

KEPEKAAN ISOLAT *ESCHERICHIA COLI* TERHADAP SIPROFLOKSASIN DARI USAP KLOAKA AYAM LAYER

Nurhidayah, Maria Fatima Palupi, Novida Aryani, Indriyana, Eli Nugraha, Dyah Widyarimbi

Unit Uji Farmasetik dan Premiks

Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan, Gunungsindur – Bogor, 16340

* email : nurdrh2@gmail.com

ABSTRAK

Resistensi antimikroba telah menjadi ancaman global bagi kesehatan hewan dan manusia serta berdampak kerugian secara ekonomis. Pengawasan terhadap perkembangan kondisi resistensi antimikroba perlu dilakukan secara terus-menerus dalam upaya pengendaliannya, salah satu diantaranya terhadap antibiotik siprofloksasin. Tujuan dari studi ini adalah untuk mengetahui kepekaan antibiotik siprofloksasin terhadap isolat *Escherichia coli* dari peternakan ayam layer. Isolat *E. coli* yang diuji adalah 327 isolat yang diisolasi dari pool usap kloaka yang berasal dari 109 flock ayam layer dari tujuh provinsi di Indonesia (Jawa Timur, Jawa Barat, Jawa Tengah, Banten, Sulawesi Selatan dan Sumatera Utara) Uji kepekaan antibiotik siprofloksasin terhadap isolat *E. coli* dengan menggunakan metode agar dilusi diperoleh nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan interpretasinya mengacu pada *Clinical and Laboratory Standar Institute* (CLSI 2020). Hasil uji kepekaan *Escherichia coli* terhadap siprofloksasin menunjukkan bahwa 166 isolat adalah resisten (50,76%), 30 isolat adalah intermediet (9,17%) dan 131 isolat adalah sensitif (40,06%). Hal ini juga menunjukkan bahwa prevalensi resistensi siprofloksasin pada *E. coli* di ayam layer dari tujuh provinsi yang diambil adalah 50,76% (CI 95%; CL 45,37% - 56,14%)

Kata kunci: siprofloksasin, resistensi antibiotik, broiler, *E. coli*

ABSTRACT

Antimicrobial resistance has been a global threat to animal and human health, also affected the economic loss. . Monitoring of the development of antimicrobial resistance conditions needs to be carried out continuously in an effort to control it, one of which is the antibiotic ciprofloxacin. The purpose of this study was to determine the susceptibility of ciprofloxacin antibiotic to *E coli* isolates from layer flocks. The samples used in this study were 327 isolates of *Escherichia coli*. Isolates were taken from cloacal swab pools from 109 layer flocks of seven provinces in Indonesia (East Java, West Java, Central Java, Banten, South Celebes, and North Sumatera). Susceptibility test to the ciprofloxacin antibiotic to *E. coli* isolates was carried out using the agar dilution method to obtain the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) values and the interpretation refers to the CLSI (2020). The results of the susceptibility test of *Escherichia coli* to ciprofloxacin showed that 166 isolates were resistant (50.76%), 30 isolates were intermediate (9.17%) and 131 isolates were sensitive (40.06%). It also showed that the prevalence of ciprofloxacin resistance in *E. coli* in layer chickens from the seven provinces taken was 50.76% (95% CI; CL 45.37% - 56.14%)

Keywords : ciprofloxacin, antimicrobial resistance, broiler, *E. coli*

PENDAHULUAN

Dalam istilah terapeutik, resistansi antimikroba berarti bahwa mikroorganisme tidak dihambat oleh konsentrasi agen antimikroba yang dapat dicapai dalam cairan tubuh mengikuti dosis terapi standar ⁽³⁾. Resistansi antimikroba telah menjadi ancaman besar bagi kesehatan masyarakat dan hewan secara global. Hal ini juga berpengaruh pada keamanan pangan dan ketahanan pangan, serta kesejahteraan ekonomi ⁽²⁴⁾. Jika perkembangan resistansi antimikroba tidak dikendalikan, maka dampak yang terjadi yaitu menurunkan efikasi antimikroba, kegagalan atau lamanya pengobatan dan perawatan, meningkatnya angka morbiditas dan risiko kematian, penyakit, serta biaya kesehatan menjadi lebih tinggi ⁽¹⁴⁾.

Pengawasan terhadap perkembangan resistansi antimikroba perlu dilakukan secara terus-menerus salah satu diantaranya terhadap antibiotik siprofloksasin. Siprofloksasin adalah antimikroba spektrum luas golongan fluorokuinolon yang digunakan tidak hanya pada hewan, tapi juga digunakan pada manusia.. Hasil survei penggunaan antimikroba di peternakan ayam pada tahun 2017 menunjukkan bahwa sediaan obat hewan kombinasi siprofloksasin dan tilosin masuk dalam lima besar antibiotik yang digunakan di peternakan ayam, yaitu 5,1% ⁽⁷⁾. Ada pun pada manusia, siprofloksasin merupakan antibiotika ketiga paling banyak digunakan selama tahun 2012-2014 di Puskesmas maupun di Rumah Sakit ⁽²¹⁾. Hal ini menjadi perhatian utama untuk dilakukannya pengawasan terhadap resistansi antibiotik siprofloksasin.

Escherichin coli adalah bakteri yang bersifat komensal yang normal ditemukan pada saluran pencernaan manusia dan hewan maupun di lingkungan. Beberapa galur *E. coli* bersifat patogen, mengkontaminasi pangan dan menyebabkan diare ⁽²⁰⁾. Bakteri

ini menyebabkan kolibasilosis pada ayam yang berakibat pada kerugian ekonomi pada industri unggas ⁽²³⁾. Selain itu *E. coli* dapat berperan penyebaran gen resisten melalui transfer materi genetik resisten kepada bakteri lainnya, yang kemudian dapat diteruskan ke manusia melalui produk pangan asal hewan atau melalui kontak langsung dengan hewan ⁽¹⁵⁾. *Escherichin coli* sering digunakan dalam program monitoring dan surveilans sebagai indikator, serta memberikan informasi tentang potensi reservoir gen resistansi antimikroba yang dapat ditransfer ke bakteri patogen ⁽²⁶⁾.

Peternakan ayam layer merupakan industri perunggasan yang dapat berperan sebagai faktor kejadian resistansi antimikroba akibat penggunaan antimikroba yang tidak bijak. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui tingkat kepekaan antibiotik siprofloksasin terhadap *E. coli* yang diisolasi dari peternakan ayam layer sehingga dapat mengetahui prevalensi dari resistansi *E.coli* terhadap siprofloksasin. .

MATERI DAN METODE

Materi dan Alat

Materi yang digunakan untuk pengujian yaitu standar siprofloksasin (Sigma-Aldrich, Germany), NaCl (Merck, Jerman), *Heart Infusion Broth* (HIB, BD Bacto™-USA), *Stock Culture Agar* (SCA, BD Bacto™-USA), *Mueller-Hinton Agar* (MHA, Oxoid Ltd.-United Kingdom), Levine's Eosin Methylene Blue Agar (L-EMBA, Oxoid Ltd-United Kingdom), Media Sulfide Indole Motility (SIM, Oxoid Ltd-United Kingdom), Media Methly Red-Voges Proskauer (MRVP, Oxoid Ltd-United Kingdom), Media Simon Citrate (Oxoid Ltd-United Kingdom), reagen Kovac's (Merck-Jerman), gliserol (Merck-Jerman), dan *E. coli* ATCC 25922.

Peralatan yang digunakan adalah timbangan analitik (Shimadzu, Jepang), cawan petri, tabung reaksi, *autoclave* (Tomy Seiko,

Jepang), *waterbath*, inkubator (Hirasawa, Jepang), densitometer (Biosan, Latvia), mikroplate (Biologik, Eropa), Replica plater (Sigma-Aldrich, Jerman), pipet volumetrik (pyrex, Jepang), Pipet channel dan pipet tip (Eppendorf, Jerman).

Metode

1. Pengambilan Sampel

Sampling apus kloaka akan dilakukan di flock peternakan ayam petelur di tujuh provinsi dengan populasi ayam petelur tertinggi di Indonesia berdasarkan DJPKH (2019). Jumlah flock yang diambil dihitung berdasarkan FAO (2020) dengan rumus $N = [Z^2 \times (P) \times (1-P)] / e^2$. Dimana N adalah jumlah sampel, Z adalah tingkat konfidensi 95% (1,96), P adalah nilai dugaan prevalensi resistan, e = nilai presisi (10%). Nilai dugaan prevalensi resistansi siprofloksasin yang digunakan adalah hasil kajian Palupi *et al.* (2020) yaitu 59.75%. Sehingga didapatkan jumlah minimal sampel adalah 97 flock (kandang). Jumlah flock/kandang yang diambil per provinsi adalah proporsional sesuai dengan jumlah populasi ayam layer tiap provinsi.

Pengambilan sampel dilakukan di peternakan ayam layer yang berlokasi di Jawa Timur, Jawa Barat, Jawa Tengah, Banten, Sulawesi Selatan dan Sumatera Utara. Tiap flock/kandang diambil 5 ekor ayam sehat secara acak dan diambil apus kloaka dengan menggunakan swab steril dan dimasukkan dalam satu tabung yang berisi *Phosphate Buffer Saline* steril, lalu disimpan pada suhu 2-8°C untuk jangka waktu 24-72 jam ^(13,14).

2. Isolasi dan Identifikasi *Escherichia coli*

Sebanyak 1 mL suspensi *pool* apus kloaka ditambahkan ke dalam 9 mL HIB lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam, kemudian ditanam pada media L-EMBA dengan inkubasi suhu 37°C selama 18-24 jam. Dari tiap

pool diambil tiga koloni yang diduga *E. coli* (berdiameter 2-3 mm, warna metalik kehijauan) dan ditanam kembali pada media L-EMBA sehingga diperoleh koloni yang seragam. Selanjutnya dilakukan konfirmasi dengan uji IMViC (Indole, MR, VP, Citrate). Hasil uji IMViC *E. coli* adalah Uji Indol positif (terbentuk cincin merah), uji MR positif (warna merah), uji VP negatif (tidak berubah warna), uji *citrate* negatif (warna hijau). Sebagai kontrol, digunakan *E. coli* ATCC 25922. Isolat *E. coli* diperoleh sebanyak 327 isolat dan disimpan pada media SCA pada suhu 4-8°C dan gliserol 10% pada suhu -20°C ^(13,14).

3. Uji Kepekaan Antibiotik

Uji kepekaan antibiotik dilakukan dengan menggunakan metode agar dilusi. Standar siprofloksasin ditimbang untuk membuat stok larutan standar, lalu dilakukan pengenceran serial dari 0,25-16 µg/mL. Sebanyak 2 mL masing-masing konsentrasi larutan standar ditambahkan 18 mL MHA yang masih cair (50°C), dihomogenkan dan dibiarkan membeku pada cawan petri. Isolat *E. coli* dan strain bakteri kontrol ditanam pada media MHA dan diinkubasi pada suhu 35-37°C selama 18-24 jam sehingga didapatkan koloni tunggal. Sebanyak 3-5 koloni ditambahkan pada 2 mL NaCl fisiologis dan dihomogenkan, lalu setarakan kekeruhannya hingga 0.5 Mc Farland standard ($1,5 \times 10^8$ CFU/mL). Sebanyak 1 mL inokulum bakteri tersebut ditambahkan pada 9 mL NaCl fisiologis (1×10^7 CFU/mL), lalu sebanyak 50 µL dimasukkan ke dalam *microplate* dan inokulasi dengan multiple inokulator 3-mm pin (2 µL) pada masing-masing media MHA yang mengandung siprofloksasin. Media MHA kemudian diinkubasi pada suhu 35-37°C selama 18-24 jam. Pertumbuhan bakteri diamati untuk menentukan KHM dan dilakukan interpretasi sesuai CLSI (2020).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji kepekaan antibiotik pada 327 isolat *E. coli* dari sampel usap kloaka ayam layer terhadap siprofloksasin menunjukkan bahwa 166 isolat adalah resistan (50,76%), 30 isolat adalah intermediet (9,17%) dan 131 isolat adalah sensitif (40,06%) sebagaimana dapat dilihat pada Tabel 1. Adapun distribusi nilai KHM dapat dilihat pada Tabel 2.

Hasil pengkajian ini menunjukkan bahwa tingkat prevalensi dari siprofloksasin di *E. coli* adalah 50,76% (95% CI; CL 45.37%-56.14%). Berdasarkan EMA (2018), prevalensi 50,76% (95% CI; CL 45.37%-56.14%) termasuk dalam kategori tinggi karena prevalensinya diatas 20%. Nilai ini hampir sama dengan penelitian-penelitian resistansi siprofloksasin pada ayam dilakukan oleh Niasiono AB *et al.* (2019), Palupi *et al.* (2020), dan Tyaningsih *et al.* (2021). Penelitian yang dilakukan oleh Niasiono AB *et al.* (2019) menunjukkan bahwa resistansi *E. coli* terhadap siprofloksasin adalah 45,9%. Penelitian Niasiono AB *et al.* (2019) dilakukan pada 74 isolat *E. coli* yang didapatkan dari sampel *boot swab* peternakan ayam broiler di Kabupaten Subang, Jawa Barat ⁽¹⁷⁾. Tingkat resistansi pada Palupi *et al.* (2020) adalah

59,75% yang didapatkan dari 159 isolat *E. coli* yang berasal dari usap kloaka broiler. Sedangkan hasil Tyaningsih *et al.* (2021) menunjukkan bahwa resistansi terhadap siprofloksasin adalah 67% yang berasal dari 60 isolat *E. coli* dari apus kloaka ayam broiler di pasar tradisional ⁽²⁴⁾.

Tingkat resistansi pengkajian ini didapatkan lebih tinggi dari yang didapatkan Ariyani *et al.* (2018). Penelitian Ariyani *et al.* (2018) menunjukkan tingkat resistansi siprofloksasin adalah 14,77%. Akan tetapi, tingkat resistansi Ariyani *et al.* (2018) hanya dilakukan pada *E. coli* patogen, sedangkan pada pengkajian ini uji resistansi dilakukan pada semua isolat baik yang patogen ataupun komensal. Oleh sebab itu sangat penting untuk melakukan uji AST *E. coli* bakteri komensal karena sangat berpengaruh terhadap tingkat prevalensi.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Hung *et al.* (2009) di Taiwan, kecepatan resistansi siprofloksasin atau levofloksasin meningkat dari 2,8% pada tahun 1998–2003 menjadi 11,8% tahun 2004–2007. Pada penelitian Gosling *et al.* (2009) juga menunjukkan resistansi *E. coli* terhadap siprofloksasin yang tinggi yaitu pada kalkun sebesar 22,4% pada flock breeding dan 60,9% pada flock ayam broiler.

Tabel 1. Hasil uji kepekaan 327 isolat *E. coli* terhadap siprofloksasin dari *pool* usap kloaka pada ayam layer

	Interpretasi		
	Sensitif (KHM ≤ 0.25 µg/mL)	Intermediet (KHM = 0,5 µg/mL)	Resistan (KHM ≥ 1 µg/mL)
Jumlah isolat	131 (40,06%)	30 (9,17%)	166 (50,76%)

Tabel 2. Distribusi nilai KHM siprofloksasin dari 327 isolat *E. coli* dari *pool* usap kloaka ayam layer

Nilai KHM	Distribusi KHM (µg/mL)							
	≤ 0,25	0,5	*1	2	4	8	16	>16
Jumlah isolat	131	30	18	11	22	46	49	20

*KHM > 1 µg/mL dinyatakan resistan terhadap siprofloksasin (CLSI 2020)

Mekanisme kerja siprofloksasin menghambat sintesis dan replikasi DNA dengan membentuk ikatan kompleks dengan enzim topoisomerase II (subunit β enzim DNA girase) atau topoisomerase IV. DNA gyrase menyebabkan pemutusan rantai tunggal pada DNA untuk supercoil selama replikasi atau transkripsi. DNA rantai tunggal yang putus tidak dapat diikat kembali dan terakumulasi menyebabkan kerusakan DNA rantai ganda ⁽¹⁹⁾.

Mekanisme utama kejadian resistansi siprofloksasin sebagaimana golongan fluoroquinolon adalah terdapat modifikasi pada enzim topoisomerase II (subunit β enzim DNA girase) dan topoisomerase IV sehingga menyebabkan enzim tidak dapat diikat oleh fluorokuinolon. Menurut Fábrega *et al.* (2009) terdapat empat mekanisme resistansi siprofloksasin pada *E. coli* yaitu: (a) Mengubah target, dimana terjadi mutasi gen kromosom (*gyrA*, *gyrB*, *parC* dan *parE*) sehingga mengurangi sensitifitas siprofloksasin; (b) pengurangan akumulasi siprofloksasin akibat mutasi gen pompa effluks, dimana terlibat gen kromosom (*marR*, *acrAB*, *tolC*, *soxS*, dan *rpoB*) serta gen yang dikodekan plasmid (*qepA* dan *oqxAB*); (c) pemblokiran fisik target siprofloksasin, dimana adanya gen resistan yang dimediasi plasmid (*qnrA*, *qnrB*, *qnrC*, *qnrD*, *qnrE*, dan *qnrS*). Gen *qnr* mengkode pentapeptida yang memblokir aksi kuinolon pada DNA girase dan topoisomerase IV; dan (d) modifikasi enzim siprofloksasin dengan adanya keterlibatan gen resistan yang dimediasi plasmid (*aac(6')-Ib-cr*, *crpP*). Gen *aac(6')-Ib-cr* mengkode asetilase yang memodifikasi gugus amino dari piperazin cincin fluorokuinolon.

Resistansi antibiotik disebabkan oleh penggunaan antimikroba yang tidak tepat (*missuse*), berlebihan (*overuse*), dan tidak sesuai aturan (*unregulated*). Berdasarkan data Ditkeswan (2018) siprofloksasin masih banyak digunakan di peternakan unggas

untuk pencegahan (76,6%) dibandingkan dengan untuk pengobatan (22,5%). Selain itu, beberapa penggunaan antibiotik di peternakan tidak dipilih atau diawasi oleh dokter hewan. Pemahaman peternak mengenai penggunaan antibiotik masih kurang. Persepsi peternak mengenai penggunaan antibiotik adalah untuk meningkatkan ekonomi selain untuk pengobatan, yaitu meningkatkan produksi, ayam semakin sehat, mengurangi kematian, serta pencegahan ⁽²²⁾.

Strategi pencegahan terjadinya resistansi antibiotik di peternakan diantaranya yaitu pemilihan antibiotik sesuai dengan indikasi dan diagnosa yang tepat, serta penggunaannya sesuai dengan jumlah/dosis dan jangka waktu pemberian atau waktu henti obat ⁽¹⁰⁾. Hindari penggunaan antibiotik yang masuk dalam *Highest Critically Important Antimicrobial for Human*, termasuk siprofloksasin, sebagai pilihan pertama pengobatan ⁽²⁵⁾. Tidak menggunakan antibiotik untuk pemacu pertumbuhan dan pencegahan. Menerapkan Manajemen peternakan yang baik (*Good Farming Practices*) seperti biosekuriti, vaksinasi, dan lain-lain. Penggunaan probiotik, prebiotik, herbal dan sebagainya sebagai alternatif pengganti antibiotic ⁽¹⁶⁾. Perlunya meningkatkan pengawasan penggunaan antibiotik diberbagai sektor terkait dengan kesehatan hewan, serta pembinaan secara kontinu kepada pengguna agar antimikroba digunakan secara bijak

Siprofloksasin merupakan salah satu antibiotik dalam klasifikasi WHO (2019) yang masuk dalam *Highest Priority Critically Important Antimicrobials for Human Medicine*. Enam jenis antimikroba dalam kategori *Highest Priority Critically Important Antimicrobials for Human Medicine* adalah efalosporin (generasi ke-3, 4, dan 5), glikopeptid, makrolid, polimiksin, kuinolon, dan ketolide. Mengingat siprofloksasin memiliki posisi yang sangat penting bagi manusia dan pada pengkajian ini didapatkan

prevalensi yang tinggi maka penggunaan siprofloksasin sebaiknya pada hewan ternak hanya digunakan sebagai pilihan akhir atau jika pada kasus tertentu yang memang hanya memerlukan siprofloksasin.

KESIMPULAN DAN SARAN

Hasil uji kepekaan *E. coli* terhadap siprofloksasin menunjukkan bahwa 166 isolat adalah resistan (50,76%), 30 isolat adalah intermediet (9,17%) dan 131 isolat adalah sensitif (40,06%). Hal ini juga menunjukkan bahwa prevalensi resistansi siprofloksasin pada *E. coli* di ayam layer dari tujuh provinsi yang diambil adalah tinggi yaitu 50,76% (CI 95%; CL 45,37%-56,14%). Siprofloksasin sebaiknya tidak sebagai pilihan pertama dalam pengobatan dan perlunya peningkatan pengawasan dan pembinaan penggunaan siprofloksasin di peternakan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ariyani N, Nurhidayah, Istianingsih, Ambarwati, Sari RA. 2018. Doxycycline and Ciprofloxacin Resistance In *Escherichia Coli* Isolated From Layer Feces. Prosiding Pertemuan AFFAVETI. Surabaya, pp.6-12.
2. [CLSI] Clinical and Laboratory Standards Institute. 2020. M100 : *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing* M100 30th Ed. Clinical and Laboratory Standards Institute. Wayne, USA.
3. Coyle MB. 2005. Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing. American Society for Microbiology.
4. [Ditkeswan] Direktorat Kesehatan Hewan. 2018. Survey AMU (Penggunaan Antimikroba). Kementerian Pertanian Republik Indonesia. Jakarta.
5. [DJPKH] Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan. 2019. Statistik Peternakan dan Kesehatan Hewan. Kementerian Pertanian [ID]: Jakarta
6. [EMA] European Medicine Agency. 2018. Guideline on the assessment of the risk to public health from antimicrobial resistance due to the use of an antimicrobial veterinary medicinal product in food producing animals (Draft 2). [Internet] [Diunduh 01 Oktober 2018]. Terdapat dalam www.ema.europa.eu / docs / en_gb / document_library/scientific_guideline/2018/07/WC500252679.pdf
7. Fàbrega A, Madurga S, Giralt E dan Vila J. 2009. Review : Mechanism of action of and resistance to quinolones. *Microbial Biotechnology* 2(1), 40–61.
8. [FAO] Food and Agriculture Organisation of The United Nations. 2019. Monitoring and surveillance of antimicrobial resistance in bacteria from healthy food animals intended for consumption. Regional Antimicrobial Resistance Monitoring and Surveillance Guidelines – Volume 1. Bangkok
9. Gosling RJ, Clouting CS, Randall LP, Horton RA dan Davies RH. 2012. Ciprofloxacin resistance in *E. coli* isolated from turkeys in Great Britain. *Avian Pathology* 41(1), 83-89. <https://doi.org/10.1080/03079457.2011.640659>.
10. Humaida R. 2014. Strategy to Handle Resistance of Antibiotic. *J Majority* 3 (7) : 113-120.
11. Hung KH, Sheu BS, Chang WL, Wu HM, Liu CC, Wu JJ. 2019 Prevalence of primary fluoroquinolone resistance among clinical isolates of *Helicobacter pylori* at a University Hospital in Southern Taiwan. *Helicobacter*. 2009 Feb;14(1):61-5.
12. Lupindu AM. 2017. Isolation and Characterization of *Escherichia coli* from Animals, Humans, and Environment. Intech <http://dx.doi.org/10.5772/67390>.
13. Markey B, Leonard F, Archambault M, Cullinane A, Maguire D. 2013. Clinical Veterinary Microbiology. 2nd Ed. London (UK): Mosby Elsevier.
14. Marshall BM and Levy SB. 2011. Food Animals and Antimicrobials : Impacts on Human Health. *Clin Microbiol Rev* (4):718-33. doi: 10.1128/CMR.00002-11.
15. Naipospos TSP. 2019. Kurangi Antibiotik di Peternakan. *Poultry Indonesia* Vol.XIV.
16. Niasono AB, Latif H, Purnawarman T. 2019. Resistansi Antibiotik Terhadap Bakteri *Escherichia coli* yang Diisolasi dari Peternakan Ayam Pedaging di Kabupaten Subang, Jawa Barat. *Jurnal Veteriner* 2019 Vol. 20 No. 2 : 187 – 195. DOI: 10.19087/jveteriner.2019.20.2.187.
17. Noor SM, Poeloengan M. 2004. Pemakaian antibiotik pada ternak dan dampaknya pada kesehatan manusia. Lokakarya Nasional Keamanan Pangan Produk Peternakan. Balai Penelitian Veteriner. Bogor.
18. Palupi MF, Nugraha E, Hakim M, Atikah N. 2020. Evaluasi nilai konsentarsi hambat minimum siprofloksasin terhadap isolat *E. coli* dari usap kloaka broiler. *Prosiding*

- Penyidikan Penyakit Hewan Rapat Teknis dan Pertemuan Ilmiah (Rātekpil) dan Surveilans Kesehatan Hewan Tahun 2020.* Hal: 414-422
19. Putten BCL, Remondini D, Pasquini G, Janes VA, Matamoros S and Schultsz C. 2019. Quantifying the contribution of four resistance mechanisms to ciprofloxacin MIC in *Escherichia coli* : a systematic review. *Antimicrob Chemother* 74: 298–310. doi:10.1093/jac/dky417.
 20. Rahayu WP, Nurjanah S, dan Komalasari S. 2018. *Escherichia coli* : Patogenitas, Analisis dan Kajian Risiko. IPB Press. Bogor.
 21. Siahaan S. 2015. Studi pengembangan kebijakan pengendalian resistansi antimikroba di Indonesia, disampaikan pada Diseminasi Hasil Kajian Studi Pengembangan Kebijakan Pengendalian Resistansi Antimikroba di Indonesia tanggal 23 April 2015.
 22. Sumambang A, Ariyanto AM, Kompudu A, Pangaribuan DM, Nugroho E, Puspita RM, Ulfa D. 2019. Persepsi Peternak Terhadap Penggunaan Antibiotik Pada Peternakan Ayam Pedaging Komersial Di Provinsi Kalimantan Barat. Prosiding Penyidikan Penyakit Hewan Rapat Teknis dan Pertemuan Ilmiah (RATEKPIL) dan Surveilans Kesehatan Hewan.
 23. Tarmudji. 2003. Kolibasilosis Pada Ayam : Etiologi, Patologi dan Pengendaliannya. *Wartazoa* Vol. 13 No.2.
 24. Tyasningsih WY, Yurianti A, Rahmahani J, Setiawan B, Harijani N, Budiarto, Effendi MH, Salamah dan Witaningrum AM. 2021. *Poll Res.* 40 (1) : 317-321.
 25. [WHO] World Health Organization. 2019. Critically Important Antimicrobials for Human Medicine 6th Revision 2018. World Health Organization.
 26. World Organisation for Animal Health (OIE). 2020. Terrestrial Animal Health Code. Harmonisation of national antimicrobial resistance surveillance and monitoring programmes. Chapter 6.8. <https://www.oie.int/en/what-we-do/standards/codes-and-manuals/terrestrial-code-online-access>.