

Amplifikasi PCR dari gen *bla_{TEM}* dan gen *stx2* pada penelitian ini masing-masing dengan 21 µl reagen PCR mengandung 12,5 µL PCR *Master Mix*, 1 µL primer *forward* dan 1 µl primer *reverse*, 1 µL DNA *template* dan 5,5 µL RNase *free water*. Pencampuran reagen PCR dilakukan menggunakan *thermocycler*. Primer yang digunakan dan kondisi PCR ditunjukkan dalam tabel 4.3 berikut.

Tabel 4.3 Primer yang digunakan dalam amplifikasi PCR

Target Gen	Primer yang digunakan	Amplicon size (bp)	Kondisi & Perputaran Suhu
<i>bla_{TEM}</i>	F' : 5'-ATA AAA TTC TTG AAG ACG AAA-3'	1080 bp (Urutan basa nukleotida 1-1080)	Inkubasi awal pada suhu 94° C kemudian diikuti 30 siklus dari denaturasi pada 94° C selama 2 menit, aneling pada 52° C selama 30 detik, elongasi pada 72° C selama 45 detik dan elongasi akhir 72° C selama 5 menit.
	R' : 5'-GAC AGT TAC CAA TGC TTA ATC-3'		
<i>stx-2</i>	F' : 5'-CCA TGA CAA CGG ACA GCA GTT-3'	780 bp (Urutan basa nukleotida ke 399-1178)	Inkubasi awal 94° C selama 5 menit, lalu amplifikasi 35 siklus dengan denaturasi pada 94° C selama 60 detik, annealing 52° C selama 30 detik dan elongasi 72° C selama 60 detik serta ekstensi akhir pada 72° C selama 10 menit.
	R' : 5'-CCT GTC AAC TGA GCA CTT TG-3'		

Sumber : Ansharieta *et al.*, (2021).

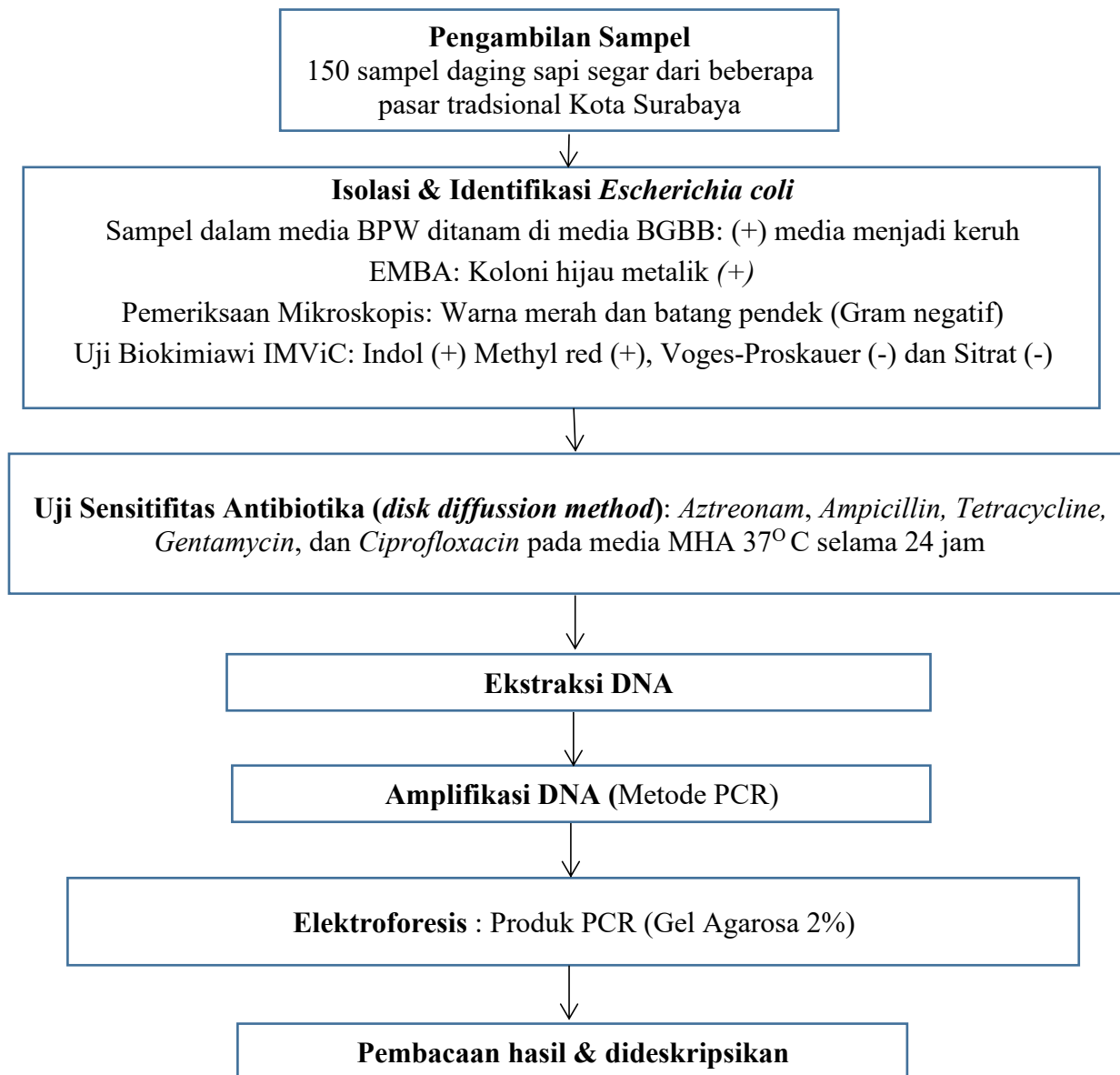
4.6.6 Elektroforesis Produk PCR

Produk PCR sebanyak 5µL dimasukkan ke dalam sumur gel agarosa 2% dan dielektroforesis pada 100 V selama 40 menit di dalam *tris-acetate buffer*. Kemudian divisualisasikan dengan pewarnaan etidium bromida, diiluminasikan dengan UV-transilluminator dan di dokumentasikan dengan peralatan dokumentasi gel. DNA ladder dengan 100 bp digunakan sebagai penanda untuk produk PCR. Hasil yang diperoleh berupa pola pita DNA dengan ukuran 1080 bp dinyatakan positif gen *bla_{TEM}* dan 780 bp dinyatakan positif gen *stx-2* (Ansharieta *et al.*, 2021).

4.7 Analisis Data

Data kualitatif yang diperoleh akan disajikan dalam bentuk tabel dan dipaparkan secara deskriptif.

4.8 Kerangka Operasional



Gambar 4.1 Diagram alir kerangka operasional

BAB 5 HASIL PENELITIAN

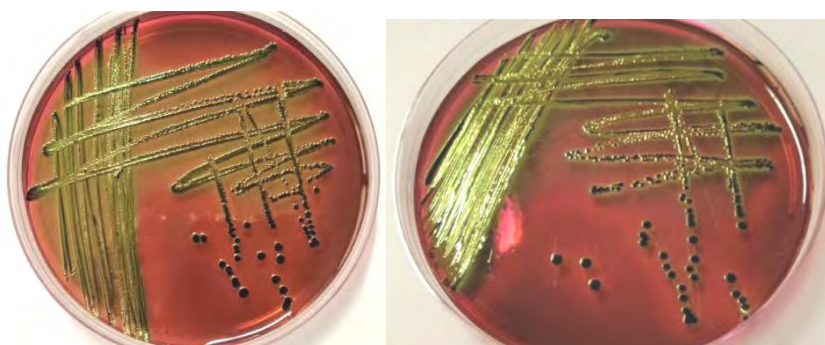
5.1 Isolasi dan Identifikasi *Escherichia coli*

Hasil isolasi dan identifikasi pada 150 sampel daging sapi segar dari beberapa Pasar Tradisional Kota Surabaya menunjukkan hasil positif *Escherichia coli* sebanyak 68 sampel (45,3%) seperti Tabel 5.1. Sampel swab daging sapi segar yang ditanam pada media *pre-enrichment* non-selektif dan resusitasi yaitu *Buffered Peptone Water* (BPW) menunjukkan 100% adanya pertumbuhan bakteri pada 150 sampel. Hal ini nampak dari perubahan warna media dari jernih menjadi keruh (Lampiran 4.d). Selanjutnya sampel positif pada media BPW ditanam pada media *selective enrichment* yaitu *Brilliant Green-bile Lactose Broth* (BGBB) dan menunjukkan hasil 100% positif adanya pertumbuhan bakteri coliform dari 150 sampel. Hal ini ditunjukkan dengan adanya perubahan warna media dari hijau jernih menjadi keruh serta adanya gas pada tabung Durham (Lampiran 4.e).

Tabel 5.1 Hasil isolasi dan identifikasi bakteri *Escherichia coli*.

No	Asal Sampel	Jumlah Sampel	Hasil Isolasi			Hasil Identifikasi					Jumlah Isolat <i>E. coli</i>
			BPW	BGBB	EMBA	Pewarnaan Gram	Indol	MR	VP	Sitrat	
1	Pasar Wonokromo	30	30	30	24	24	16	25	25	15	12 (40%)
2	Pasar Keputran	30	30	30	25	25	19	25	25	21	19 (63,3%)
3	Pasar Pacar keling	30	30	30	17	17	14	17	17	14	11 (36,6%)
4	Pasar Manukan	15	15	15	11	11	10	10	11	11	10 (66,6%)
5	Pasar Pabean	15	15	15	7	7	7	8	8	7	7 (46,6%)
6	Pasar Jagir	30	30	30	14	14	11	14	14	10	9 (30%)
Total		150	150	150	98	98	77	95	96	78	68 (45,3%)

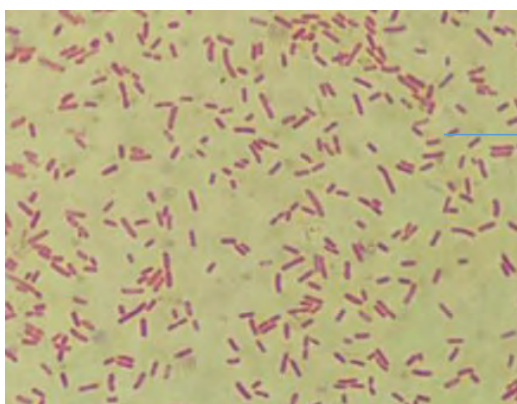
Sampel presumtif pada media BGGBB selanjutnya ditanam pada media selektif *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA). Dari 150 sampel menunjukkan hasil *suspect* bakteri *Escherichia coli* sebanyak 98 sampel (65,3%). Hal ini ditunjukkan dengan adanya pertumbuhan koloni hijau metalik dengan pusat koloni berwarna hitam pada media EMBA seperti Gambar 5.1 berikut.



Koloni hijau metalik
Dengan titik hitam
ditengahnya

Gambar 5.1 Hasil isolasi sekunder pada media EMBA, terdapat koloni khas hijau metalik dengan titik hitam ditengah yang diduga merupakan bakteri *E. coli*.

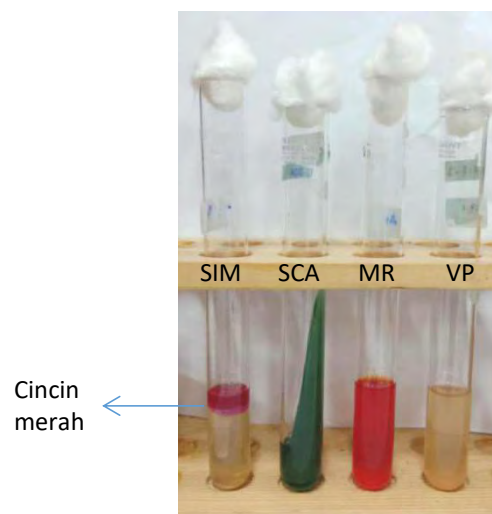
Kemudian koloni yang diduga bakteri *E. coli* diidentifikasi dengan pewarnaan Gram dan uji biokimiawi. Pada pewarnaan Gram, bakteri *E. coli* akan terlihat saat pemeriksaan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000x yaitu bakteri berwarna merah dan berbentuk batang pendek seperti gambar 5.2 berikut.



Diduga bakteri
E. coli

Gambar 5.2 Pemeriksaan mikroskopis perbesaran 1000x terhadap hasil pewarnaan Gram yang menunjukkan koloni bakteri nampak berwarna merah (Gram negatif) dan berbentuk batang pendek.

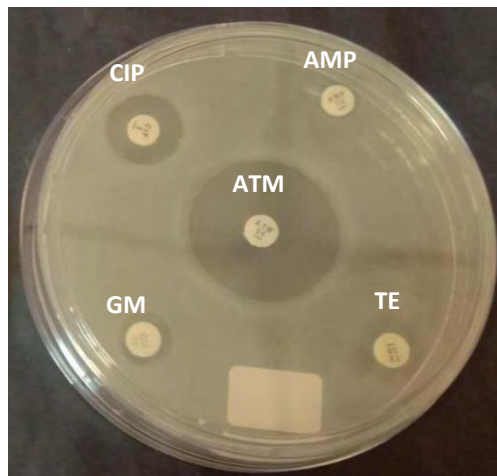
Identifikasi sifat-sifat fisiologi bakteri *Escherichia coli* dilakukan dengan uji biokimia. Hasil positif bakteri *Escherichia coli* ditunjukkan pada media SIM yaitu H₂S negatif, indol positif, dan motilitas positif. Pada media SCA yaitu sitrat negatif dan pada media MRVP menunjukkan hasil MR positif dan VP negatif seperti Gambar 5.3. Berdasarkan identifikasi, hasil positif bakteri *Escherichia coli* yang diperoleh yaitu sebesar 68 sampel dari 150 sampel (45,3 %).



Gambar 5.3 Hasil uji biokimiawi bakteri *Escherichia coli*. Pada media SIM, nampak bentukan cincin merah (Indol +), media SCA tetap berwarna hijau, media MR berubah merah, media VP tetap kuning jernih.

5.2 Uji Sensitivitas Antibiotik terhadap Bakteri *Escherichia coli*

Uji sensitivitas antibiotik terhadap isolat bakteri *Escherichia coli* dilakukan menggunakan metode difusi Kirby-Bauer dengan standar McFarland 0,5. Jenis antibiotika yang digunakan yaitu Aztreonam (30 µg), Ampicillin (10 µg), Tertracycline (30 µg), Gentamycin (10 µg), dan Ciprofloxacin (5 µg) dalam bentuk cakram yang ditanam pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA) seperti pada Gambar 5.4 berikut.



Gambar 5.4 Hasil uji sensitivitas antibiotika terhadap isolat bakteri *Escherichia coli* pada media MHA. Nampak terjadi resistensi terhadap antibiotik AMP: Ampicillin; TE: Tetracycline; GM: Gentamycin; CIP: Ciprofloxacin, namun masih sensitif terhadap antibiotik ATM: Aztreonam.

. Uji sensitivitas bakteri terhadap antibiotik ditandai dengan terbentuknya zona hambatan berupa zona bening pada sekeliling disk antibiotik yaang menandakan laju pertumbuhan *Escherichia coli* dihambat oleh antibiotik. Diameter zona hambat diukur menggunakan jangka sorong dengan satuan milimeter (mm). Hasil uji sensitivitas antibiotika terhadap isolat bakteri *Escherichia coli* yang diisolasi dari daging sapi segar di pasar Tradisional Kota Surabaya disajikan dalam Tabel 5.2.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa semua isolat *Escherichia coli* masih sensitif terhadap antibiotik *Aztreonam* yakni 68 isolat (100%). Kemudian pada antibiotik *Ampicillin* terdapat 50 isolat yang sensitif, lima isolat intermediet dan 13 isolat yang resisten. Pada antibiotik *tetracyclin* terdapat 51 isolat yang sensitif, lima isolat intermediet dan 12 isolat resisten. Selanjutnya pada antibiotik *Gentamycin*, terdapat 61 isolat yang sensitif, tiga isolat intermediet dan empat isolat resisten. Pada isolat *Ciprofloxacin* terdapat 61 isolat sensitif, tiga isolat

intermediet dan empat isolat resisten. Dari 68 isolat *Escherichia coli* terdapat empat isolat yang bersifat *multidrug resistance* yaitu isolat A1 dari pasar Wonokromo, A4 dari pasar Manukan, P11 dari pasar Manukan dan A19 dari pasar Pabean. Kemudian, dari 68 isolat terdapat 22 isolat *Escherichia coli* yang mengalami resisten terhadap antibiotik dan diperoleh profil resistensi yang ditunjukkan pada Tabel 5.3.

Tabel 5.2 Hasil uji sensitivitas antibiotika terhadap isolat *Escherichia coli*.

Asal Sampel	Antibiotik					Jumlah Isolat MDR
	<i>Aztreonam</i>	<i>Ampicillin</i>	<i>Tetracycline</i>	<i>Gentamycin</i>	<i>Ciprofloxacin</i>	
P. Wonokromo (12 isolat <i>E. coli</i>)	R : 0 (0%) I : 0 (0%) S : 12 (100%)	R : 3 (25%) I : 1 (8,3%) S : 8 (66,6%)	R : 2 (16,6%) I : 0 (0%) S : 10 (83,3%)	R : 1 (8,3%) I : 0 (0%) S : 11 (91,6%)	R : 0 (0%) I : 0 (0%) S : 12 (100%)	1 (8,3%)
P. Keputran (19 isolat <i>E. coli</i>)	R : 0 (0%) I : 0 (0%) S : 19 (100%)	R : 2 (10,5%) I : 1 (5,2%) S : 16 (84,2%)	R : 3 (15,7%) I : 4 (21%) S : 12 (63,1%)	R : 0 (0%) I : 0 (0%) S : 19 (100%)	R : 2 (10,5%) I : 0 (0%) S : 17 (89,4%)	0 (0%)
P. Pacar Keling (11 isolat <i>E. coli</i>)	R : 0 (0%) I : 0 (0%) S : 11 (100%)	R : 1 (9%) I : 2 (18,1%) S : 8 (72,7%)	R : 1 (9%) I : 1 (9%) S : 9 (81,8%)	R : 0 (0%) I : 0 (0%) S : 11 (100%)	R : 0 (0%) I : 2 (18,1%) S : 9 (81,8%)	0 (0%)
P. Manukan (10 isolat <i>E. coli</i>)	R : 0 (0%) I : 0 (0%) S : (100%)	R : 3 (30%) I : 0 (0%) S : 7 (70%)	R : 4 (40%) I : 0 (0%) S : 6 (60%)	R : 3 (30%) I : 1 (10%) S : 6 (60%)	R : 1 (10%) I : 0 (0%) S : 9 (90%)	2 (20%)
P. Pabean (7 isolat <i>E. coli</i>)	R : 0 (0%) I : 0 (0%) S : (100%)	R : 1 (14,2%) I : 1 (14,2%) S : 5 (71,4%)	R : 2 (28,5%) I : 0 (0%) S : 5 (71,4%)	R : 1 (14,2%) I : 2 (28,5%) S : 4 (57,1%)	R : 1 (14,2%) I : 0 (0%) S : 6 (85,7%)	1 (14,2%)
P. Jagir (9 isolat <i>E. coli</i>)	R : 0 (0%) I : 0 (0%) S : (100%)	R : 3 (33,3%) I : 0 (0%) S : 6 (66,6%)	R : 0 (0%) I : 0 (0%) S : 9 (100%)	R : 1 (11,1%) I : 0 (0%) S : 8 (88,8%)	R : 0 (0%) I : 1 (11,1%) S : 8 (88,8%)	0 (0%)
Total (68 isolat <i>E. coli</i>)	R : 0 (0%) I : 0 (0%) S : 68 (100%)	R : 13 (19,1%) I : 5 (7,3%) S : 50 (73,5%)	R : 12 (17,6%) I : 5 (7,3%) S : 51 (75%)	R : 4 (5,8%) I : 3 (4,4%) S : 61 (89,7%)	R : 4 (5,8%) I : 3 (4,4%) S : 61 (89,7%)	4 (5,8%)

Tabel 5.3 Profil resistensi isolat *Escherichia coli* terhadap antibiotik.

No	Nama Isolat	Asal Isolat	Profil Resistensi Antibiotik	Isolat MDR
1	A1	P. Wonokromo	AMP-TE-GM	√
2	G1	P. Wonokromo	AMP	
3	G9	P. Wonokromo	AMP	
4	G10	P. Wonokromo	TE	
5	A4	P. Keputran	TE	
6	C2	P. Keputran	AMP	
7	C3	P. Keputran	CIP	
8	C4	P. Keputran	TE	
9	E4	P. Keputran	AMP-TE	
10	G15	P. Keputran	CIP	
11	J4	P. Pacar keling	TE	
12	P9	P. Pacar keling	AMP	
13	A4	P Manukan	AMP-TE-GM	√
14	A6	P Manukan	TE-GM	
15	A8	P Manukan	AMP-TE	
16	P11	P Manukan	AMP-TE-GM-CIP	√
17	P16	P. Pabean	TE	
18	A19	P. Pabean	AMP-TE-GM-CIP	√
19	B14	P. Jagir	AMP	
20	W2	P. Jagir	AMP	
21	W6	P. Jagir	GM	
22	W7	P. Jagir	AMP	

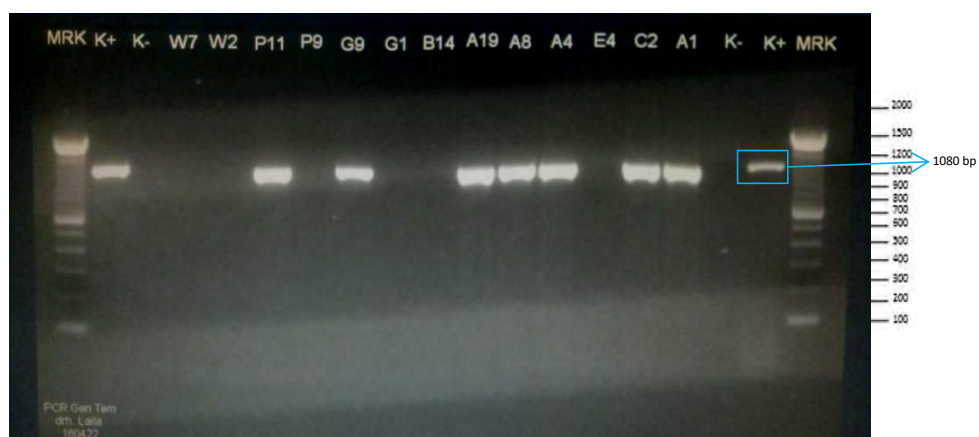
5.3 Deteksi Gen *bla*_{TEM} dan *stx2*

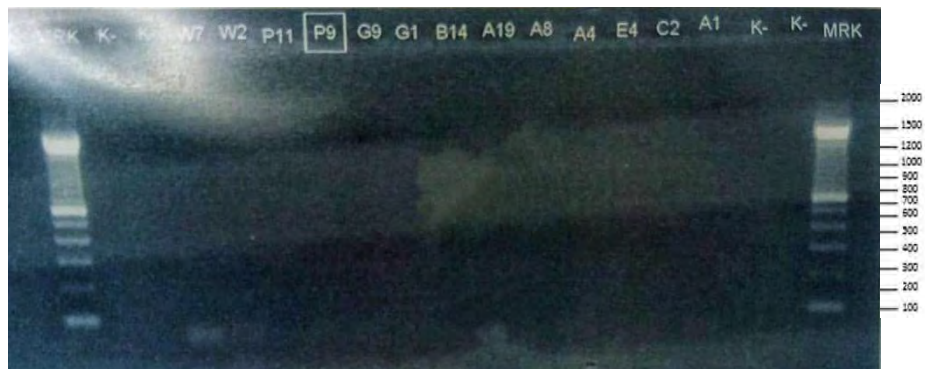
Isolat bakteri *Escherichia coli* yang resisten terhadap antibiotik *Ampicillin* dilanjutkan ke pemeriksaan PCR untuk mendeteksi adanya gen *bla*_{TEM} penyandi ESBL dan gen *stx2* penyandi toksin shiga. Dari 13 isolat yang resisten terhadap *Ampicillin*, ditemukan tujuh isolat yang memiliki gen *bla*_{TEM} penyandi ESBL (53,8%) dan tidak ditemukan gen *stx2* penyandi toksin shiga (0%). Hasil deteksi gen *bla*_{TEM} penyandi ESBL dan gen *stx2* penyandi toksin shiga dapat diamati pada Tabel 5.4 berikut.

Tabel 5.4 Hasil deteksi gen *bla*_{TEM} penyandi ESBL dan gen *stx2* penyandi toksin shiga pada isolat *E. coli*.

Nama Isolat	Asal Isolat	Gen yang Ditemukan	
		<i>bla</i> _{TEM}	<i>stx2</i>
A1	P. Wonokromo	Positif (+)	Negatif (-)
C2	P. Keputran	Positif (+)	Negatif (-)
E4	P. Keputran	Negatif (-)	Negatif (-)
A4	P. Manukan	Positif (+)	Negatif (-)
A8	P. Manukan	Positif (+)	Negatif (-)
A19	P. Pabean	Positif (+)	Negatif (-)
B14	P. Jagir	Negatif (-)	Negatif (-)
G1	P. Wonokromo	Negatif (-)	Negatif (-)
G9	P. Wonokromo	Positif (+)	Negatif (-)
P9	P. Pacar Keling	Negatif (-)	Negatif (-)
P11	P. Manukan	Positif (+)	Negatif (-)
W2	P. Jagir	Negatif (-)	Negatif (-)
W7	P. Jagir	Negatif (-)	Negatif (-)
Total Isolat Positif		7 (53,8%)	0 (0%)

Pada pemeriksaan gen *bla*_{TEM} digunakan kontrol positif *E. coli* ATCC 35218 dan kontrol negatif *E. coli* ATCC 25922. Pada pemeriksaan gen *stx2* digunakan kontrol negatif *E. coli* ATCC 25922. Hasil elektroforesis produk PCR, gen *bla*_{TEM} menunjukkan adanya band DNA sebesar 1080 *basepair* (bp) dan gen *stx2* menunjukkan adanya band DNA dengan panjang 780 bp. Hasil elektroforesis ditunjukkan pada Gambar 5.5 untuk gen *bla*_{TEM} dan Gambar 5.6 untuk gen *stx2*.

**Gambar 5.5** Hasil elektroforesis produk PCR gen *bla*_{TEM}. MRK: marker; K+: kontrol positif; K-: kontrol negatif; W7-A1: Isolat *E. coli*. Isolat *E. coli* positif memiliki gen *bla*_{TEM} jika terdapat band pada 1080 bp (P11, G9, A19, A5, A4, C2, A1).



Gambar 5.6 Hasil elektroforesis produk PCR gen *stx2*. MRK: marker; K+: kontrol positif; K-: kontrol negatif; W7-A1: Isolat *E.coli*. Isolat *E. coli* positif memiliki gen *stx2* jika terdapat band pada 780 bp.

BAB 6 PEMBAHASAN

6.1 Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Escherichia coli*

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat 68 isolat dari 150 sampel (45,3%) positif mengandung bakteri *Escherichia coli* yang berasal dari swab daging sapi segar di Pasar Tradisional Kota Surabaya. Penelitian ini menunjukkan hasil lebih tinggi dibanding penelitian Wardhana *et al.*, (2021) yang menunjukkan hasil positif bakteri *Escherichia coli* yang diisolasi dari daging sapi sebesar 43,3% (26/60). Penelitian Abayneh *et al.*, (2019) menunjukkan hasil sebesar 20,8% (35/168). Kemudian penelitian Eyi and Seza (2012) menunjukkan prevalensi *Escherichia coli* yang diisolasi dari daging sapi yaitu sebesar 25% (14/56). Dan penelitian Langgar dkk., (2021) yang menunjukkan hasil positif *Escherichia coli* sebesar 9,75% (4/21).

Selanjutnya, disisi lain penelitian ini juga menunjukkan hasil lebih rendah dibanding penelitian Dsani *et al.*, (2020) yang mendeteksi 48% (98/2015) *Escherichia coli* pada daging segar di Ghana. Penelitian Effendi *et al.*, (2020) yaitu 58% (29/50) ditemukan isolat *Escherichia coli* dari daging sapi di Pasar Tradisional Kota Surabaya. Penelitian Pratiwi *et al.*, (2020) menunjukkan adanya bakteri *Escherichia coli* sebesar 63% (19/30) pada daging sapi di Sidoarjo. Penelitian Sulaxono (2020) yaitu dari 189 sampel daging segar di Wilayah Kerja Balai Besar Veteriner Maros, ditemukan 85,19% (161/189) terkontaminasi *Escherichia coli*. Penelitian Indraswari dkk., (2022) menemukan 84,69% (83/98) *Escherichia coli* pada daging

sapi di Daerah Istimewa Yogyakarta. Penelitian Adzitey (2020) *Escherihchia coli* berhasil di isolasi dari daging sapi di RPH sebesar 88%.

Perbedaan pada prevalensi *Escherichia coli* dapat disebabkan karena perbedaan standar sanitasi dari kios pedagang daging segar. Standar sanitasi yang rendah dan praktik kebersihan yang jelek saat menangani daging berkontribusi terjadinya kontaminasi silang isolat *Escherichia coli* pada daging (Abayneh *et al.*, 2019). Hal ini sesuai dengan kondisi di lapangan, dimana para pedagang daging sapi segar di Pasar Tradisional Kota Surabaya masih menggunakan meja dan peralatan yang kurang terjaga kebersihannya. Beberapa meja masih menggunakan alas plastik yang tampak kotor dan pisau digunakan berulang serta dicuci pada bak air yang sama. Kondisi beberapa pasar juga berada di area jalan umum sehingga menyebabkan kondisi pasar nampak lebih kotor. Kondisi cuaca seperti hujan menyebabkan pasar menjadi becek. Kios-kios pedagang daging sapi juga berdampingan dengan bahan pangan lain seperti ikan, sayur dan sembako. Sehingga hal ini menambah resiko kontaminasi silang bakteri *Escherichia coli* pada daging sapi segar yang dijual di pasar Tradisional Kota Surabaya.

Hal ini sesuai dengan pendapat Harahap (2016) bahwa tempat penjualan daging sapi di pasar tradisional masih bercampur baur dengan penjual kebutuhan pokok lain, selain itu daging yang diletakkan di meja tidak steril, terbuka tanpa penutup, digantung pada suhu kamar, juga situasi pasar tradisional dengan kondisi lingkungannya dan segala kegiatan jual belinya memiliki potensi kontaminasi yang tinggi terhadap daging yang diperdagangkan (Harahap, 2016). Untuk mencegah kontaminasi yang tidak diinginkan, praktik jaminan kualitas harus

diterapkan, termasuk *Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP)* dan *Good Manufacturing Practices (GMP)* (Eyi and Seza, 2012).

Escherichia coli merupakan bakteri digunakan sebagai tolak ukur kualitas mikrobiologi pangan dan produk terkait pangan dalam hal kebersihan. Keberadaan *Escherichia coli* pada pangan digunakan sebagai indikator pencemaran lingkungan. Daging sapi merupakan bahan pangan yang memiliki sifat mudah rusak (*perishable food*) karena mengandung gizi yang dapat menjadi media pertumbuhan bakteri (Anjarina dkk., 2018). *Escherichia coli* adalah patogen foodborne zoonosis yang secara signifikan mendunia dengan sapi sebagai reservoir utamanya. Sapi potong menyebarkan bakteri ke lingkungan melalui fesesnya, yang kemudian ditransmisikan ke manusia melalui konsumsi daging setengah matang atau mentah yang terkontaminasi. Kontaminasi karkas sapi atau daging sapi dapat terjadi selama proses penyediaannya (Haile *et al.*, 2022).

Cemaran bakteri *Escherichia coli* pada daging sapi segar dapat dimulai dari RPH. Proses pemotongan ternak, utamanya saat proses pengulitan dan pengeluaran jeroan merupakan titik paling rentan terjadinya kontaminasi. Kontaminasi bakteri, selain dari tubuh hewan itu sendiri, juga dapat berasal dari lingkungan sekitar tempat pemotongan, kebersihan pekerja, dan peralatan yang digunakan (Anjarina dkk., 2018). Kemudian proses pengangkutan, pendistribusian dan penyimpanan seyogyanya tetap dalam rantai dingin. Tempat penyimpanan (*box*) pada kendaraan pengangkut daging harus tertutup dan dilengkapi dengan alat pendingin yang dapat mempertahankan suhu bagian dalam daging 7° C (Elsie,

I.H., 2016). Sebab diketahui bahwa bakteri dapat tumbuh dengan optimal pada suhu 37° C (Pratiwi *et al.*, 2020).

Pada hasil isolasi, nampak adanya pertumbuhan bakteri pada media BPW dan EMBA sebanyak 100% (150/150). Menurut Merck (2022) media BPW merupakan media *pre-eliminatory* dan *non selective pre-enrichment* untuk bakteri utamanya patogen Enterobacteriaceae bahan pangan. BPW merupakan media yang mengandung nutrisi tinggi dan menghasilkan tingkat resusitasi tinggi untuk bakteri yang memiliki kondisi buruk. *Phospat buffer system* mencegah kerusakan bakteri selama perubahan pH dari medium. Kandungan yang dimiliki media BPW sangat baik untuk menumbuhkan bakteri termasuk golongan Enterobacteriaceae sehingga diharapkan bakteri *E. coli* yang berasal dari swab daging segar dapat tumbuh dengan baik setelah diinkubasi selama 16-20 jam dengan suhu 37° C *aerobically*. Selanjutnya, untuk media BGLB merupakan media *selective enrichment* dan numerasi *E. coli* dan organisme coliform fekal. Media BGLB memiliki kandungan empedu (*bile*) dan *brilliant green* yang mampu menghambat flora normal yang tidak diinginkan. Proses fermentasi laktosa dengan adanya bentukan gas mengindikasikan adanya *E. coli* dan coliform fekal lainnya. Hal ini dapat dibuktikan dengan tabung durham. Dimana bakteri non fekal juga dapat tumbuh namun sebagian besar tidak menghasilkan gas.

Perbedaan jumlah hasil isolasi nampak pada media EMBA. Dimana semula nampak adanya 100% pertumbuhan pada media BGLB, namun menjadi 65,3% (98 sampel) yang tumbuh menjadi *presumtif E. coli* pada media EMBA. Hal ini dapat disebabkan karena media EMBA merupakan selektif diferensial untuk

mendeteksi, mengisolasi dan membedakan antara bakteri Enterobacteriaceae patogen utamanya *E. coli*. Media EMBA mengandung laktosa dan sukrosa sehingga bakteri Salmonella-Shigella akan menunjukkan hasil negatif laktosa dan sukrosa, organisme Coliform akan menunjukkan hasil positif laktosa dan sukrosa, dan flora normal seperti *Proteus vulgaris*, Citobacter, Aeromonas akan menunjukkan hasil laktosa negatif dan sukrosa positif (Merck, 2022).

EMBA juga merupakan media selektif karena dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan hanya menumbuhkan bakteri Gram negatif. Pertumbuhan mikroorganisme pengikut yang tidak diinginkan seperti bakteri Gram positif akan dihambat oleh adanya zat warna dalam medium yaitu eosin y dan metylene blue. Setelah diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 35° C *aerobically* maka akan nampak koloni Salmonella-Shigella *translucent* (berwarna kuning), Enterobacter dan Klebsiella koloni nampak lebih besar dari *E. coli*, ada mukoid (lendir) seperti anak sungai, titik tengah koloni coklat keabu-abuan. Koloni *E. coli* akan nampak hijau metalik, pada pantulan cahaya nampak titik tengah hitam atau biru. Hijau metalik pada koloni *E. coli* karena bakteri *E. coli* menfermentasi laktosa sehingga kadar asam pada media tinggi dan mengendapkan *methylene blue* (Langgar dkk., 2021).

Selanjutnya, pada identifikasi bakteri *E. coli* dilakukan pewarnaan Gram yang berfungsi untuk membedakan antara bakteri Gram positif dengan Gram negatif. Pewarna anilin dipasangkan dengan iodin, di dalam dinding sel bakteri membentuk kompleks *dye-iodine*. Pada Gram positif, kompleks *dye-iodine* kompleks dalam dinding sel tidak dapat dilarutkan dengan agen seperti alkohol

atau aceton sehingga sel bakteri akan tetap berwarna blue violet. Pada Gram negatif, kompleks *dye-iodine* dapat dilarutkan dengan alkohol/aceton sehingga warna cell menjadi merah muda/merah/orange sebagai hasil dari pewarnaan carbol fuhsin-safranin (Merck, 2022).

Escherichia coli merupakan bakteri Gram negatif yang termasuk dalam famili Enterobacteriaceae dan berbentuk batang pendek. Bakteri Gram negatif berwarna merah saat pewarnaan karena kompleks warna dari zat warna pertama yaitu kristal violet larut pada saat pemberian larutan pemucat (alkohol 95%) dan kemudian mengambil zat warna kedua yaitu safranin. Hal ini disebabkan karena struktur dinding sel bakteri Gram negatif yang tersusun atas kandungan lipid yang tinggi, sehingga pada saat pemberian alkohol 95% lipid menjadi larut. Larutnya lipid oleh alkohol menyebabkan pori-pori dinding sel membesar sehingga mengakibatkan lepasnya kompleks kristal violet dari peptidoglikan yang tidak tertaut kuat sehingga bakteri akan menyerap warna merah dari zat warna kedua yaitu safranin (Langgar dkk., 2021).

Identifikasi isolat bakteri *E. coli* juga dilakukan melalui uji biokimiawi *Indol*, *Methyl Red-Voges Proskauer*, dan *Citrate* (IMViC) menggunakan beberapa media. Pada media *Sulphid Indol Motility* (SIM) dapat diketahui bentukan sulfida (produksi H₂S), produksi indol, dan motilitas bakteri *E. coli*. Hasil akan nampak setelah menanam bakteri pada media semisolid SIM dengan cara ditusuk dan diinkubasi 18-24 jam dengan suhu 35^o C. Bentukan H₂S ditunjukkan dengan adanya warna hitam pada media. Uji indol dilakukan dengan menambahkan reagen Kovac pada media dan hasil positif jika pada lapisan permukaan atas

membentuk cincin merah atau merah muda. Pada uji indol, bakteri memecah triptofan ketika mencerna peptone untuk menghasilkan asam piruvat, amonia dan indol. Indol bereaksi dengan *4-dimetyl aminobezaldehyd* (aldehida) yang tidak larut air dan membentuk cincin merah. Motilitas diindikasikan dengan adanya kekeruhan difus dari media pertumbuhan mengelilingi garis tusukan seperti pohon cemara terbalik. Bakteri *E.coli* akan menunjukkan hasil H₂S negatif, indol positif dan motilitas positif (Merck, 2022).

Media MR-VP Broth digunakan untuk uji diferensiasi biokimiawi khususnya grub coli-aerogens (*Escherichia and Aerobacter*) dan direkomendasikan untuk pemeriksaan daging. Uji MR dilakukan untuk mendeteksi produksi asam yang stabil dan fermentasi glukosa. Beberapa bakteri menggunakan glukosa untuk membentuk sejumlah asam, sehingga menyebabkan nilai pH media turun hingga 4,4. Bakteri lain tidak terlalu menghasilkan asam sehingga nilai pH tidak terlalu turun. Perbedaan tersebut dapat dilihat dengan methyl red sebagai indikator pH. Dimana warna kuning menunjukkan pH 5,1 dan warna merah menunjukkan pH 4,4.

Kemudian Uji VP dilakukan untuk mengetahui produksi acetoin. Banyak bakteri memebtabolisme glukosa untuk memproduksi acetoin (*acetyl metil carbinol*), 2-3 butanediol/diacetyl. Keberadaan metabolit tersebut dapat dilihat dengan reagen O'MEARA'S, cairan cooper sulfat, atau reagen BARRIT'S. Penambahan fumarat ke media meningkatkan reaksi. Jika glukosa pecah, maka akan bereaksi dengan alfa naphthol dan KOH sehingga menghasilkan warna merah. Acetoin teroksidasi ketika inkubasi. Acetoin berikatan dengan KOH menjadi diacetyl lalu guanidin (komponen pepton) yang jika ditambah dengan alfa naphthol

menjadi berwarna merah. Langkah kerjanya yaitu isolat diinokulasikan pada media dan diinkubasi selama dua hingga empat hari dengan suhu 35° C. Kemudian uji MR dilakukan dengan menambahkan lima tetes indikator methyl red, sedangkan uji VP dilakukan dengan menambahkan lima tetes cooper sulfat atau cairan BARRIT (suspensi 5 g alfa naphthol/100 ml etanol dan 1 ml pottasium hydroxide (KOH) 40% (Merck, 2022).

Media *Simmon Citrate Agar* (SCA) berfungsi untuk mengidentifikasi Enterobacteriaceae berdasarkan kemampuannya dalam memetabolisme sitrat menjadi sumber energi karbohidrat satu-satunya. Dimana metabolisme sitrat menyebabkan media menjadi basa/alkalinisasi media, yang diindikasikan dengan perubahan warna dari indikator pH yaitu bromotymol blue dari hijau ke biru. Isolat yang dikultur dengan cara streak pada permukaan miring media lalu diinkubasi selama 24-48 jam dengan suhu 35° C *aerobically*. *E. coli* menghasilkan sitrat negatif yaitu tetap hijau, tidak berubah warna (Merck, 2022).

6.2 Uji Sensitivitas Bakteri *Escherichia coli* terhadap Antibiotik

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa 68 isolat *E. coli* pada daging sapi segar di Pasar Tradisional Kota Surabaya memiliki sensitivitas yang berbeda pada setiap antibiotik yang digunakan. Semua isolat *Escherichia coli* masih sensitif terhadap antibiotik *Aztreonam* yakni 68 isolat. Kemudian pada antibiotik *Ampicillin* terdapat 50 isolat yang sensitif, lima isolat intermediet dan 13 isolat yang resisten. Pada antibiotik *tetracyclin* terdapat 51 isolat yang sensitif, lima isolat intermediet dan 12 isolat resisten. Selanjutnya pada antibiotik *gentamycin*, terdapat 61 isolat yang sensitif, tiga isolat intermediet dan empat

isolat resisten. Pada isolat *Ciprofloxacin* terdapat 61 isolat sensitif, tiga isolat intermediet dan empat isolat resisten.

Aztreonam merupakan antibiotik golongan monobaktam. Pada penelitian ini, *Aztreonam* digunakan sebagai indikator presumtif ESBL. Namun hasil laboratoris menunjukkan bahwa semua isolat *Escherichia coli* masih sensitif terhadap antibiotik *Aztreonam*. Hal ini sejalan dengan penelitian Nadira dkk., (2018) yang menemukan isolat *Escherichia coli* dari sampel feses sapi masih 100% sensitif terhadap *Aztreonam*. Hal ini disebabkan karena antibiotik *Aztreonam* jarang digunakan di peternakan. Namun, hasil ini berbeda dengan hasil penelitian Ansharieta dkk., (2021) yang menunjukkan bahwa isolat *E. coli* dari susu sapi segar di Jawa Timur mengalami resistensi terhadap *Aztreonam* sebesar 2,16%.

Ampicillin merupakan antibiotik golongan *penicillin*. Pada penelitian ini digunakan sebagai indikator adanya enzim beta laktamase. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 19% isolat *Escherichia coli* mengalami resisten terhadap *Ampicillin* (13/68). Tingkat resistensi *Escherichia coli* pada penelitian ini paling tinggi diamati pada antibiotik *Ampicillin*, dimana hal ini mengikuti pola umum yang dilaporkan pada penelitian sebelumnya bahwa lebih dari 50% antibiotik beta laktam mengalami resistensi terhadap isolat yang berasal dari pangan asal hewan. Seperti penelitian Dsani *et al.*, (2020) yang menemukan resistensi *Escherichia coli* yang diisolasi dari daging sapi sebesar 57%.

Pada hewan penghasil pangan, termasuk sapi, antibiotik turunan *Ampicillin* dan *Penicillin* seringkali digunakan dalam pengobatan infeksi bakteri. Selain itu, antibiotik golongan *penicillin* pada manusia juga yang sering digunakan dalam

pengobatan infeksi seperti infeksi saluran kemih. Sehingga hal ini perlu menjadi perhatian tentang pemilihan pengobatan untuk terapi infeksi yang disebabkan *Escherichia coli*. *Ampicillin* merupakan obat golongan beta laktam yang bekerja dengan cara menghambat sintesis dinding bakteri. Antibiotik golongan beta laktam berikatan dengan *Penicillin-Binding Protein* (PBPs) pada bakteri, sehingga menghambat sintesis dinding sel bakteri karena proses trans-peptidase antar rantai peptidoglikan terganggu, lalu terjadi aktivasi enzim proteolitik pada dinding sel. Resistensi *Ampicillin* dapat terjadi oleh beberapa faktor, salah satunya terbentuknya enzim beta *Lactamase* yang diekskresikan oleh bakteri Gram negatif ke rongga periplasmik diantara membran sitoplasma dan dinding sel bakteri sehingga dapat mencapai target antibiotik yang tepat untuk mengganggu cara kerja antibiotik tersebut (Arivo dan Ai, 2017).

Tetracycline merupakan antibiotik yang diperoleh dari jamur *Streptomyces aureofaciens*. Pada penelitian ini, *Escherichia coli* mengalami resistensi terhadap *tetracycline* sebesar 17,6%. Hasil ini lebih rendah dibanding penelitian Dsani *et al.*, (2020) yang mengalami resistensi sebesar 45%. Penelitian Dsani *et al.*, (2020) menunjukkan bahwa bakteri *Escherichia coli* yang diisolasi dari daging sapi segar mengalami resisten terhadap antibiotik *tetracycline* 45%. Penelitian Adzitey *et al.*, (2021) menunjukkan bahwa antibiotik *Tetracycline* mengalami resisten terhadap bakteri *Escherichia coli* yang diisolasi dari daging sapi lebih dari 50%. Penelitian Pratiwi *et al.*, (2020) yang menemukan resistensi pada antibiotik *tetracycline* 84,2% (16/19).

Antibiotik *tetracycline* bersifat bakteriostatik dan berspektrum luas karena peka terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Shigella*, *Salmonella*, *Proteus* dan *Pseudomonas* (Pelt dkk., 2016). *Tetracycline* efektif melawan bakteri Gram negatif dan Gram positif. Antibiotik *tetracycline* telah diproduksi secara sintesis. Antibiotik ini bekerja dengan cara menghambat ribosom 30S dan mengikat aminoacyl-tRNA (Sumampouw, 2018). *Tertrasiklin* digunakan untuk terapi manusia, ternak dan untuk promosi pertumbuhan dalam sistem peternakan intersif melalui pakan. Kemampuan transfer yang tinggi dari penentu resistensi *Tetracycline* pada bakteri usus ternak berkontribusi pada tingkat resistensi *Tetracycline* yang diamati pada *Escherichia coli* yang diisolasi dari daging mentah, produk daging dan lingkungan (Shin *et al.*, 2015).

Gentamycin merupakan antibiotik golongan *Aminoglycoside* yang bekerja mengganggu sintesis protein dengan mengikat sub unit ribosom 30S. Pada penelitian ini, 5% isolat *Escherichia coli* mengalami resistensi terhadap *Gentamycin*. Hasil ini serupa dengan penelitain Pratiwi *et al.*, (2020) yang menemukan resistensi *Escherichia coli* terhadap antibiotik *Gentamycin* 5,2%. Penelitian Effendi *et al.*, (2020) yang juga menemukan isolat *Escherichia coli* dari daging sapi di Surabaya yang resisten terhadap antibiotik *gentamycin* 5% (1/17). Penelitian Dsani *et al.*, (2020) menunjukkan bahwa bakteri *Escherichia coli* yang diisolasi dari daging sapi segar mengalami resisten terhadap antibiotik *gentamycin* sebesar 3%. Kemudian penelitian Adzitey *et al.*, (2021) menunjukkan bahwa resistensi antibiotik *Gentamycin* sebesar 28%.

Cara kerja antibiotik golongan *Aminoglycoside* yaitu berdifusi melalui porin protein pada membran luar bakteri Gram negatif, masuk ke ruang periplasmik dan mengikat ribosom 30S sehingga terjadi hambatan sintesis protein. Terikatnya aminoglikosi pada ribosom, mempercepat transpor aminoglikosid ke dalam sel, diikuti dengan kerusakan membran sitoplasma dan disusul dengan kematian sel. Hal tersebut karena adanya miss reading kode genetik mRNA yang mengakibatkan terganggunya sintesis protein (Arivo dan Ai, 2017).

Ciprofloxacin merupakan antibiotik kelas fluoroquinolone dan diperoleh secara sintesis. Pada penelitian ini 5% isolat *Escherichia coli* mengalami resistensi terhadap *Ciprofloxacin*. Penelitian serupa yaitu Dsani *et al.*, (2020) yang menemukan resistensi *Escherichia coli* terhadap antibiotik *Ciprofloxacin* sebesar 8%. Penelitian Adzitey *et al.*, (2021) menunjukkan bahwa antibiotik *Ciprofloxacin* 30,5% mengalami resisten terhadap bakteri *Escherichia coli* yang diisolasi dari daging sapi. Penelitian Effendi *et al.*, (2020) yang juga menemukan isolat *Escherichia coli* dari daging sapi di Surabaya yang resisten terhadap antibiotik *Ciprofloxacin* yaitu 35% (6/17).

Ciprofloxacin efektif melawan bakteri Gram positif dan Gram negatif dengan cara menghambat asam nukleat yaitu Deoksiribosa Nucleat Acid (DNA/Asam Nukleat deoxyribosa). *Ciprofloxacin* bersifat bakteriosidal karena menghambat replikasi DNA dengan cara mengikatkan diri pada sebuah enzim DNA gyrase (tipe II topoisomerase) yang menyebabkan kerusakan pada kromosom bakteri. Hal ini disebabkan karena enzim gryase yang berfungsi untuk memisahkan untai

ganda DNA saat replikasi tidak dapat bekerja. *Ciprofloxacin* efektif digunakan pada bakteri Enterobacteriaceae, termasuk *Escherichia coli* (Sumampouw, 2018).

Antibiotik yang paling baik digunakan untuk menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* yaitu *Ciprofloxacin* (Sumampouw, 2018). Antibiotik *Ciprofloxacin* sebenarnya dilarang untuk digunakan pada hewan penghasil pangan, namun beberapa petani tetap menggunakan antibiotik tersebut untuk mengobati dan mencegah infeksi, utamanya untuk meningkatkan pertumbuhan hewan secara praktis. Sehingga hal tersebut menyebabkan angka resistensi antibiotik pada hewan penghasil pangan meningkat. Saat ini resistensi beta laktam pada bakteri Gram negatif yang berasal dari hewan meningkat. Bahkan 98,63% ESBL produksi *Escherichia coli* merupakan bakteri *multidrug resistance* (Yang Feng *et al.*, 2018).

Dari 68 isolat *Escherichia coli* terdapat empat isolat (5,8%) yang bersifat *multidrug resistance* (MDR) yaitu isolat A1 dari pasar Wonokromo, A4 dari pasar Manukan, P11 dari pasar Manukan dan A19 dari pasar Pabean. Hal ini serupa dengan penelitian Effendi *et al.*, (2020) yang menemukan 35% (6/17) isolat *Escherichia coli* MDR pada daging sapi. Penelitian Adinepekun *et al.*, (2015) juga menunjukkan adanya resistensi antibiotik *Aminoglycoside*, *Beta-laktam*, *Cephalosporin*, *Fluoroquinolon* dan *Tetracycline* pada *Escherichia coli* yang diisolasi dari pangan asal hewan. Kemudian penelitian Adzitey *et al.*, (2021) menunjukkan bahwa bakteri *Escherichia coli* yang diisolasi dari daging segar 51,1% mengalami MDR. Serta penelitian Dsani *et al.*, (2020) yang menemukan isolat *Escherichia coli* yang diisolasi dari daging segar mengalami MDR sebesar

22% (22/98). *Multidrug resistance* (MDR) merupakan kondisi dimana bakteri mengalami resisten lebih dari tiga golongan antibiotik. MDR telah menyebar secara luas di seluruh dunia, utamanya pada bakteri Gram negatif seperti *Escherichia coli* (Effendi *et al.*, 2020).

Bakteri penghasil ESBL biasanya bersifat *Multidrug resistance* terhadap antibiotik non beta laktam termasuk *Fluoroquinolon*, *Aminoglycoside*, *Tetracycline*, *Sulfametoksazol* dan *Chloramphenicol*, yang membuat pengobatan menjadi lebih sulit. Penelitian baru-baru ini juga melaporkan bahwa adanya peningkatan prevalensi *Escherichia coli* penghasil ESBL pada hewan penghasil pangan di berbagai belahan dunia. Hal ini dapat menimbulkan potensi risiko bagi kesehatan masyarakat karena isolat dan gen resistensi dapat ditransfer ke manusia melalui rantai makanan (Yang Feng *et al.*, 2018).

Antibiotik menjadi solusi pengobatan infeksi bakteri umum dan memainkan peran penting dalam mengurangi angka kematian. Terapi antibiotik dapat mengurangi durasi penyakit dan mencegah suatu penyakit. Namun peningkatan progresif dalam resistensi antibiotik antara patogen enterik di negara berkembang menjadi area penting untuk diperhatikan. Selain itu, penyalahgunaan antibiotik dalam pengobatan bisa menyebabkan peningkatan resistensi antibiotik. Penggunaan antibiotik yang monotonus tanpa prosedur yang tepat dapat menyebabkan peningkatan resistensi antibiotik dan kebiasaan pemberian antibiotik pada ternak juga dapat meningkatkan organisme usus yang resisten terhadap antibiotik (Pratiwi *et al.*, 2020).

Pola resistensi antibiotik yang dilaporkan pada penelitian ini berbeda atau mirip dengan penelitian lain disebabkan karena perbedaan sampel yang diperiksa, prosedur pengambilan sampel, perbedaan waktu dan tahun pengambilan sampel, breakpoint yang digunakan, serta tingkat penggunaan antibiotik pada peternakan dan manusia untuk tujuan pengobatan. Dimana dilaporkan bahwa antibiotik beta laktam, fluoroquinolon, dan *Aminoglycoside* seringkali digunakan untuk pengobatan infeksi *Escherichia coli* pada manusia (Adzitey, 2015). Kemudian antibiotik golongan *Penicillin* dan *Aminoglycoside* juga sering digunakan dalam pengobatan infeksi bakteri pada ternak sapi (Mustika dkk., 2015).

Pada penelitian ini, hasilnya mengindikasikan bahwa antibiotik *Aztreonam* masih efektif untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh isolat *E. coli* pada daging sapi segar di Pasar Tradisional Kota Surabaya, kemudian isolat *Escherichia coli* 95% masih sensitif terhadap *Gentamycin* dan *Ciprofloxacin*. Hal ini sama seperti penelitian Adzitey (2015) dimana bakteri *Escherichia coli* yang diisolasi dari daging sapi masih 95,56% sensitif terhadap *Ciprofloxacin* dan 75,56% sensitif terhadap *Gentamycin*. Berdasarkan hasil penelitian, maka antibiotik *Aztreonam*, *Ciprofloxacin* dan *Gentamycin* dapat dijadikan antibiotik pertama yang dipilih untuk mengobati infeksi *Escherichia coli*.

6.3 Deteksi Gen *bla*_{TEM}

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 13 isolat *Escherichia coli* resisten *Ampicillin* yang di isolasi dari daging sapi segar di Pasar Tradisional Kota Surabaya ditemukan tujuh isolat (53,8%) memiliki gen *bla*_{TEM} penyandi *Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL) dan empat diantaranya merupakan

isolat MDR (A1, A4, A19, dan P11). Hasil ini lebih tinggi dibanding penelitian Dsani *et al.*, (2020) yang mendeteksi gen *bla*_{TEM} sebesar 4% (4/98) pada isolat *Escherichia coli* yang diisolasi dari daging sapi segar di Ghana.

Penggunaan antibiotik yang tidak tepat dan berlebihan menyebabkan tekanan selektif yang mendukung pertumbuhan bakteri resisten. Kolonisasi bakteri resisten dalam usus manusia dan hewan menyebabkan transmisi gen resistensi bakteri dalam flora usus melalui transfer gen horizontal oleh plasmid konjugatif. ESBL sebagian besar dikodekan oleh gen dalam plasmid. Enterobacteriaceae diidentifikasi memiliki plasmid yang membawa gen resistensi. Gen *bla*_{TEM} terletak pada plasmid (Muhammad *et al.*, 2014). Kelompok plasmid IncFII diketahui sebagai kelompok yang mengkode gen ESBL dan tersebar secara luas di Enterobacteriaceae dan disebut kelompok plasmid resisten epidemi. *bla*_{TEM} merupakan salah satu gen ESBL dominan di dunia dan ditemukan dari isolat manusia, hewan dan lingkungan. Gen *bla*_{TEM} ditemukan utamanya pada isolat bakteri *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumoniae* (Soekoyo *et al.*, 2020).

Gen *bla*_{TEM} merupakan beta-laktamase yang paling sering ditemukan pada bakteri Gram negatif. Sebesar 90% resistensi Ampicillin pada *Escherichia coli* disebabkan oleh adanya gen *bla*_{TEM} (Alcock *et al.*, 2020). Adanya bakteri resisten pada hewan penghasil pangan dan produk pangan asal hewan disebabkan karena penggunaan antibiotik untuk tujuan terapeutik dan non terapeutik yang secara terus menerus dalam sistem produksi. Selain itu, daging sapi segar dapat terkontaminasi patogen resisten antibiotik pada titik pemotongan dan penjualan yang tidak higienis. Meskipun tekanan selektif menjadi penyebab utama, kondisi

sanitasi tempat pemotongan, penjualan dan pengolahan dapat mempengaruhi pola intensitas penyebaran di sepanjang rantai makanan (Dsani *et al.*, 2020).

Diketahui bahwa mekanisme utama populasi mikroba dapat bertahan hidup dalam situasi terancam yaitu dengan mutasi genetik, ekspresi dari suatu gen resistensi laten, atau melalui gen yang memiliki determinan resistensi. Terdapat bakteri yang memiliki gen ekstrakromosomal berupa plasmid atau bakteriofag. Faktor resistensi yang dipindahkan dapat berlangsung dari kromosom ke plasmid atau vice versa pada transposon atau integron, dimana yang dapat dipindahkan adalah plasmid faktor R yang disebut plasmid penular (infectious plasmid) melalui konjugasi, transformasi maupun transduksi. Sehingga adanya bakteri *Escherichia coli* pada penelitian ini yang memiliki gen resistensi *blaTEM* penyandi ESBL dimungkinkan adanya oleh plasmid atau gen dalam kromosom yang membawa sifat resistensi. Transposon yang mengandung gen resistensi mengadakan inversi ke plasmid sehingga gen resistensi dapat dipindahkan ke sel lain.

6.4 Deteksi Gen *stx2*

Penelitian ini tidak menemukan adanya gen *stx2* pada 13 isolat *Escherichia coli* resisten *Ampicillin* yang di isolasi dari daging sapi segar di Pasar Tradisional Kota Surabaya. Hal ini berbeda dengan penelitian Dulami *and* Ibrahim (2018) yang menemukan 29,7% (14/47) daging yang diambil dari pasar modern atau supermarket terdeteksi adanya toksin Shiga (*stx2*) dengan pengujian PCR. Begitu juga dengan penelitian Brasa *et al.*,(2017) bahwa 5,8% (193/3193) daging sapi yang diambil dari rumah potong hewan mengandung *Escherichia coli* yang

mengandung toksin shiga. Kemudian penelitian Samad *et al.*, (2018) bahwa ditemukan 50% isolat *Escherichia coli* yang isolasi dari daging sapi di Pakistan positif memiliki toksin shiga (20% *stx1*, 45% *stx2*, dan 10% *stx1* dan *stx2*). Di Amerika melaporkan adanya kasus infeksi *Escherichia coli* penghasil toksin shiga yang berasal dari produk daging sapi sebanyak sebelas orang dari lima negara bagian, tujuh orang dirawat di rumah sakit dan satu orang mengalami uremia hemolitik karena kegagalan ginjal (Sulaxono, 2020).

Pada penelitian ini, gen yang dipilih untuk mendeteksi toksin shiga yaitu *stx2*. Hal ini karena pada penelitian sebelumnya gen toksin shiga yang paling banyak ditemukan pada pangan asal hewan yaitu *stx2* dibanding *stx1*. Penelitian yang dilakukan pada daging sapi potong di Argentina mengungkapkan adanya *stx2* yang tinggi dalam bakteri *Escherichia coli*. Begitu juga dengan penelitian di Turki yang menunjukkan adanya bakteri *Escherichia coli* dari daging sapi cincang yang memiliki 16,6% gen *stx1* dan 50% gen *stx2*. Kemudian, sampel daging sapi eceran di Mesir menunjukkan keberadaan 46,7% gen *stx1* dan 86,7% gen *stx2*. (Ansharieta *et al.*, 2021; Samad *et al.*, 2018).

BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan, maka kesimpulan dari penelitian ini yaitu:

1. Ditemukan isolat bakteri *Escherichia coli* pada daging sapi segar di Pasar Tradisional Kota Surabaya sebesar 45,3% (68/150).
2. Pola resistensi bakteri *Escherichia coli* pada daging sapi segar di Pasar Tradisional Kota Surabaya yaitu ada delapan antara lain AMP, TE, GM, CIP, AMP-TE, TE-GM, AMP-TE-GM, AMP-TE-GM-CIP.
3. Ditemukan gen *blaTEM* penyandi ESBL pada isolat bakteri *Escherichia coli* yang resisten terhadap *Ampicillin* dari daging sapi segar di Pasar Tradisional Kota Surabaya sebesar 53,8% (7/13).
4. Tidak ditemukan gen *stx2* penyandi toksin shiga pada isolat bakteri *Escherichia coli* yang resisten terhadap *Ampicillin* dari daging sapi segar di Pasar Tradisional Kota Surabaya.

7.2 Saran

Berdasarkan kesimpulan, maka saran dari penelitian ini yaitu :

1. Ditemukannya bakteri *Escherichia coli* pada daging sapi segar maka perlu adanya peningkatan *higene* pedagang daging sapi segar serta sanitasi lingkungan di Pasar Tradisional Kota Surabaya. Pemerintah diharapkan dapat melakukan pembinaan dan pengawasan secara rutin kepada para pedagang daging sapi di pasar tradisional untuk menjaga kebersihan daging sapi mulai

dari RPH sampai dijual di pasar. Konsumen sebaiknya menerapkan petunjuk dasar seperti praktik higienis yang baik, memasak daging yang baik, suhu penyimpanan yang memadai dan menjauhi kontaminasi silang untuk mencegah bahaya yang ditimbulkan oleh bakteri *Escherichia coli* yang terdapat pada daging sapi segar di Pasar Tradisional Kota Surabaya.

2. Adanya pola resistensi bakteri *Escherichia coli* terhadap antibiotik yang beragam dan MDR, maka penting dilakukan penggunaan antibiotik yang rasional (tepat obat dan tepat dosis) untuk menunjang keberhasilan pengobatan pada penyakit yang disebabkan oleh *Escherichia coli*. Perlu disiapkan adanya alternatif antibiotik baru atau jenis yang lain untuk mengatasi resistensi akibat adanya enzim ESBL.
3. Ditemukannya gen *bla*_{TEM} penyandi ESBL pada isolat *Escherichia coli* yang diteliti, maka perlu dilakukan deteksi gen penyandi ESBL yang lain yang dihasilkan oleh *Escherichia coli* pada daging sapi segar yang dijual di pasar tradisional kota Surabaya agar data yang diperoleh lebih lengkap.
4. Tidak ditemukannya gen *stx2* penyandi toksin shiga maka perlu adanya penelitian lanjutan untuk mendeteksi gen lain penyandi toksin shiga (*stx1*) yang dihasilkan oleh *Escherichia coli* pada daging segar di Pasar Tradisional Kota Surabaya.

DAFTAR PUSTAKA

- Abayneh, M., Tesfaw, G., Woldemichael, K., Yohannis M., and Abdissa, A. 2019. *Assessment of extended-spectrum β lactamase (ESBLs) – producing *Escherichia coli* from minced meat of cattle and swab samples and hygienic status of meat retailer shops in Jimma town, Southwest Ethiopia*. BMC Infectious Diseases (2019)19:897.
- Adenipekun, E.O, Jackson, C.R, Oluwadun, A, Iwalokun, B.A, Frye, J.G, Barrett, J.B, Hiott, L.M, and Woodley, T.A. *Prevalence and antimicrobial resistance in *Escherichia coli* from food animals in Lagos, Nigeria*. Microb Drug Resist. 2015; 21: 358- 365.
- Adzitey, F. 2020. *Incidence and antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* isolated from beef (meat muscle, liver and kidney) samples in Wa Abattoir, Ghana*. Cogent Food & Agriculture, 6:1, 1718269, DOI: 10.1080/23311932.2020.1718269
- Adzitey, F., Nurul H. and Amir H.M.S. 2021. *Phenotypic Antimicrobial Susceptibility of *Escherichia coli* from Raw Meats, Ready-to-Eat Meats, and Their Related Samples in One Health Context*. Microorganisms 2021, 9, 326. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9020326>
- Adzitey, F. 2015. *Antibiotic Resistance of *Escherichia coli* Isolated from Beef and its Related Samples in Techiman Municipality of Ghana*. Asian Journal of Animal Sciences 9 (5): 233-240, 2015 ISSN 1819-1878 / DOI: 10.3923/ajas.2015.233.240
- Akya, A., Ahmadi, M., Khodamoradi, S., Rezaei, M.R., Karani, N., Elahi, A., Lorestani, R.C., and Rezaei, M. 2019. *Prevalence of blaCTX-M, blaCTX-M-2, blaCTX-M-8, blaCTX-M-25 and blaCTX-M-3 genes in *Escherichia coli* isolated from urinary tract infection in Kermanshah City, Iran*. J. Clin. Diagnostic Res. 2019, 13, DC04–DC07.
- Alcock B.P., Raphenya, A.R., Lau, T.T.Y., Tsang, K.K., Bouchard, M., and Edalatmand, A. 2020. *CARD 2020: antibiotic resistance surveillance with the Comprehensive Antibiotic Resistance Database*. Nucleic Acids Research, 48, D517-D525. Diakses dari laman <https://card.mcmaster.ca/ontology/36023> (21/06/2022)
- Anjarina, P., Kawuri, R., dan Yulihastuti, D.A.. 2018. *Uji Kandungan *Escherichia coli* dan Total Bakteri pada Daging dan Organ Dalam Sapi di Rumah Potong Hewan (RPH) Kota Denpasar dan Kabupaten Badung*. Jurnal Metamorfosa V (2):171-176 (2018).
- Ansharieta, R., Effendi, M.H., and Plumeriastuti, H. 2021. *Genetic Identification of Shiga Toxin Encoding Gene from Cases of Multidrug Resistance (MDR)*

Escherichia coli Isolated from Raw Milk. Tropical Animal Science Journal, March 2021, 44 (1):10-15.

- Ansharieta, R., Ramandinianto, S. C., Effendi, M.H., and Plumeriastuti H. 2021. *Molecular identification of blaCTX-M and blaTEM genes encoding extended spectrum beta lactamase (ESBL) producing Escherichia coli isolated from raw wos's milk in East Java Indonesia*. Biodiversitas Vol. 22, Number 4, P. 1600-1605.
- Arivo, Debi dan Dwiningtyas, A.W. 2017. Uji Semsitivitas Antibiotik terhadap *Escherichia coli* Penyebab Infeksi Saluran Kemih. Jurnal Ilmu Kedokteran dan Kesehatan, Volume 4, Nomor 4, Oktober 2017.
- Aslan, S., Altindis, M., Kara, R., Demiray, T., and Koroglu, M. 2018. *Detection and Evaluation of Escherichia coli O157:H7 and Shiga-toxin Genes stx1, stx2 in Cattle Meat Samples*. Clin Lab 2018 Oct 31;64(11). doi: 10.7754/Clin.Lab.2018.180323.
- Badan Penanggulangan Bencana Nasional (BAPPENAS). 2019. Fungsi Kesehatan Masyarakat (*Public Health Functions*) dan *Health Security*. Kementerian PPN/BAPPENAS. Cetakan pertama : April 2019. ISBN: 978-602-50133-9-3
- Badan Pusat Statistik Jawa Timur (BPS Jatim). 2018. Jumlah Penduduk dan Laju Pertumbuhan Penduduk Menurut Kabupaten/Kota di Provinsi Jawa Timur, 2010, 2016 dan 2017. Badan Pusat Statistika Provinsi Jawa Timur. Diakses dari laman <https://jatim.bps.go.id> (9/12/2020)
- Bahri, S., Rokhim, S., dan Prasiska, S.Y. 2019. Kontaminasi Bakteri *Escherichia coli* pada Sampel Daging. Journal of Health Science and Prevention Vol 3 No 1 April 2019 – ISSN 2459-919x
- Bajpai, Trupti., M. Pandey, M. Varma, and G. S. Bhatambare. 2017. *Prevalence of TEM, SHV, and CTX-M Beta-Lactamase genes in the urinary isolates of a tertiary care hospital*. Avicenna J Med 2017;7:12-6.
- Bakri, Z., Hatta, M., dan Massi, M. N. 2015. Deteksi Keberadaan Bakteri *Escherichia coli* O157:H7 pada Feses Penderita Diare dengan Metode Kultur dan PCR. JST Kesehatan, April 2015, Vol.5 No.2 : 184 – 192 ISSN 2252-5416.
- Biutifasari, V. 2018. *Extended Spectrum Beta-Lactamase (ESBL). Literature Study*. Oceana Biomedicina Journal. Vol 1 No 1 Jan-Jun 2018.
- Brasa V, Restovich V, Galli L, Teitelbaum D, Signorini M, Brasessco H, Londero A, Superno V, Sans M, Petroli S, Costa M, Bruzzzone M, Succari A, Fereghini M, Linares L, Suberbie G, Rudriques R, and Leotta GA. 2017. Isolation and characterization of O157 Shiga toxin producing *Escherichia coli* from beef carcasses cuts and trimming of abbatoirs in Argentina. PloS one 12 (8), e01833248.CABI Data Mining, 2001. *Escherichia coli*. Diakses dari <https://www.cabi.org/isc/datasheet/83003> (15/3/2020).

- Canton R., and Coque, T.M. 2006. *The CTX-M β -Lactamase pandemic*. Curr Opin Microbiol 2006;9:466-75
- Canton, R., Novais. A., Valverde, A., Machado, E., Peixe, L., and Baquero, F. 2008. *Prevalence and spread of Extended Spectrum β -Lactamase producing Enterobacteriaceae in Europe*. Clin Microbiol Infect 2008;14 Suppl 1:144-53.
- Canton, R., Alba, J.M.G., and Galán, J.C. 2012. *CTX-M enzymes: Origin and diffusion*. Front. Microbiol. 2012, 3, 110.
- Cassini, A, Högberg, L.D., Plachouras, D., Quattrocchi, A., Hoxha, A., Simonsen, G.S., Colomb-Cotinat, M., Kretzshmar, M.E., Devlesschauwer, B., Cecchini, M., dkk. 2019. *Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and the European Economic Area in 2015: A population-level modelling analysis*. Lancet Infect. Dis. 2019, 19, 56–66.
- Castanheira, M., Simner, P.J., and Bradford, P.A. 2021. *Extended-spectrum β -lactamases: an update on their characteristics, epidemiology and detection*. JAC Antimicrob Resist doi:10.1093/jacamr/dlab092
- CDC. 2019. *ESBL-producing Enterobacterales in Healthcare Settings*. Diakses dari laman <https://www.cdc.gov/hai/organisms/ESBL.html> (31/3/2021)
- Cesur, S. and Demiroz. A.P. 2013. *Antibiotics and The Mechanisms of Resistance to Antibiotics*. Review Article Pharmacology. Medical Journal of Islamic World Academy of Sciences 21:4, 138-142.
- Dahesihdewi, A., Sugianli, A.K., and Parwati, I. 2019. *The surveillance of antibiotics resistance in Indonesia: a current reports*. Bali Med J. Volume 8, Number 2: 474-479 P-ISSN.2089-1180, E-ISSN.2302-2914
- Dirar, M.H., Bilal, N.E., Ibrahim, M.E., and Hamid, M.E. 2020. *Prevalence of extended-spectrum Beta-lactamase (ESBL) and molecular detection of blaTEM, blaSHV and blaCTX-M genotypes among Enterobacteriaceae isolates from patients in Khartoum, Sudan*. Pan African Medical Journal. 2020;37(213). 10.11604/pamj.2020.37.213.24988
- Dulami S., and Ibrahim, N. 2018. *Occurance and characterization of pathogenic Escheria coli isolated from beef meat imported from South Africa and marketed in United Arab Emirates*. AIP Cpnf Proc., 1940, O2073.
- Effendi, M.H., Cicilia, R., Rahmahani, J., and Tyasningsih, W. 2020. *Public Awareness for Antimicrobial Resistance from Escherichia coli Isolated from Beef Sold on Several Wet Market in Surabaya, Indonesia*. Indian Journal of Public Health Research & Development, September 2020, Vol. 11, No. 9
- Eklund, M. 2005. *Enterohemorrhagic Escherichia coli (EHEC) Findings from Humans in Finland*. Publications of the National Public Health Institute A23/2005. University of Helsinki, Finland.

- Harahap, E.I. 2016. Isolasi *Escherichia coli* pada Daging Sapi Segar yang Diperoleh dari Beberapa Pasar Tradisional di Pekanbaru. Jurnal Photon Vol. 7 Nomor 1, Oktober 2016
- Etebu, E. and Arikekpar, I. 2016. *Antibiotics: Classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspectives*. Int. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. Res.4, 90-101.
- Eyi, A., and Arslan S. 2012. *Prevalence of Escherichia coli in retail poultry meat, ground beef and beef*. Med. Water. 2012, 68 (4).
- Falagas, M.E. and Karageorgopoulos, D.E. 2009. *Extended-spectrum β -Lactamase-producing organisms*. J. Hosp. Infect. 2009, 73, 345–354
- Fannisa, F. 2022. Prevalensi dan Profil Resistansi Antimikroba pada Salmonella sp. Dari Daging Ayam di Pasar Tradisional Kota Surabaya. Tesis. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.
- Fikri, F., Hamid, I.S., dan Purnama, M.T.E. 2017. Uji Organoleptis, pH, Uji Eber dan Cemarkan Bakteri pada Karkas yang Diisolasi dari Kios di Banyuwangi. J Med Vet 2017, 1(1):23-27. eISSN: 2581-012X | 23
- Geser N., Stephan, R., and Hachler, H. 2012. *Occurance and characteristics of extended-spectrum- β -lactamase (ESBL) producing Enterobacteriaceae in Food-producing animals, minced meat and raw milk*. BMC Vet Res;8;21
- Guo, S., Aung, K.T., Lee, P., Tay, M. Y. F., Seow, K. L. G., Zhong, Y., Ng, L.C., Aarestrup, F.M.E., and Schlundt J. 2020. *Prevalence and genomic analysis of ESBL-producing Escherichia coli in retail raw meats in Singapore*. J Antimicrob Chemother doi:10.1093/jac/dkaa461
- Hadi, U., Kuntaman, K. Qiptiyah, M., and Paraton, H. 2013. *Problem of Antibiotic Use and Antimicrobial Resistance in Indonesia: Are We Really Making Progress?*. Indonesian Journal of Tropical and Infectious Disease, Vol. 4. No. 4 October–December 2013: 5–8.
- Haile, A.F, Alonso, S., Berhe, N., Atoma, T.B., Boyaka, P.N., and Grace, D. 2022. *Prevalence, Antibigram, and Multidrug-Resistant Profile of E. coli O157: H7 in Retail Raw Beef in Addis Ababa, Ethiopia*. Front. Vet. Sci. 9:734896. doi: 10.3389/fvets.2022.734896
- Halim, F., Warouw, S.M., Rampengan, N.H., dan Salendu, P. 2017. Hubungan Jumlah Koloni *Escherichia coli* dengan Derajat Dehidrasi pada Diare Akut. Sari Pediatri, Vol. 19, No. 2, Agustus 2017
- Hassuna, N. A., Khairalla, A. S., Farahat, E. M., Hammad A. M., and Fattah, M. A. 2020. *Molecular characterization of Extended-spectrum β lactamase producing Escherichia coli recovered from community-acquired urinary tract infections in Upper Egypt*. Scientific Reports (2020) 10:2772.

- Horton RA, Randall LP, Snary EL, Cockrem H, Lotz S, and Wearing H. 2011. *Fecal carriage and shedding density of CTX-M extended-spectrum β -lactamase-producing Escherichia coli in cattle, chickens, and pigs: Implications for environmental contamination and food production*. Appl Environ Microbiol 2011;77:3715-9.
- Huijbers, P.M., Graat, E.A., Haenen, A.P., van Santen M.G., van Essen-Zandbergen A., and Mevius, D.J. 2014. *Extended-spectrum and ampC β -lactamase-producing Escherichia coli in broilers and people living and/or working on broiler farms: Prevalence, risk factors and molecular characteristics*. J Antimicrob Chemother 2014;69:2669-75.
- Imasari, T. 2017. Prevalensi dan Pola Genotif SHV, TEM, CTX-M Bakteri Enterobacteriaceae Penghasil Extended Spectrum β -Lactamase dari Feses Sapi Perah dan Penduduk Sekitar Peternakan di Surabaya. Abstrak. Thesis. Universitas Airlangga. Diakses dari laman [https://repository.unair.ac.id/62238/\(25/5/2022\)](https://repository.unair.ac.id/62238/(25/5/2022))
- Inderbinen, M.N., Kindle, P., Baschera, M., Liljander, A., Jores, J., Cormand, V. M., and Stephan, R. 2020. *Antimicrobial resistant and extended-spectrum β -lactamase (ESBL) producing Escherichia coli isolated from fecal samples of African dromedary camels*. Scientific African 7 (2020) e00274.
- Indraswari, A., Dyah A. W., Aris H., dan I Wayan S. 2022. Diarrheagenic *Escherichia coli* pada Daging Sapi di Daerah Istimewa Yogyakarta serta Pola Resistensinya terhadap Antibiotika. Abstrak. Diakses dari laman <http://etd.repository.ugm.ac.id/penelitian/detail/207078> (20/06/2022).
- Irrgang, A., Hammer, J. A., Falgenhauer, L., Guiral, E., Schmoger, S., Imirzalioglu, C., Fischer, J., Guerraa, B., Chakraborty, T., and Käsbohrer, A. 2018. *Diversity of CTX-M-1-producing E. coli from German food samples and genetic diversity of the blaCTX-M-1 region on IncII ST3 plasmids*. Veterinary Microbiology 221 (2018) 98-104.
- Jang, J., H.-G. Hur, M.J. Sadowsky, M.N. Byappanahalli, T. Yan and S. Ishii. 2017. Environmental *Escherichia coli*: ecology and public health implications—a review. Journal of Applied Microbiology 123, 570--581 doi:10.1111/jam.13468
- Jena, J., Sahoo, R.K., Debata N.K., and Subudhi, E. 2017. *Prevalence of TEM, SHV, and CTX-M genes of extended-spectrum Beta-lactamase-producing Escherichia coli strains isolated from urinary tract infections in adults*. 3 Biotech. (2017) 7: 244.
- Kayastha, K., Dhungel, B., Karki, S., Adhikari, B., Banjara, M.R., Rijal, M.R., and Ghimire, P. 2020. *Extended Spectrum Beta Lactamase - Producing Escherichia coli and Klebsiella Species in Pediatric Patients Visiting International Friendship Children's Hospital, Kathmandu, Nepal*. Infectious Disease: Research and Treatment Vol 13:1-7

- Khoirani, K., Indrawati, A., and Setiyaningsih, S. 2019. *Detection of Ampicillin Resistance Encoding Gene of Escherichia coli from Chickens in Bandung and Purwakarta*. JRVI. Vol. 3 No 1, pp.42-26
- Klimiene, I., Virgailis, M., Kerziene, S., Siugzdiniene, R., Mockeliunas, R., and Ruzauskas, M. 2017. *Evaluation of genotypical antimicrobial resistance in ESBL producing Escherichia coli phylogenetic groups isolated from retail poultry meat*. J Food Saf. 2017;e12370. <https://doi.org/10.1111/jfs.12370>
- Kock, Al. 2022. *Escherichia coli bacteria with Nucleoid DNA, Ribosomes, Cytoplasm, Flagellum and Fimbriae*. Diakses dari www.dreamstime.com (12/1/2022)
- Kusuma, S.A.F.K. 2010. Makalah *Escherichia coli*. Fakultas Farmasi, Universitas Padjajaran.
- Langgar, S.M.C., Ebenhaizer M.U., Sanam, A.I.R., dan Detha, D. 2021. Prevalensi *Escherichia coli* pada Daging Sapi di Rumah Potong Hewan Oeba Kota Kupang. Jurnal Veteriner Nusantara. Vol. 4 No.1.
- Lee, K., Yong, D., Jeong, S.H., Tulgaa, K., Docquier, J.-D., Rossolini, G.M., and Chong, Y. 2017. *Genetic and biochemical characterisation of CTX-M-37 extended-spectrum β -lactamase from an Enterobacter cloacae clinical isolate from Mongolia*. J. Glob. Antimicrob. Resist. 2017, 10, 3–7.
- Li, M., Liu, Q., Teng, y., Ou, l., Xi, Y., Chen, S., and Duan, G. 2019. *The resistance mechanism of Escherichia coli induced by ampicillin in laboratory*. Infection and Drug Resistance 2019:12 2853–2863.
- Li, Y., Zhang, M., Luo, J., Chen, J., Wang, Q., Lu, S., and Ji H. 2020. *Antimicrobial resistance of Escherichia coli isolated from retail foods in northern Xinjiang, China*. Food Science & Nutrition, 8(4), 2035–2051. doi:10.1002/fsn3.1491
- Maqbool, M., Akmal, M.N., and Tahir, A. 2020. *Antimicrobial Resistance and Drug Profile of Ampicillin*. IAJPS 2020, 07 (03), 687-690
- Mawaddah, I. 2018. Asuhan Keperawatan pada Klien Infeksi Saluran Kemih (ISK) dengan Masalah Gangguan Eliminasi Urine (Di Ruang Dahlia RSUD Jombang). Karya Tulis Ilmiah: Studi Kasus. Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Insan Cendekia Media. Jombang.
- Mensah, D.O., Noah O.N., Evelyn Y.B., Ebenezer O.M., Kingsley I.D., Yaa D.O., and Sammy T.S. 2016. *Genetic characterization of TEM-type ESBL-associated antibacterial resistance in Enterobacteriaceae in a tertiary hospital in Ghana*. Ann Clin Microbiol Antimicrob 15:29. DOI 10.1186/s12941-016-0144-2.
- Merck. Microbiology Manual 12th Edition. Diakses pada 1/4/2022.
- Michael, G.B., Kaspar, H., Siqueira, A.K., Costa, E.F., Corbellini, L.G., Kadlec, K., and Schwarz, S. 2016. *Extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing*

- Escherichia coli* isolates collected from diseased food-producing animals in the GERM-Vet monitoring program 2008–2014. Vet. Microbiol. (2016), <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2016.08.02>
- Minh, S.H., Kimura, E., Minh, D.H., Honjoh, K.I., and Miyamoto, T. 2015. *Virulence characteristics of Shiga toxin-producing Escherichia coli from raw meats and clinical samples*. Microbiol Immunol 2015; 59: 114–122 doi: 10.1111/1348-0421.12235
- Montso, K.P., Dlamini, S.B., Kumar, A., and Ateba, C.N. 2019. *Antimicrobial Resistance Factors of Extended-Spectrum Beta-Lactamases Producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae Isolated from Cattle Farms and Raw Beef in North-West Province, South Africa*. Hindawi BioMed Research International Volume 2019, Article ID 4318306, 13 pages.
- Mu'arofah, B., Arizandy, R.Y., Utomo, B., and Kuntaman, K. 2020. *Detection Of Extended Spectrum B-Lactamase (ESBL) Gene Patterns Of Enterobacteriaceae In Broiler Chicken Meat Sold In Traditional Markets In The East Surabaya*. STRADA Jurnal Ilmiah Kesehatan Vol.9 No.1. May 2020. Page.12-19
- Muhammad, I., Golparian, D., Dillon, J.O.R., Johansson, A., Ohnishi, M., Sethi, S., Chen, S.C., Nakayama, S.I., Sundqvist, M., Bala, M., and Unemo, M. 2014. *Characterisation of bla_{TEM} genes and types of β -lactamase plasmids in Neisseria gonorrhoeae – the prevalent and conserved bla_{TEM}-135 has not recently evolved and existed in the Toronto plasmid from the origin*. BMC Infectious Diseases 2014, 14:454.
- Mundi, N. 2018. *Karakterisasi Profil Resistensi Antibiotik pada Escherichia coli yang Diisolasi dari Daging Ayam yang Dijual di Beberapa Pasar di Kota Surabaya*. Tesis. Program Studi Magister Ilmu Penyakit dan Kesehatan Masyarakat Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga. Surabaya.
- Mustika, O.C., Komang, J.P.P, dan Wayan I.S. 2015. *Uji Kepekaan Escherichia coli O157:H7 Feses Sapi di Kecamatan Kuta Selatan Badung Bali Terhadap Antibiotik*. Indonesia Medicus Veterinus Agustus 2015 4(4) : 342-350 pISSN : 2301-7848; eISSN: 2477-6637
- Nadira, S., Indrawati, A., Supriatna, I., 2018. *Uji Sensitivitas beberapa Antibiotika terhadap Isolat Escherichia coli dari Sampel Feses Sapi Bakalan Asal AUstralia*. Abstrak. Diakses dari laman <https://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/94731> (20/06/2022).
- Naelasari, D.N., Koendhori, E.B., Dewanti, L., Sulistiawati, Sarassari, R., and Kuntaman, K. 2018. *The Prevalence of Extended Spectrum Beta Lactamase (ESBL) Producing Gut Bacterial Flora among Patients in Dr. Soetomo Hospital and Primary Health Center in Surabaya*. Fol Med Indones, Vol. 54 No. 4 December 2018 : 256-262
- Nagano, N., Endoh, Y., Nagano, Y., Toyama, M., Matsui, M., and Shibayama, K. 2013. *First report of OXA-48 carbapenemase-producing Klebsiella*

- pneumoniae and Escherichia coli in Japan from a patient returned from Southeast Asia*. Jpn J Infect Dis 2013;66:79-81. 60.
- Naseer, U., and Sundsford, A. 2011. *The CTX-M Conundrum: Dissemination of plasmids and Escherichia coli clones*. Microb. Drug Resist. 2011, 17, 83–97.
- Nazmi, M., Mahardik, N.M.A., dan Gunardi, W.D. 2017. Kejadian Infeksi Saluran Kemih oleh Bakteri *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumoniae* Extended Spectrum Beta Lactamase: Studi Kasus di Rumah Sakit Swasta Periode 2012-2015. J. Kedokt Meditek Volume 23, No. 62 April - Juni 2017
- National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). 2018. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria Grow Aerobically : Approve Standard M7-A5 and Informational Supplement M100-S12*.
- Nobrega, D.B., and Brocchi, M. 2014. *An overview of extended-spectrum β -Lactamases in veterinary medicine and their public health consequences*. J Infect Dev Ctries 2014; 8(8):954-960
- Normaliska, R., Sudarwanto, M.B., dan Latif, H. 2019. Pola Resistensi Antibiotik pada *Escherichia coli* penghasil ESBL dari Sampel Lingkungan di RPH-R Kota Bogor. Akta Veterinaria Indonesiana Vol. 7, No. 2:42-48
- Okuno, K., Sharda, P.A, Germán, A.K., Atsushi, I., Noritoshi, H., Atsushi, H., Rubén, J.L., and Shinji Y. 2021. *Prevalence, O-genotype and Shiga toxin (Stx) 2 subtype of Stx-producing Escherichia coli strains isolated from Argentinean beef cattle*. J. Vet. Med. Sci. 83(4): 630–636, 2021 doi: 10.1292/jvms.21-0002
- Palmeira, J.D., Haenni, M., Matayer, V., Madec, J.Y., and Ferreira H.M.N. 2020. *Epidemic spread of IncII/pST113 plasmid carrying the Extended-Spectrum Beta-Lactamase (ESBL) blaCTX-M-8 gene in Escherichia coli of Brazilian cattle*. Veterinary Microbiology 243 (2020) 108629
- Parathon, H., Kuntaman, K., Widiastoety, T. H., Muliawan, B. T., Karuniawati, A., Qibtiyah, M., Djanun, Z., Zunilda, Thawilah, J. F., Aditama, T., Thamlikitkul, V., and Vongand, S. 2017. *Progress towards antimicrobial resistance containment and control in Indonesia*. BMJ 2017;358:j3808 <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.j3808>
- Pelt, N., Sanam M.U.E., and Alisabet, T. 2018. Isolasi, Prevalensi dan Uji Sensitivitas Antibiotik terhadap *Escherichia coli* Serotipe O157 pada Ayam Buras yang Diperdagangkan di Pasar Tradisional di Kota Kupang. Jurnal Veteriner Nusantara Vol.1 No. 1
- Pitout, J.D., and Laupland, K.B. 2008. *Extended-spectrum β -Lactamase-producing Enterobacteriaceae: An emerging public health concern*. Lancet Infect Dis 2008;8:159-66.

- Poirel, L., Madec, J.Y., Lupo, A., Schink, A.K., Kieffer, N., Nordmann, P., and Schwarz, S. (2018). *Antimicrobial Resistance in Escherichia coli*. Microbiology Spectrum, 6(4). doi:10.1128/microbiolspec.arba-0026-2017
- Prasetya, P.W. 2017. Deteksi Gen Temoneira (TEM) pada Golongan Enterobacteriaceae Penghasil Extended Spectrum Beta Lactamase (ESBL) Menggunakan Metode Polymerase Chain Reaction (PCR) dari Sampel Feses Anak Sekolah Dasar di Kota Makassar, Sulawesi Selatan. Skripsi. Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.
- Prasetya, Y.A., Winarsih I.Y., Pratiwi K.A., Hartono M.C., dan Rochimah D.N. 2019. Deteksi Fenotipik *Escherichia coli* Penghasil Extended Spectrum Beta-Lactamases (ESBLs) pada Sampel Makanan di Krian Sidoarjo. Life Science 8 (1) 2019.
- Pratiwi, P.B., S. Hidanah, M. H. Effendi, A. T. S. Estoepangestie, D. Rahardjo and Wiwiek Tyasningsih. 2020. *Antibiotic Resistance Profile of Escherichia coli Isolated from Beef Sold At Several Wet Market in Sidoarjo, Indonesia*. Poll Res. 39 (4) : 1262-1265 (2020)
- Rahayu, W.P., Siti Nurjanah dan Ema Komalasari. 2005. *Escherichia coli* : Patogenitas, Analisis dan Kajian Resiko. Penerbit IPB Press. Bogor, Indonesia.
- Ramos, S., Silva, V., Dapkevicius, M.L.E., Caniça, M., Junco, M.T.T., Igrejas G., and Poeta P. 2020. *Escherichia coli* as Commensal and Pathogenic Bacteria among Food-Producing Animals: Health Implications of Extended Spectrum β -Lactamase (ESBL) Production. Animals 2020, 10, 2239; doi:10.3390/ani10122239
- Randal, L.P., Lodge, M.P., Elviss, N.C., Lemma, F.L., Hopkins, K.L., Teale, C.J., and Woodford, N. 2017. *Evaluation of meat, fruit and vegetables from retail stores in five United Kingdom regions as sources of extended-spectrum β -Lactamase (ESBL)-producing and carbapenem-resistant Escherichia coli*. International Journal of Food Microbiology 241 (2017) 283–290
- Rawat, D. and Nair, D. 2010. *Extended-spectrum β -lactamases in Gram negative bacteria*. J. Glob. Infect. Dis. 2010, 2, 263–274.
- Reygaert, Wanda C. 2018. *An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria*. AIMS Microbiology, 4(3):482-501.
- Rupp, Mark E and Daul D. Fey. 2003. *Extended Spectrum Beta-Lactamase (ESBL)-Producing Enterobacteriaceae*. Departement of Internal Medicine. University of Nebraska Medical Center. Omaha, Nebraska, USA.
- Safitri, D. R., Cicilia, R., Bintari, I.G., Hermawan, I.P., Effendi, M.H., Ernawati, R., and Rahmahani, J. 2017. *Detection of Encoding Gene Extended Spectrum Beta Lactamase on Escherichia coli Isolated from Broiler Chicken Meat in Traditional Market Surabaya*. Faculty of Veterinary Medicine, Universitas Airlangga. IJDR Vol. 07, Issue, 11, pp.17354-17357

- Safitri, D.R. 2018. Deteksi Gen *bla*_{TEM} Sebagai Penyandi Extended Spectrum Beta Lactamase pada *Escherichia coli* yang Diisolasi dari Daging Ayam Broiler di Pasar Tradisional Surabaya. Tesis. Program Studi Magister Ilmu Penyakit dan Kesehatan Masyarakat Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga. Surabaya.
- Salverda, M.L.M., J. Arjan G.M.de Visser and Miriam Barlow. 2010. *Natural evolution of TEM-1 Beta Lactamase: Experimental reconstruction and clinical relevance*. FEMS Microbiol Rev 34 (2010)1015-1036.
- Samad, A., Abbas, F., Ahmad, Z., Tanveer, Z., Ahmad, I., Patching, S.G., Nawaz, N., Asmat, M.T., Raziq, A., Naeem, A.M., Akhtar, M.A., Pokryshko, O., and Mustafa, M.Z. 2018. *Multiplex polymerase chain reaction detection of Shiga toxin genes and antibiotic sensitivity of Escherichia coli O157:H7 isolated from beef meat in Quetta, Pakistan*. J Food Saf. 2018;e12540
- Satari, M.H. 2013. Multidrug Resistance (MDR) Bakteri Terhadap Antibiotik. Bagian Oral Biologi/Mikrobiologi. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Padjajaran.
- Shabana, I.I., and Al-Enazi, A.T. 2020. *Investigation of plasmid-mediated resistance in Escherichia coli isolated from healthy and diarrheic sheep and goats*. Saudi Journal of Biological Sciences 27 (2020) 788–796.
- Shin SW, Shin MK, Jung M, Belaynehe KM, and Yoo HS. *Prevalence of antimicrobial resistance and transfer of tetracycline resistance genes in Escherichia coli isolates from beef cattle*. Appl Environ Microbiol. 2015; 81(16):5560–6
- Shinha, S., Sen, S.K., and Dam, B. 2019. *Comparative sequence analysis identified multiple replication systems and virulence determinants to be frequently encoded on large plasmids of Escherichia coli*. Ecological Genetics and Genomics 12 (2019) 100039.
- Silago, V., Kovacs, D., Samson, H., Seni, J., Matthews, L., Oravcová, K., Lupindu, A.M., Hoza, A.S., and Mshana, S.E. *Existence of Multiple ESBL Genes among Phenotypically Confirmed ESBL Producing Klebsiella pneumoniae and Escherichia coli Concurrently Isolated from Clinical, Colonization and Contamination Samples from Neonatal Units at Bugando Medical Center, Mwanza, Tanzania*. Antibiotics 2021, 10, 476. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10050476>
- SNI 3932:2008. 2008. Mutu Karkas dan Daging Sapi. Badan Standarisasi Nasional.
- Soekoyo, A.R., Sulistiawati, Wahyu, S., and Kuntaman, K. 2020. *The Epidemiological Pattern and Risk Factor of ESBL (Extended Spectrum B-Lactamase) Producing Enterobacteriaceae in Gut Bacterial Flora of Dairy Cows and People Surrounding in Rural Area, Indonesia*. Indonesian Journal of

Tropical and Infectious Disease, Vol. 8 No. 3 September–December 2020: 144–151.

- Suardana, W., Pinatih, K.J.P., Widiasih, D.A., Artama, W.T., Asmara, W., and Daryono, B.S. 2018. *Regulatory elements of stx2 gene and the expression level of Shiga-like toxin 2 in Escherichia coli O157:H7*. Journal of Microbiology, Immunology and Infection Volume 51, Issue 1, February 2018, Pages 132-140
- Sulaxono, H. 2020. Cemaran *Escherechia coli* pada Daging Segar di Wilayah Kerja Balai Besar Veteriner Maros. Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner Virtual 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.14334/Pros.Semnas.TPV-2020-p.906-913>
- Sumampouw, O.J. 2018. Uji Sensitivitas Antibiotik terhadap Bakteri *Escherchia coli* Penyebab Diare Balita di Kota Manado. Journal of Current Pharmaceu Science. Vol. 2 No. 1 ISSN : 2598-2095
- Tim EWS. 2014. Profil Komoditas Daging Sapi. Tim EWS Kementerian Perdagangan Republik Indonesia. Diakses dari laman <https://ews.kemendag.go.id/publikasi> (9/12/2020)
- Wardhana, D.K., Safitri A.A., Annisa, S., Harijani N., Estoepangestie A.T.S., and Maghfiroh, L. 2021. *Prevalence of Extended Spectrum Beta Lactamase in Producing Escherichia coli in beef sold in traditional markets in Surabaya, Indonesia*. Biodiversitas, Col 22, No 5, P 2789-2793.
- White, A., Alicia, C., Edward, J.B., and Elaine, S. 2016. *Food Source Prediction of Shiga Toxin–Producing Escherichia coli Outbreaks Using Demographic and Outbreak Characteristics, United States, 1998–2014*. Foodborne Pathogens and Disease, Vol 20, No 10,. DOI: 10.1089/fpd.2016.2140
- WHO. 2019. *Critically Important Antimicrobials for Human Medicine, 6th Revision 2018*. ISBN 978-92-4-151552-8
- Wibisono, F.J. 2014. Pengujian Kualitas Daging Sapi dan Daging Ayam di Pasar Dukuh Kupang Barat Kota Surabaya. Artikel. Departemen Kesehatan Masyarakat Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Wijaya Kusuma Surabaya (Diakses dari laman <https://vitek-fkh.uwks.ac.id/index.php/jv/article/download/5/7> pada 16/11/2021)
- Wibowo, R M. H., dan Wahyui, A.E.T. 2008. Studi Patogenesis *Eschericia coli* Isolat Unggas pada Ayam Pedaging Umur 15 Hari. Jurnal Veteriner, Vol.9 No.2, pp.87–93.
- Widodo, A., Effendi, M.H., and Kairullah, A.R. 2020. Extended Spectrum beta Lactamase (ESBL) producing *Escherichia coli* from livestock. Sys Rev Pharm 2020;11 (7):382-392.
- Yamamoto, S., Kitagawa, W., Nakano, M., Asakura, H., Nakayama, T., Iwabuci, A., Sone, T., and Asano, K. 2022. *Prevalensi and Characterization of Gentamicin*

Resistance Genes in Escherichia coli Isolates from Beef Cattle Feces in Japan. Current Microbiologi 79, 217.

- Yang, F., Zhang, S.D., Shang, X.F., Wang, X.R., Wang, L., Yan, Z.T., and Li, H. 2018. *Prevalence and characteristics of extended spectrum Beta-lactamaseproducing Escherichia coli from bovine mastitis cases in China.* Journal of Integrative Agriculture 2018, 17(6): 1246–1251.
- Yang, S.C., Lin, C.H., Aljuffali, I.B.M and Fang, J.Y. 2017. *Current pathogenic Escherichia coli foodborne outbreak cases and theray development.* Arch Mibrobiol. DOI 10.1007/s00203-017-1393-y
- Zango, U.U., Ibrahim, M., Shawai, S.A.A., and Shamsuddin, I.M. 2019. *A review on β -lactam antibiotic drug resistance.* MOJ Drug Des Develop Ther. 2019;3(2):52–58.

Lampiran 1. Hasil Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Escherichia coli*

Asal Sampel	No Sampel	Kode Sampel	Hasil Isolasi			Hasil Identifikasi				
			Medi a BPW	Media BGLB	Media EMB A	Pewarnaan Gram	Uji Indol	Uji MR	Uji VP	Uji Sitrat
Pasar Wonokromo	1	A1	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	2	A2	+	+	+	Gram negatif	-	+	-	+
	3	A3	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	+
	4	A4	+	+	-					
	5	B1	+	+	-					
	6	B2	+	+	+	Gram negatif	-	+	-	+
	7	B3	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	8	B4	+	+	-			+	-	
	9	C1	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	+
	10	C2	+	+	+	Gram negatif	-	+	-	-
	11	C3	+	+	+	Gram negatif	-	+	-	+
	12	C4	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	13	D1	+	+	+	Gram negatif	-	+	-	-
	14	D2	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	+
	15	D3	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	16	D4	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	+
	17	E1	+	+	-					
	18	E2	+	+	-					
	19	E3	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	20	E4	+	+	-					
	21	G1	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	22	G2	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	23	G3	+	+	+	Gram negatif	-	+	-	+
	24	G4	+	+	+	Gram negatif	-	+	-	-
	25	G5	+	+	+	Gram negatif	-	+	-	+
	26	G6	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	27	G7	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	28	G8	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	29	G9	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	30	G10	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
Pasar Keputran	1	A1	+	+	-					
	2	A2	+	+	+	Gram negatif	-	+	-	+
	3	A3	+	+	+	Gram negatif	-	+++	-	-
	4	A4	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	5	B1	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	6	B2	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	7	C1	+	+	+	Gram negatif	-	+	-	+
	8	C2	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	9	C3	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	10	C4	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	11	D1	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	12	D2	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	13	D3	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	14	D4	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	15	E1	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	16	E2	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	17	E3	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	18	E4	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	19	F1	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	20	F2	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	21	G11	+	+	+	Gram negatif	H ₂ S +	+	-	+
	22	G12	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	23	G13	+	+	+	Gram negatif	H ₂ S +	+	-	-
	24	G14	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	25	G15	+	+	+	Gram negatif	-	+	-	-
	26	G16	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	27	G17	+	+	-					
	28	G18	+	+	-					
	29	G19	+	+	-					
	30	G20	+	+	-					
Pasar Pacar Keling	1	G1	+	+	-					
	2	G2	+	+	-					
	3	G3	+	+	-					

	4	G4	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	5	H1	+	+	-					
	6	H2	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	7	H3	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	8	H4	+	+	-					
	9	I1	+	+	+	Gram negatif	-	+	-	+
	10	I2	+	+	-					
	11	I3	+	+	-					
	12	I4	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	13	J1	+	+	-					
	14	J2	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	15	J3	+	+	+	Gram negatif	-	+	-	-
	16	J4	+	+	-					
	17	K1	+	+	-					
	18	K2	+	+	-					
	19	K3	+	+	-					
	20	K4	+	+	-					
	21	P1	+	+	+	Gram negatif	-	+	-	+
	22	P2	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	+
	23	P3	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	+
	24	P4	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	25	P5	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	+
	26	P6	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	27	P7	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	28	P8	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	29	P9	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	30	P10	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
Pasar Manukan	1	A1	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	2	A2	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	3	A3	+	+	-					
	4	A4	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	5	A5	+	+	-					
	6	A6	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	7	A7	+	+	-					
	8	A8	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	9	A9	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	10	A10	+	+	-					
	11	P11	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	12	P12	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	13	P13	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	14	P14	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	15	P15	+	+	+	Gram negatif	-	+	-	-
Pasar Pabean	1	A11	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	2	A12	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	3	A13	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	4	A14	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	5	A15	+	+	-					
	6	A16	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	7	A17	+	+	-					
	8	A18	+	+	-					
	9	A19	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	10	A20	+	+	-					
	11	P16	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	12	P17	+	+	-					
	13	P18	+	+	-					
	14	P19	+	+	-					
	15	P20	+	+	-					
Pasar Jagir	1	B1	+	+	-					
	2	B2	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	3	B3	+	+	-					
	4	B4	+	+	-					
	5	B5	+	+	-					
	6	B6	+	+	-					
	7	B7	+	+	-					
	8	B8	+	+	-					
	9	B9	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	10	B10	+	+	-					
	11	B11	+	+	-					
	12	B12	+	+	-					
	13	B13	+	+	-					
	14	B14	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-

	15	B15	+	+	+	Gram negatif	-	+	-	-
	16	B16	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	+
	17	B17	+	+	-					
	18	B18	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	19	B19	+	+	-					
	20	B20	+	+	-					
	21	W1	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	22	W2	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	23	W3	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	+
	24	W4	+	+	+	Gram negatif	-	+	-	+
	25	W5	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	26	W6	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	27	W7	+	+	+	Gram negatif	+	+	-	-
	28	W8	+	+	+	Gram negatif	-	+	-	+
	29	W9	+	+	-					
	30	W10	+	+	-					

Keterangan :

- BPW
 - (+) : Media berubah dari kuning jernih menjadi keruh
 - (-) : Media tetap kuning jernih
- BGLB
 - (+) : Media berubah dari hijau jernih menjadi keruh dan terdapat gas pada tabung durham
 - (-) : Media tetap hijau jernih dan tidak terdapat gas pada tabung durham
- EMBA
 - (+) : Tumbuh koloni hijau metalik dengan titik hitam ditengahnya
 - (-) : Tidak terdapat koloni hijau metalik
- Pewarnaan Gram pada pemeriksaan mikroskop perbesaran 1000x
 - Gram negatif : Koloni bakteri nampak berwarna merah dan berbatang pendek
- Uji indol
 - (+) : Terbentuk cincin merah pada permukaan media
 - (-) : Tidak terbentuk cincin merah (cincin berwarna kuning)
- Uji MR
 - (+) : Media berubah dari kuning menjadi orange hingga merah
 - (-) : Media tetap berwarna kuning
- Uji VP
 - (+) : Media berubah dari kuning menjadi orange hingga merah
 - (-) : Media tetap berwarna kuning
- Uji Sitrat
 - (+) : Media berubah dari hijau ke biru
 - (-) : Media tetap berwarna hijau
- Bakteri *E. coli* menunjukkan hasil positif pada media BPW, BGLB dan EMBA, uji indol, dan uji MR. Sedangkan pada uji VP dan uji sitrat menunjukkan hasil negatif.

Lampiran 2. Hasil Pengukuran Uji Sensitivitas Antibiotika

Asal Sampel	Kode Sampel	Antibiotik				
		Aztreonam	Ampicillin	Tetracycline	Gentamycin	Ciprofloxacin
		≥21;18-20;≤17	≥17;14-16;≤13	≥15;12-14;≤11	≥15;13-14;≤12	≥26;22-25;≤21
Pasar Wonokromo	A1	32	7	11	8	30
	B3	32	17	19	17	33
	C4	31	21	20	19	35
	D3	37	21	22	20	44
	E3	33	19	21	19	37
	G1	37	7	22	20	35
	G2	33	19	22	19	35
	G6	35	20	22	19	35
	G7	32	19	22	22	35
	G8	34	22	23	20	40
Pasar Keputran	G9	35	7	15	23	28
	G10	32	19	10	20	33
	A4	30	21	10	18	34
	B1	29	17	12	18	36
	B2	31	18	14	19	37
	C2	30	6	21	19	38
	C3	27	16	17	18	8
	C4	32	18	11	18	29
	D1	31	19	21	31	34
	D2	31	19	20	20	30
	D3	31	18	20	18	36
	D4	31	18	18	20	36
	E1	32	18	21	17	38
	E2	32	20	14	16	31
	E3	33	19	20	18	32
	E4	29	6	11	18	29
Pasar Pacar Keling	F1	28	17	12	24	34
	F2	28	18	19	20	32
	G14	33	16	21	21	30
	G15	32	20	20	22	19
	G16	32	19	23	19	35
	G4	30	20	12	18	35
	H2	30	21	20	17	42
	H3	27	17	18	25	40
	I4	26	16	10	20	25
	J2	26	16	19	20	22
Pasar Manukan	P4	23	18	19	19	30
	P6	25	18	17	20	32
	P7	29	19	20	19	35
	P8	40	24	24	20	39
	P9	34	11	17	22	33
	P10	32	21	22	20	34
	A1	31	19	22	18	36
	A2	30	19	27	15	34
	A4	29	9	10	10	28
	A6	31	19	10	12	33
Pasar Pabean	A8	32	6	10	20	29
	A9	28	20	27	14	34
	P11	35	7	7	7	14
	P12	28	22	19	18	27
	P13	34	20	23	23	40
	P14	32	20	21	22	32
	A11	28	20	28	14	32
Pasar Jagir	A12	30	23	19	22	39
	A13	30	19	26	14	34
	A14	33	18	32	28	34
	A16	25	15	18	18	44
	A19	27	7	10	10	14
Pasar Jagir	P16	30	21	9	15	34
Pasar Jagir	B2	25	24	27	16	30

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

	B9	31	18	20	20	36
	B14	27	12	27	15	23
	B18	35	24	30	16	33
	W1	27	16	20	16	26
	W2	30	9	20	23	30
	W5	28	18	18	18	27
	W6	32	19	18	8	32
	W7	28	10	21	18	32

Lampiran 3. Hasil Uji Sensitivitas Antibiotika

Asal Isolat	Kode Isolat	Antibiotik				
		Aztreonam	Ampicillin	Tetracycline	Gentamycin	Ciprofloxacin
Pasar Wonokromo	A1	S	R	R	R	S
	B3	S	S	S	S	S
	C4	S	S	S	S	S
	D3	S	S	S	S	S
	E3	S	S	S	S	S
	G1	S	R	S	S	S
	G2	S	S	S	S	S
	G6	S	S	S	S	S
	G7	S	S	S	S	S
	G8	S	S	S	S	S
	G9	S	R	S	S	S
	G10	S	S	R	S	S
Pasar Keputran	A4	S	S	R	S	S
	B1	S	S	I	S	S
	B2	S	S	I	S	S
	C2	S	R	S	S	S
	C3	S	I	S	S	R
	C4	S	S	R	S	S
	D1	S	S	S	S	S
	D2	S	S	S	S	S
	D3	S	S	S	S	S
	D4	S	S	S	S	S
	E1	S	S	S	S	S
	E2	S	S	I	S	S
	E3	S	S	S	S	S
	E4	S	R	R	S	S
	F1	S	S	I	S	S
	F2	S	S	S	S	S
	G14	S	I	S	S	S
	G15	S	S	S	S	R
	G16	S	S	S	S	S
Pasar Pacar Keling	G4	S	S	S	S	S
	H2	S	S	S	S	S
	H3	S	S	S	S	S
	I4	S	I	R	S	I
	J2	S	I	S	S	I
	P4	S	S	S	S	S
	P6	S	S	S	S	S
	P7	S	S	S	S	S
	P8	S	S	S	S	S
	P9	S	R	S	S	S
	P10	S	S	S	S	S
Pasar Manukan	A1	S	S	S	S	S
	A2	S	S	S	S	S
	A4	S	R	R	R	S
	A6	S	S	R	R	S
	A8	S	R	R	S	S
	A9	S	S	S	I	S
	P11	S	R	R	R	R
	P12	S	S	S	S	S
	P13	S	S	S	S	S
	P14	S	S	S	S	S
Pasar Pabean	A11	S	S	S	I	S
	A12	S	S	S	S	S
	A13	S	S	S	I	S
	A14	S	S	S	S	S
	A16	S	I	S	S	S
	A19	S	R	R	R	R
Pasar Jagir	P16	S	S	R	S	S
	B2	S	S	S	S	S
	B9	S	S	S	S	S

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

	B14	S	R	S	S	I
	B18	S	S	S	S	S
	W1	S	S	S	S	S
	W2	S	R	S	S	S
	W5	S	S	S	S	S
	W6	S	S	S	R	S
	W7	S	R	S	S	S

Lampiran 4. Dokumentasi Penelitian

a) Pengambilan sampel daging sapi segar di Pasar Tradisional Kota Surabaya



b) Penuangan media di laminar air flow



c) Penanaman sampel pada media EMBA



d) Hasil isolasi bakteri pada media BPW



e) Hasil isolasi bakteri pada media BGLB



f) Sterilisasi media menggunakan autoklaf



g) Homogenisasi sampel dalam media menggunakan mesin vortex



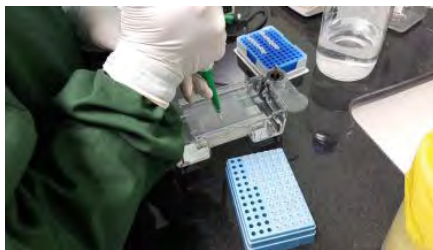
h) Persiapan alat yang digunakan untuk deteksi molekuler PCR



i) Mesin thermocycler untuk running PCR



j) Pembuatan sumuran pada elektroforesis gel dan mesin elektroforesis



k) Mesin transluminator untuk dokumentasi gel elektroforesis



Lampiran 5. NCBI gen *bla*_{TEM}

GenBank: MT174046.1

FASTA Graphics

Go to: []

LOCUS MT174046 1080 bp DNA linear BCT 29-APR-2020

DEFINITION Escherichia coli strain caec18 plasmid class A broad-spectrum beta-lactamase TEM-1 (blaTEM) gene, blaTEM-1 allele, complete cds.

ACCESSION MT174046

VERSION MT174046.1

KEYWORDS

SOURCE Escherichia coli

ORGANISM Escherichia coli

Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Enterobacterales; Enterobacteriaceae; Escherichia.

REFERENCE 1 (bases 1 to 1080)

AUTHORS Bandyopadhyay, S.

TITLE Drug-resistant Escherichia coli blaTEM-1 gene

JOURNAL Unpublished

REFERENCE 2 (bases 1 to 1080)

AUTHORS Bandyopadhyay, S.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (06-MAR-2020) ERS, Kolkata, ICAR-Indian Veterinary Research Institute, Eastern Regional Station, 37 Belgachia Road, KOLKATA, West Bengal 700037, India

COMMENT ##Assembly-Data-START##

Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing

##Assembly-Data-END##

FEATURES

Location/Qualifiers

source

1..1080

/organism="Escherichia coli"

/mol_type="genomic DNA"

/strain="caec18"

/isolation_source="rectal swab"

/host="bovine"

/db_xref="taxon:562"

/plasmid="unnamed"

/country="India"

gene

215..1075

/gene="blaTEM"

/allele="blaTEM-1"

cds

215..1075

/gene="blaTEM"

/allele="blaTEM-1"

/codon_start=1

/transl_table=11

/product="class A broad-spectrum beta-lactamase TEM-1"

/protein_id="Q105585.1"

/translation="MSIQHFRVALPFFAFLPVAHPETLVKVKDAEDQLGARVGY IELDLSGKILESFRPEERFPWHSITKVLICGAVLSRVDAQGEQLGRIRHYSQNDLVE YSPVTEKHLTDGMTVRELCSAAITMSDNTAANLLTTIGGPKELTAF LHMNGDHVTRL DRWEPELNEAIPNDERDTHPAAMATLRKLLTGELLTLASRQQLIDWHEADKVAGPL LRSALPAGWFIADKSGAGERSGRIIAALGPDGKPSRIVVYTTGSGATMDERIRGIA EIGASLIKHN"

ORIGIN

1 ataaattct tgaagacgaa aaggcctcgt gatacgccta ttttatagg ttaatgtcat

61 gataaataatg gttttctaga cgtcaggtgg cacttttcgg ggaatgtgc cgggaacccc

121 tatattgttta tttttctaaa tacattcaaa tatgtatccg ctcatgagac aatgaccctg

181 gtaaatgctt caataatatt gaaaaggaa gagtatgagt attcaacatt ttctgtgtgc

241 ccttatctcc ttttttcggg catittgcct tctgttttt gtcacaccag aaacgctggt

301 gaaagtaaaa gatgctgaag atcagttggg tgcacgagtg ggttacatcg aactggatct

361 caacagcggg aagatccttg agagttttcg ccccgaaaga cgttttccaa tgatgagcac

421 ttttaagttt ctgctatgtg gtgcgttatt atccgtgtt gacgcggggc aagagcaact

481 cggtcggcgc atacactatt ctcaaatga cttggttgag tactacacag tcacagaaaa

541 gcatcttacg gatggcatga cagtaagaga attatgcagt gctgcataaa ccatgagtga

601 taacactgct gccaacttac ttctgacaac gatcgaggga cggaaaggag taaccgcttt

661 ttgacacaa atgggggcat atgtaactcg ccttgatcgt tggaaacggg agctgaatga

721 agccatacca aacgacgagc gtgacacac gatgcctgca gcaatggcaa caactgttgc

781 caaactatta actggcgaac tactactct agctcccgga caacaattaa tagactggat

841 ggaagcggat aaattgtcag gaccacttct gcgtcgccgc cttccgctgt gctgttttat

901 tctgataaaa ctggagcccg gtgagcgtgg gtctcggt atcaatgcag cactgggccc

961 agatgtaag ccttcctgta tctgatttat ctacacgagc ggaagtcagg caactatgga

1021 tgaacgaat agacagatcg ctgagatagg tgcctcacti attaagcatt gtaacatc

GAC AGT TAC CAA TGC TTA ATC

Primer Forward baris 1-21 (21)

Primer Reverse baris 1060-1080 (21)

g ataaattct tgaagacgaa aaggcctcgt gatacgccta ttttatagg ttaatgtcat

Find 1 of 1 MT174046.1 21-1

Panjang product size : urutan baris terakhir primer reverse dikurangi
urutan baris pertama primer forward ditambah satu.
1080-1+1 = 1080 bp

Lampiran 6. NCBI Gen stx2

Escherichia coli stx2 genes for Shiga-like toxin 2 A-subunit, Shiga-like toxin 2 B-subunit, complete cds

GenBank: AB030484.1

FASTA Graphics

Go to: ☒

LOCUS AB030484 1254 bp DNA linear BCT 06-JAN-2001

DEFINITION Escherichia coli stx2 genes for Shiga-like toxin 2 A-subunit, Shiga-like toxin 2 B-subunit, complete cds.

ACCESSION AB030484

VERSION AB030484.1

KEYWORDS stx2; Shiga-like toxin 2 B-subunit; Shiga-like toxin 2 A-subunit.

SOURCE Escherichia coli

ORGANISM Escherichia coli

Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Enterobacteriales; Enterobacteriaceae; Escherichia.

REFERENCE 1

AUTHORS Sou-ichi, M.

TITLE Detection of Shiga-like Toxin Producing Escherichia coli from Seagulls

JOURNAL Published Only in Database (2001)

REFERENCE 2 (bases 1 to 1254)

AUTHORS Sou-ichi, M.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (28-JUL-1999) Makino Sou-ichi, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, Department of Veterinary Microbiology; Inada, Obihiro, Hokkaido 080-8555, Japan (E-mail: smakino@obihiro.ac.jp, URL: http://www.obihiro.ac.jp, Tel: 81-155-49-5386, Fax: 81-155-49-5402)

FEATURES

source

1..1254

/organism="Escherichia coli"

/mol_type="genomic DNA"

/db_xref="taxon:562"

14..1254

/gene="stx2"

14..973

/gene="stx2"

/codon_start=1

/transl_table=11

/product="Shiga-like toxin 2 A-subunit"

/protein_id="BA020380.1"

/translation="MKCILFKWVLCLLGFSSVSYSRETFIDFSTQSYVSSLSHIRT EISTPLEHISQGTTSVSVINHTPPGSYFAVDIRGLDYYQARFDHLRLIEQNNLYVAG FVNATNTFYRFSDFTHISVPVTVTSMITDSSYTLTQVAALERSGQISRHSLVSS YLALMEFSNGHTMRDASRAVLRFVTYAEALRFQIQREFRQALSETAPVYTMTPGDV DLTLMGRISNVLPEYRGEDGVRGRISFNNTSAILGTVAVILNCHQAGRSVRAVIE ESQPECITGDRPVIKINNTLWESNTAAAFLNKRSQFLYTTGK"

985..1254

/gene="stx2"

/codon_start=1

/transl_table=11

/product="Shiga-like toxin 2 B-subunit"

/protein_id="BA020381.1"

/translation="MKKHFMAVLFAVASVIAWAADCAKGIKIEFSKYHEDDTFTVKVDG KEYMTSRNHLQPLLOSALQTLGHTVTIKSSTCESGSGFAEVOFINO"

ORIGIN

1 ggaacacctg tatatgaagt gtatatattt taaatgggta ctgtgcctgt tactgggtt

61 ttcttcggta tcttattccc ggaagtttac gatagacttt tcgacccaac aagtttatgt

121 ctcttcgcta aatagtatac ggaagtgatc atgacccctt ctggaacata tatctcaggg

181 gaccacatcg gtgtctgcta ttaaccacac cccacggggc agttattttg ctgtggatat

241 acgagggcgt gatgtctatc aggcgcgttt tgaccatctt cgtctgatta ttgagcaaaa

301 taatttatat gtggcgggtg tctgtaatac ggcacaacaa actttclacc gtttttcaga

361 ttttacatcat ataccagtg cggatgtgac aacggttttc atgacacagg acagcattta

421 taccactctg caacgtgtcg cagcgtcgga acgttccgga atgcaaatca gtctcactc

481 actggtttca tcatatctgg cgttaatgga gttcagtggt aatacaatga ccagagatgc

541 atccagagca gttctgcatt ttgtcactgt ccacgcagaa gccctacgtc tcagccagat

601 acagagagaa tttcgtcagg cactgtctga aactgtctct gtgtatacga tgacgccggg

661 agactgggac ctactctga actggggcgc aatcagaat gtgcttcagg agtatcgggg

721 agagatgggt gtcagatggg ggaagaatc ctttaataat ataccagca tactggggac

781 tgtggcgtgt atactgaatt gccatcatca gggggcgcgt tctgttcgag cgtgaatga

841 agagagtcaa ccagaatgtc agataactgg cgacaggccc gttataaaaa taacaataac

901 attatgggaa agtaatacag ctgcagcgtt tctgaacaga aagtcacagt tttatatac

961 aacgggtaaa taaggaggtt aagcatgaag aagatgttta tggcgggttt atttcattac

1021 gttcttgtta atgcaatggc ggcagattgt gctaaaggta aaattgagtt ttccaatga

1081 aatgaaggtg acacatttac agtgaaggtt gacgggaagg aatctggac cagtgcctgg

1141 aactcgcac cgttactcca aagtctcag ttacagaaa tgactgtcac aatcaatcc

1201 agtacctgtg aatcaggctc cggatttgct gaagtcagt ttaataatga ctga

CAAAGTGCTCAGTTGACAGG

1 of 1

AB030484.1 1178-1

Primer forward ke baris 399-419 (21)

Primer reverse baris ke 1159-1178 (20)

Panjang bp : 1178-399 + 1 = 780 bp