

***Escherichia coli* Penghasil *Extended-spectrum B-Lactamases* yang Diisolasi pada Peternakan Broiler-Ikan Terintegrasi**

(*Extended-Spectrum β -Lactamases producing Escherichia coli isolated from Integrated Broiler-Fish Farming*)

Aditya Gilang Prasaja¹, Eka Wulandari^{2,*}, Trianing Tyas Kusuma Anggaeni³, Eddy Sukmawinata^{4,*}

¹Program Studi Kedokteran Hewan, Fakultas Kedokteran, Universitas Padjadjaran

²Departemen Teknologi Hasil Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Padjadjaran

³Departemen Ilmu Kesehatan Masyarakat, Fakultas Kedokteran, Universitas Padjadjaran

⁴Pusat Riset Veteriner, Organisasi Riset Kesehatan, Badan Riset dan Inovasi Nasional

*Penulis untuk korespondensi: eka.wulandari@unpad.ac.id ; eddy.sukmawinata@brin.go.id

Diterima 21 Mei 2023, Disetujui 20 Desember 2023

ABSTRAK

Extended-spectrum β -lactamases (ESBL) adalah sekelompok enzim yang diproduksi oleh bakteri untuk dapat resisten terhadap antibiotika termasuk sefalosporin generasi ketiga yang menjadi masalah kesehatan baik pada hewan dan manusia. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui keberadaan bakteri *Escherichia coli* penghasil ESBL serta profil resistensinya pada komponen lingkungan di sekitar peternakan broiler-ikan terintegrasi. Deteksi *E. coli* penghasil ESBL dan uji sensitivitas dilakukan dengan uji *double disc synergy* dan *disc diffusion*, dan hasil interpretasi mengacu pada The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Sebanyak 19 isolat *E. coli* penghasil ESBL diisolasi dari sampel swab kloaka, ikan, dan lingkungan pada suatu peternakan broiler-ikan terintegrasi. Secara rinci, *E. coli* penghasil ESBL terdeteksi pada seluruh sampel sampel air (3/3), sampel ikan (2/2), sampel tanah (1/1), dan 86,7% sampel swab kloaka (13/15). Hasil pengujian kepekaan terhadap antibiotika menunjukkan resistensi terhadap ampisilin (100%), seftriakson (100%), siprofloksasin (68,4%), dan tetrasiklin (42,1%). Selain itu, 8 isolat yang terdiri dari sampel swab (6/13; 46,1%), air (1/3; 33,3%), dan ikan (1/2; 50,0%) teridentifikasi sebagai bakteri *multi-drug resistant*. Studi ini dapat menggambarkan terjadinya cemaran *E. coli* penghasil ESBL di lingkungan peternakan broiler-ikan terintegrasi.

Kata kunci: *Escherichia coli*, *Extended-spectrum β -lactamases*, Broiler, Ikan, Lingkungan

ABSTRACT

Extended-spectrum β -lactamases (ESBL) are a group of enzymes producing bacteria that lead to antibiotic resistance, including to the third generation of cephalosporin, and become a major health concern in humans and animals. This study aimed to determine the presence of ESBL-producing *Escherichia coli* and their resistance profile in environmental components around an integrated broiler-fish farming. ESBL-producing *E. coli* and antibiotic susceptibility were tested using double disc synergy and disc diffusion tests, respectively, and the results were interpreted based on The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing guideline. 19 ESBL-producing *E. coli* were isolated from 21 cloacal and environmental swab samples from an integrated broiler-fish farm. ESBL-producing *E. coli* were detected from cloacal swab samples (13/30; 86.6%), water samples (3/3; 100%), fish samples (2/2; 100%), and soil sample (1/1; 100%). The antibiotic resistance test showed resistance to ampicillin (100%), ceftriaxone (100%), ciprofloxacin (69.2%), tetracycline (46.15%), and colistin (0%). In addition, eight isolates consisting of swab samples (6/13; 46.1%), water (1/3; 33.3%), and fish (1/2; 50.0%) were identified as multi-drug resistant bacteria. The presence of ESBL-producing *E. coli* isolated from an integrated broiler-fish farming could describe the occurrence of transmission-resistant bacteria in the environment.

Keywords: *Escherichia coli*, *Extended-spectrum β -lactamases*, Broiler, Fish, Environment

PENDAHULUAN

Budidaya ikan yang diintegrasikan dengan pemeliharaan ayam di atas kolam dikenal dengan istilah “longyam”, merupakan suatu bentuk sistem pertanian terpadu atau *integrated farming system* berbasis teknologi ramah lingkungan yang mengedepankan kesejahteraan masyarakat dan optimalisasi sumber daya (Sari et al., 2014). Sistem pertanian terpadu ini dapat meningkatkan pendapatan peternak sekitar 49,5% dibandingkan dengan sistem pertanian non-terpadu (Agustar & Indrayani, 2019). Melalui budidaya ayam-ikan terintegrasi, peternak dapat mengurangi biaya pakan tambahan untuk ikan karena kotoran ayam yang jatuh ke kolam akan menjadi sumber pakan alami berupa plankton yang berguna untuk pertumbuhan ikan (Krisnawan, 2019).

Kotoran ayam yang digunakan sebagai pakan memiliki kepadatan mikroorganisme yang tinggi (Devi et al., 2012), sehingga berpotensi sebagai reservoir bakteri patogen yang dapat menyebabkan infeksi pada ikan dan mencemari lingkungan. Selain itu, sudah dilaporkan kemunculan bakteri resisten antibiotika yang diisolasi dari kotoran ayam akibat dari penggunaan antibiotika yang tidak tepat (Moffo et al., 2021). Tingginya penggunaan antibiotika pada unggas, yang disebabkan oleh berbagai faktor, menjadi penyebab munculnya resistansi antibiotik (Etikaningrum & Iwantoro, 2017). Meskipun pada tahun 2018 penggunaan antibiotik pada pakan sebagai pemacu pertumbuhan sudah dilarang di Indonesia (Widodo et al., 2019), namun pada beberapa penelitian masih ditemukan residu antibiotik pada daging ayam sebagai akibat dari penggunaan antibiotik yang tidak tepat di peternakan (Etikaningrum & Iwantoro, 2017). Penggunaan antibiotik dalam produksi unggas dapat meningkatkan tekanan selektif pada bakteri komensal yang memicu munculnya resistansi antibiotik (Woolhouse et al., 2015).

Badan Kesehatan Dunia sudah mengeluarkan daftar antibiotika yang termasuk dalam kategori kritis pada kesehatan manusia, termasuk sefalosporin generasi ketiga (Baron et al., 2014). Resistensi terhadap sefalosporin generasi ketiga dapat diperantarai oleh keberadaan enzim *extended-spectrum β -lactamases* (Shaikh et al., 2015). *Extended-spectrum β -lactamases* (ESBL) adalah enzim yang diproduksi oleh beberapa bakteri yang dapat menonaktifkan antibiotika β -laktam melalui pemecahan cincin β -laktam (Carvalho et al., 2020). ESBL telah banyak dilaporkan pada beberapa bakteri gram negatif, dan seringkali berhubungan dengan bakteri famili *Enterobacteriaceae*, termasuk *E. coli* (Kristiyaningtyas et al., 2021; Shaikh et al., 2015).

Bakteri *E. coli* penghasil ESBL pada peternakan ayam telah banyak dilaporkan di Indonesia (Effendi

et al., 2021). Penelitian di Rumah Potong Ayam Kota Bogor mendeteksi adanya gen CTX-M pada sampel feses ayam broiler dengan prevalensi sebesar 6,0% (12/200) (Lukman et al., 2016). Selain itu, Wibisono et al., (2020) melaporkan adanya *E. coli* penghasil ESBL dengan mendeteksi gen CTX-M pada sampel swab kloaka di Kota Blitar sebanyak 45 dari 160 atau 28,13% dari sampel yang diperiksa. Keberadaan bakteri penghasil ESBL pada manusia menjadi masalah serius karena mekanisme resistensinya yang meningkatkan risiko kegagalan pengobatan penyakit secara farmakologis (Beninati et al., 2015). Keberadaan bakteri *E. coli* penghasil ESBL pada hewan dikaitkan dengan masalah kesehatan masyarakat karena penularan dari hewan ke manusia dapat terjadi kapan saja (Masruroh et al., 2016).

Di peternakan, bakteri dapat mencemari lingkungan (udara, tanah, dan air) secara langsung melalui kotoran (Gao et al., 2015; Hartmann et al., 2012) yang mengontaminasi kompartemen lingkungan motil seperti air, dimana masyarakat dapat terpapar ketika berinteraksi atau ketika air yang terletak di hilir digunakan untuk irigasi tanaman (Blaak et al., 2014; Søråas et al., 2013; Njage et al., 2015). Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk melihat kemungkinan penyebaran bakteri *E. coli* penghasil ESBL pada peternakan broiler-ikan terintegrasi.

BAHAN DAN METODE

Isolasi dan Identifikasi *E. coli* Penghasil ESBL

Sebanyak 21 sampel yang terdiri dari 15 sampel swab kloaka, 3 sampel air (permukaan, dasar, dan pembuangan dari kolam (*outlet*)), 2 sampel saluran cerna ikan, dan 1 sampel tanah diambil dari sebuah peternakan broiler-ikan pada bulan Maret 2023 di Kecamatan Cikalong Wetan, Kabupaten Bandung Barat. Peternakan yang menjadi subjek penelitian diketahui tidak sedang dalam penggunaan antibiotik selama minimal enam bulan terakhir dari waktu pengambilan sampel. Isolasi dan identifikasi *E. coli* penghasil ESBL dilakukan dengan merujuk pada Aworh et al., (2020). Sampel disubkultur dengan media *tryptic soy broth* (TSB; Oxoid, Inggris) dengan perbandingan 1:10 dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Selanjutnya, sampel diambil satu ose lalu digoreskan pada agar MacConkey (MCA; Oxoid, Inggris) yang mengandung sefotaksim 2 µg/mL dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Koloni dengan berwarna merah dan dikelilingi zona keruh pada MCA mengandung sefotaksim diduga sebagai *E. coli* penghasil ESBL. Koloni yang diduga *E. coli* dikonfirmasi dengan membiakkan isolat ke media agar Levine eosin methylene blue agar (L-EMBA; Oxoid,

Inggris), uji pewarnaan Gram, dan uji biokimia (indol, methyl red, Voges-Proskauer, dan sitrat/IMViC serta uji motilitas pada media motility indole urea (MIU)). Hasil reaksi uji biokimia *E. coli* mengacu pada Standar Nasional Indonesia (SNI) 2897 Tahun 2008. Isolat *E. coli* yang diduga sebagai penghasil ESBL disimpan beku pada media tryptic soy broth (TSB) mengandung 20% gliserol hingga dilakukan uji selanjutnya.

Konfirmasi ESBL dan Uji Sensitivitas Isolat *E. coli* terhadap Antibiotik

Produksi ESBL dikonfirmasi menggunakan *double disc synergy test* (DDST) berdasarkan panduan European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST, 2017). Biakan isolat murni dilarutkan dengan NaCl 0,9% hingga mencapai kekeruhan sesuai dengan standar 0,5 McFarland ($1,5 \times 10^8$ cfu/ml). Biakan diambil menggunakan *cotton swab* steril dan digoreskan pada media Mueller Hinton agar (MHA; Oxoid, Inggris) sampai seluruh permukaan agar pada cawan petri tertutup. Selanjutnya dengan metode DDST, kertas cakram yang berisi antibiotik sefotaksim, amoksisilin/asam klavulanat, dan seftazidim diletakkan di atas media Mueller-Hinton Agar (MHA) dengan jarak antara 20 mm (pusat ke pusat). Hasil positif penghasil ESBL ditunjukkan dengan terbentuknya zona karakteristik “keyhole”. Selanjutnya, uji sensitivitas antibiotik menggunakan metode Kirby-Bauer dilakukan dengan meletakkan kertas cakram berisikan antibiotik ampisilin 10 µg, seftriakson 30 µg, siprofloksasin 30 µg, tetrasiklin 30 µg, dan kolistin 10 µg, dan diinkubasikan pada suhu 35°C selama 24 jam. Hasil uji sensitivitas diinterpretasikan berdasarkan panduan dari The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST, 2023). *E. coli* strain ATCC 25922 digunakan sebagai kontrol negatif ESBL dan kontrol uji sensitivitas.

Analisis Data

Data penelitian dianalisis secara deskriptif berupa proporsi menggunakan *Microsoft Excel 2023* versi 16.73 (Microsoft, Redmond, WA, USA). Hasil data disajikan berupa tabel mengenai proporsi resistansi *E. coli* penghasil ESBL terhadap antibiotik dari sampel *swab* kloaka, ikan, dan lingkungan di peternakan broiler-ikan terintegrasi.

HASIL

Berdasarkan hasil penelitian, didapatkan 21 isolat *E. coli* yang diduga sebagai penghasil ESBL pada media MCA mengandung sefotaksim 2 µg/mL dan L-EMBA

(Gambar 1a dan 1b). Dari 21 isolat *E. coli* diduga penghasil ESBL, 15 berasal dari sampel *swab* kloaka, 2 berasal dari sampel ikan, 3 berasal dari sampel air, dan 1 berasal dari sampel tanah. Pada studi ini, kami konfirmasi 19 isolat (90,5%) *E. coli* penghasil ESBL yang terdiri dari seluruh sampel sampel air (3/3; 100%), sampel ikan (2/2; 100%), sampel tanah (1/1; 100%), dan 86,7% sampel *swab* kloaka (13/15) sebagaimana disajikan pada Tabel 1. Fenotipe *E. coli* penghasil ESBL dengan terbentuknya zona karakteristik “keyhole” ditunjukkan pada Gambar 1c.

Resistensi *E. coli* penghasil ESBL juga ditunjukkan terhadap ampisilin 100% (19/19), seftriakson 100% (19/19), siprofloksasin 68,4% (13/19), dan tetrasiklin 42,1% (8/19). Proporsi dan pola resistansi isolat *E. coli* penghasil ESBL terhadap antibiotik secara rinci disajikan pada Tabel 1 dan 2.

PEMBAHASAN

Keberadaan *E. coli* komensal pada pencenaan unggas dapat bertindak sebagai reservoir gen resisten yang dapat berpindah secara horizontal ke bakteri patogen, dan mencemari rantai makanan dan lingkungan (Biutifasari, 2018). Beberapa studi telah melaporkan bahwa feses ayam dapat menjadi sumber penyebaran *E. coli* penghasil ESBL ke lingkungan (Blaak et al., 2014; Martínez-Álvarez et al., 2022; Tansawai et al., 2019). Hasil penelitian kami juga menunjukkan bahwa telah terjadinya pencemaran *E. coli* penghasil ESBL pada broiler, ikan, air, dan tanah di lingkungan peternakan broiler-ikan terintegrasi. Hal ini dikarenakan jalur rantai makanan pada sistem peternakan broiler-ikan terintegrasi memungkinkan terjadinya perpindahan bakteri *E. coli* penghasil ESBL. Selain itu, ditemukannya *E. coli* penghasil ESBL pada outlet kolam menunjukkan potensi terjadinya penyebaran *E. coli* penghasil ESBL ke lingkungan air dan tanah di sekitar peternakan. Keberadaan *E. coli* penghasil ESBL pada komponen lingkungan seperti air dan tanah dapat bertahan dalam jangka waktu yang lama. Franz et al., (2014) menyebutkan bahwa *E. coli* dapat bertahan lama di lingkungan tanah dan perairan tergantung pada sifat fisik, kimia, dan matriks biologi, seperti suhu, pH, sinar matahari, kelembaban tanah, dan adanya nutrisi. Sebagai tambahan, ketersediaan air pada lingkungan juga sangat penting bagi *E. coli* untuk tumbuh (Evans & Wallenstein, 2012).

Hasil pengujian sensitivitas antibiotik pada isolat *E. coli* penghasil ESBL menunjukkan resistensi secara fenotipeminimal terhadap 2 jenis antibiotik seperti yang disajikan pada Tabel 2. Antibiotik yang diujikan terdiri atas ampisilin, seftriakson, tetrasiklin, siprofloksasin, dan kolistin. Pemilihan antibiotik yang digunakan pada



Gambar 1. Koloni *E. coli* penghasil ESBL. 1a: koloni pada MacConkey agar, 1b: koloni pada L-EMBA, 1c: hasil positif *E. coli* penghasil ESBL ditunjukkan dengan terbentuknya zona karakteristik “keyhole”.

Tabel 1. Hasil uji sensitivitas isolat *E. coli* penghasil ESBL terhadap antibiotika (N=19 isolat)

Lokasi (n)	Tingkat Resistensi Antibiotika ^a (%)				
	AMP	CRO	TE	CIP	CT
Swab kloaka (13)	100	100	46,1	76,9	0
Ikan (2)	100	100	50	50	0
Air ^b (3)	100	100	33,3	33,3	0
Tanah (1)	100	100	0	100	0
Total Resistensi (%)	100	100	42,1	68,4	0

^a AMP: Ampisilin; CRO: Seftriakson; TE: Tetrasiklin; CIP: Siprofloksasin; CT: Kolistin

^b Proporsi isolat resisten dari total sampel air permukaan, dasar, dan outlet kolam. Resistensi terhadap tetrasiklin dan siprofloksasin hanya ditunjukkan pada sampel air outlet kolam.

Tabel 2. Pola resistensi isolate *E. coli* penghasil ESBL terhadap antibiotika

Pola resistensi ^a	Jumlah (n)
CRO+AMP	6
CRO+AMP+CIP	5
CRO+AMP+TE+CIP	8

aAMP: Ampisilin; CRO: Seftriakson; TE: Tetrasiklin; CIP: Siprofloksasin; CT: Kolistin

penelitian ini berdasarkan pertimbangan dari sediaan obat hewan yang dijual di Indonesia. Hasil kami menunjukkan bahwa selain kejadian resistansi yang tinggi terhadap antibiotik golongan β -laktam, isolat *E. coli* penghasil ESBL juga menunjukkan resistansi terhadap sediaan fluorokuinolon dan tetrasiklin. Ketiga golongan antibiotik tersebut umumnya digunakan pada peternakan broiler dalam pengobatan penyakit infeksi bakteri (Niasono et al., 2019).

Isolat penghasil ESBL sering dilaporkan menunjukkan resistansi terhadap kelas antibiotik lainnya karena ESBL sering dikode oleh gen yang terletak pada *multi-drug resistant plasmid* (Urban-Chmiel et al., 2022). Pada penelitian ini ditemukan

sebanyak 8 isolat *E. coli* penghasil ESBL sebagai bakteri *multi-drug resistant*. *Multi-drug resistant* didefinisikan sebagai resistansi terhadap tiga atau lebih kelas antibiotik. Sifat *multi-drug resistant* pada bakteri penghasil ESBL khususnya *E. coli* telah banyak dilaporkan, seperti pada golongan fluorokuinolon dan tetrasiklin (Blaak et al., 2015; Sudarwanto et al., 2017). Kemunculan resistansi dapat terjadi karena tingginya penggunaan antibiotik di peternakan sehingga menyebabkan terjadinya seleksi terhadap keberadaan bakteri resistan (Koutsoumanis et al., 2021). Zalizar et al., (2015) menyampaikan bahwa hampir semua pakan komersial (87,0%) mengandung antibiotik, coccidiostat

(50%), dan obat antifungal (33%); hingga akhirnya diberlakukannya pelarangan penggunaan antibiotik sebagai imbuhan pakan di peternakan di Indonesia semenjak tahun 2018. Pemberian antibiotik yang tidak bijak dapat menyebabkan gangguan keseimbangan ekologi mikroflora normal dan meningkatnya jumlah kelompok bakteri yang resisten pada saluran pencernaan (Normaliska et al., 2019). Selain itu, ikan terkontaminasi juga dapat bertindak sebagai reservoir *E. coli* penghasil ESBL dan berisiko terhadap kesehatan manusia yang mengkonsumsinya.

Evaluasi terhadap manajemen kandang dan pengolahan limbah peternakan broiler-ikan terintegrasi perlu dilakukan untuk mencegah penyebaran *E. coli* penghasil ESBL ke lingkungan, mengingat bahwa peternakan ayam terintegrasi sangat mempengaruhi perairan dan pertanian yang ada di bawahnya (Sari et al., 2014). Komponen lingkungan terutama air permukaan telah terbukti dapat menjadi jalur transmisi lingkungan yang relevan karena fungsinya yang vital untuk pemenuhan kebutuhan irigasi dan produksi air minum masyarakat (Cho et al., 2020; Blaak et al., 2015). Ditemukannya *E. coli* penghasil ESBL dari air outlet kolam yang mengarah ke lahan pertanian dan sumber air masyarakat dapat menjadi sumber penyebaran bakteri penghasil ESBL. Hal ini dapat menjadi ancaman serius bagi kesehatan masyarakat terhadap infeksi bakteri resistan antibiotik (Seiffert et al., 2013). Walaupun penelitian kami masih terbatas pada pengujian secara fenotipe, menariknya isolat *E. coli* penghasil ESBL yang diisolasi dari sampel swab kloaka, air, ikan, dan tanah menunjukkan pola resistensi yang sama, walaupun masih diperlukannya penelitian lanjutan untuk memastikan terjadinya penyebaran secara klonal. Sebagai kesimpulan, penelitian ini memberikan informasi terkait potensi terjadinya penyebaran *E. coli* penghasil ESBL pada peternakan broiler-ikan terintegrasi dan penyebarannya ke lingkungan disekitar peternakan.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Laboratorium Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran yang memberikan fasilitas sehingga penelitian ini dapat diselesaikan.

KONFLIK KEPENTINGAN

“Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan dengan pihak-pihak terkait dalam penelitian ini”.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustar, A., & Indrayani, I. 2019. Analysis of prospects application of integrated farming system models for lowland rice with beef cattle to strengthen farmers' economy in West Sumatera. In IOP Conference Series: Earth and Environment. Sci (Vol. 287, No. 1, p. 012032). IOP Publishing.
- Aworh, M. K., Kwaga, J., Okolocha, E., Harden, L., Hull, D., Hendriksen, R. S., & Thakur, S. 2020. Extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* among humans, chickens and poultry environments in Abuja, Nigeria. *One Health Outlook*, 2(1), 1-11.
- Baron, S., Jouy, E., Larvor, E., Eono, F., Bougeard, S., & Kempf, I. 2014. Impact of third-generation-cephalosporin administration in hatcheries on fecal *Escherichia coli* antimicrobial resistance in broilers and layers. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(9), 5428-5434.
- Beninati, C., Reich, F., Muscolino, D., Giarratana, F., Panebianco, A., Klein, G., & Atanassova, V. 2015. ESBL-producing bacteria and MRSA isolated from poultry and turkey products imported from Italy. *Czech Journal of Food Science*, 33(2), 97-102.
- Biutifasari, V. 2018. Extended spectrum beta-lactamase (ESBL). *Oceana Biomedicina Journal*, 1(1), 1-11.
- Blaak, H., de Kruijf, P., Hamidjaja, R. A., van Hoek, A. H., de Roda Husman, A. M., & Schets, F. M. 2014. Prevalence and characteristics of ESBL-producing *E. coli* in Dutch recreational waters influenced by wastewater treatment plants. *Veterinary microbiology*, 171(3-4), 448-459.
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. 2008. SNI 2897: 2008 Tentang Metode Pengujian Cemar Mikroba dalam Daging, Telur dan Susu Serta Hasil Olahannya. Jakarta (ID): Badan Standardisasi Nasional.
- Carvalho, I., Alonso, C. A., Silva, V., Pimenta, P., Cunha, R., Martins, C., Igrejas, G., Torres, C., & Poeta, P. 2020. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolated from healthy and sick dogs in Portugal. *Microbial Drug Resistance*, 26(6), 709-715.
- Cho, S., Jackson, C. R., & Frye, J. G. 2020. The prevalence and antimicrobial resistance phenotypes of *Salmonella*, *Escherichia coli* and *Enterococcus sp.* in surface water. *Letters in Applied Microbiology*, 71(1), 3-25.
- Devi, S., Sharma, C. R., & Singh, K. 2012. Microbiological biodiversity in poultry and paddy straw wastes in composting systems. *Brazil Journal of Microbiology*, 43, 288-296.
- Effendi MH, Tyasningsih W, YuriantiYA, Rahmahani J, Harijani N, Plumeriastuti H. 2021. Presence of multidrug resistance (MDR) and extended beta-spectrum beta-lactamase (ESBL) of *Escherichia coli*

- isolated from cloacal swabs of broilers in several wet markets in Surabaya, Indonesia. *Biodiversitas* 22 (1): 304-310.
- Etikaningrum, I. S., & Iwantoro, S. 2017. Kajian residu antibiotik pada produk ternak unggas di Indonesia. *JITP*, 5(1), 29-33.
- [EUCAST] The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance. Version 2.0, 2017. <http://www.eucast.org>.
- [EUCAST] The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance. Version 2.0, 2017. <http://www.eucast.org>.
- Evans, S.E. and Wallenstein, M.D., 2012. Soil microbial community response to drying and rewetting stress: does historical precipitation regime matter?. *Biogeochemistry*, 109, 101-116.
- Franz, E., Schijven, J., de Roda Husman, A. M., & Blaak, H. 2014. Meta-regression analysis of commensal and pathogenic *Escherichia coli* survival in soil and water. *Environmental science & technology*, 48(12), 6763-6771.
- Gao, L., Tan, Y., Zhang, X., Hu, J., Miao, Z., Wei, L., & Chai, T. 2015. Emissions of *Escherichia coli* carrying extended-spectrum β -lactamase resistance from pig farms to the surrounding environment. *International journal of environmental research and public health*, 12(4), 4203-4213.
- Hartmann, A., Locatelli, A., Amoureux, L., Depret, G., Jolivet, C., Gueneau, E., & Neuwirth, C. 2012. Occurrence of CTX-M producing *Escherichia coli* in soils, cattle, and farm environment in France (Burgundy region). *Frontiers in microbiology*, 3, 83.
- Koutsoumanis, K., Allende, A., Álvarez-Ordóñez, A., Bolton, D., Bover-Cid, S., Chemaly, M., et al. 2021. Role played by the environment in the emergence and spread of antimicrobial resistance (AMR) through the food chain. *EFSA J.* 19.
- Krisnawan, A. 2019. Kreatif Memelihara Ikan Bersama Ayam. Penerbit Pustaka Baru. Yogyakarta. p15-16.
- Kristianingtyas L, Effendi MH, Witaningrum AM, Wardhana DK, Ugbo EN. 2021. Prevalence of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* in companion dogs in animal clinics, Surabaya, Indonesia. *International Journal One Health*, 7(2): 232-236.
- Lukman, D. W., Sudarwanto, M. B., Purnawarman, T., Latif, H., Pisestyani, H., Sukmawinata, E., & Akineden, Ö. 2016. CTX-M-1 and CTX-M-55 producing *Escherichia coli* isolated from broiler feces in poultry slaughterhouse, Bogor, West Java Province. *Global advanced research journal of medicine and medical sciences*, 5(12), 287-291.
- Martínez-Álvarez, S., Sanz, S., Olarte, C., Hidalgo-Sanz, R., Carvalho, I., Fernández-Fernández, R., et al. 2022. Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* from the broiler farm environment, with detection of SHV-12-producing isolates. *Antibiotics*, 11(4), 444.
- Masruroh, C.A., Sudarwanto, M.B. and Latif, H., 2016. Tingkat kejadian *Escherichia coli* penghasil extended spectrum B-Lactamase yang diisolasi dari feses broiler di kota Bogor. *Jurnal Sain Veteriner*, 34(1), 42-49.
- Moffo, F., Mouiche, M. M. M., Djomgang, H. K., Tombe, P., Wade, A., Kochivi, F. L., et al. 2021. Poultry litter contamination by *Escherichia coli* resistant to critically important antimicrobials for human and animal use and risk for public health in Cameroon. *Antibiotics*, 10(4), 402.
- Niasono A.B, Latif, H., & Purnawarman, P. 2019. Resistensi Antibiotik terhadap Bakteri *Escherichia coli* yang Diisolasi dari Peternakan Ayam Pedaging di Kabupaten Subang, Jawa Barat. *Jurnal Veteriner*, 20(2), 187-195. <https://doi.org/pISSN:1411-8322;eISSN:2477-5665>.
- Njage, P. M., & Buys, E. M. 2015. Pathogenic and commensal *Escherichia coli* from irrigation water show potential in transmission of extended spectrum and AmpC β -lactamases determinants to isolates from lettuce. *Microbial Biotechnology*, 8(3), 462-473.
- Normaliska, R., Sudarwanto, M.B. and Latif, H., 2019. Pola resistensi antibiotik pada *Escherichia coli* penghasil ESBL dari sampel lingkungan di RPH-R Kota Bogor. *Acta Veterinaria Indonesiana*, 7(2), pp.42-48.
- Sari, I P., Setiawan, I., Sunardi. 2014. Studi Sosial Dan Persepsi Masyarakat Di Sekitar Praktek Kegiatan Longyam Sebagai Sistem Pertanian Terpadu Di Desa Sekarwangi, Sumedang, Jawa Barat. Pustaka Unpad.
- Seiffert, S. N., Hilty, M., Perreten, V., & Endimiani, A. 2013. Extended-spectrum cephalosporin-resistant Gram-negative organisms in livestock: an emerging problem for human health. *Drug Resistance Updates*, 16(1-2), 22-45.
- Shaikh, S., Fatima, J., Shakil, S., Rizvi, S. M. D., & Kamal, M. A. 2015. Antibiotic resistance and extended spectrum beta-lactamases: Types, epidemiology and treatment. *Saudi Journal of Biological Science*, 22(1), 90-101.
- Søraas, A., Sundsfjord, A., Sandven, I., Brunborg, C.,

- & Jenum, P. A. 2013. Risk factors for community-acquired urinary tract infections caused by ESBL-producing enterobacteriaceae—a case-control study in a low prevalence country. *PloS one*, 8(7), 69581.
- Sudarwanto, M. B., Lukman, D. W., Purnawarman, T., Latif, H., Pisestyani, H., & Sukmawinata, E. 2017. Multidrug resistance extended spectrum β -lactamase and AmpC producing *Escherichia coli* isolated from the environment of Bogor Slaughterhouse, Indonesia. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7(8), 708-711.
- Tansawai, U., Walsh, T.R. and Niumsup, P.R., 2019. Extended spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* among backyard poultry farms, farmers, and environments in Thailand. *Poultry science*, 98(6), pp.2622-2631.
- Urban-Chmiel, R., Marek, A., Stępień-Pyśniak, D., Wiczorek, K., Dec, M., Nowaczek, A., & Osek, J. 2022. Antibiotic resistance in bacteria—A review. *Antibiotics*, 11(8), 1079.
- Wibisono, F. J., Sumiarto, B., Untari, T., Effendi, M. H., Permatasari, D. A., & Witaningrum, A. M. 2020. CTX Gene of Extended Spectrum Beta-Lactamase (ESBL) Producing *Escherichia coli* on Broilers in Blitar, Indonesia. *Systematic Reviews in Pharmacy*, 11(7).
- Widodo, E., Natsir, M. H., & Sjoftan, O. 2019. Aditif Pakan Unggas Pengganti Antibiotik: Respons terhadap Larangan Antibiotik Pemerintah Indonesia. Universitas Brawijaya Press. Malang. p130-132.
- Woolhouse, M., Ward, M., Van Bunnik, B. and Farrar, J., 2015. Antimicrobial resistance in humans, livestock and the wider environment. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 370(1670), 20140083.
- Zalizar, L., Relawati, R., & Pancapalaga, W. (2015). Usage of Antibiotic on Chicken Poultry in District of Malang, East Java, Indonesia. In *International Seminar Improving Tropical Animal Production For Food Security* (p. 158).