

RESISTENSI ISOLAT *ESCHERICHIA COLI* DARI AYAM LAYER TERHADAP KOLISTIN SULFAT BERDASARKAN *MINIMUM INHIBITORY CONCENTRATION (MIC)*

¹Muria Fatima Palupi, ¹Nurhidayah, ²Meutia Hayati, ³Neneng Atikah

¹Unit Uji Farmasetik dan Premiks, ²Unit Uji Bakteriologi

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

ABSTRAK

Minimum Inhibitory Concentration (MIC) adalah salah satu parameter yang dapat digunakan untuk menentukan resistensi suatu mikroba terhadap antimikroba tertentu. Pada penkajian ini dilakukan pengujian kepekaan kolistin sulfat terhadap 87 isolat *Escherichia coli* (*E. coli*) yang diisolasi dari feses ayam layer dari tujuh provinsi dan 7 isolat *E. coli* yang diisolasi dari telur ayam layer dari lima provinsi di Indonesia dengan menggunakan metode *agar dilution* untuk mendapatkan nilai MIC. MIC kolistin sulfat terhadap isolat yang didapatkan dari feses adalah 2 ppm (43,9%), 1 ppm (36,8%), 4 ppm (12,4%), 0.5 ppm (4,6 %), dan 8 ppm (2,3%). Tiga belas isolat (14,94%) resisten terhadap kolistin sulfat dengan nilai MIC $\geq$ 2 ppm. MIC kolistin sulfat terhadap isolat yang berasal dari telur adalah 2 ppm (4,3%), 1 ppm (43%), dan 0.5 ppm (16%), ketujuh isolat tersebut masih peka terhadap kolistin sulfat.

Kata kunci: MIC, kolistin sulfat, *E. coli*, ayam layer

ABSTRACT

Minimum Inhibitory Concentration (MIC) is one of the parameters that can be used for determining the resistance of a particular microbe to antimicrobials. In this study, testing the susceptibility of colistin sulfate against 87 isolates of *Escherichia coli* (*E. coli*) isolated from layer chicken faecal of seven provinces and seven isolates of *E. coli* isolated from layer chicken egg of the provinces in Indonesia using dilution method in order to determine the value of MIC. MIC of Colistin sulphate for isolates obtained from faecal was 2 ppm (43.9%), 1 ppm (36.8%), 4 ppm (12.4%), 0.5 ppm (4.6%), and 8 ppm (2.3 %). Thirteen isolates (14.94%) were resistant to colistin sulphate with MIC values $\geq$ 2 ppm. MIC of colistin sulfate for isolates derived from eggs was 2 ppm (4.3%), 1 ppm (43%), and 0.5 ppm (16%) these seven isolates were still susceptible to colistin sulfate.

Key words: MIC, colistin sulphate, *E. coli*, layer chicken

PENDAHULUAN

Antibiotik merupakan salah satu penemuan terpenting bagi sejarah manusia pada abad ke-20. Setelah pertama kali ditemukan oleh Alexander Flemming pada tahun 1928, antibiotik mengalami perkembangan yang luar biasa, akan tetapi pada 30 tahun terakhir belum ditemukan lagi antibiotik baru^(12,13). Lambatnya penemuan antibiotik baru sayangnya tidak sejalan dengan cepatnya peningkatan resistensi bakteri terhadap antibiotik. Resistensi bakteri terhadap antimikroba telah menjadi ancaman global bagi manusia dan hewan. Infeksi oleh bakteri yang resisten memberikan efek yang merugikan, seperti menurunnya keberhasilan pengobatan, penurunan kualitas hidup, peningkatan biaya pengobatan, bertambah lamanya durasi sakit, dan penyebaran penyakit^(10, 11, 23). Penggunaan yang salah (*misuse*) dari antibiotik telah menjadi *issue* penting. Dalam sidang Persatuan Bangsa-Bangsa pada tahun 2016 diperkirakan bahwa pada tahun 2050 kematian yang disebabkan karena gagalnya pengobatan akibat resistensi antimikroba akan mencapai 10 juta orang/tahun. Hal ini lebih tinggi dari prediksi orang meninggal karena kanker (8,5 juta orang/ tahun). Bank Dunia memperkirakan, biaya pengobatan untuk menanggulangi akibat dari resistensi antimikroba mencapai 100 trilyun USD.

Penggunaan obat-obat antimikroba pada hewan produksi atau ternak telah diimplikasikan sebagai salah satu faktor risiko pada pengembangan dan penyebaran bakteri-bakteri resisten. Hewan produksi dan lingkungan produksinya dianggap sebagai salah satu *reservoir* dari bakteri resisten yang dapat bertransfer ke manusia baik secara langsung ataupun tidak langsung^(15,24). Agen antimikroba di Indonesia digunakan dalam pemeliharaan hewan produksi baik untuk pengobatan atau imbuhan pakan sebagai pemacu pertumbuhan⁽⁶⁾. Salah satunya

antibiotik yang digunakan untuk pengobatan dan sebagai pemacu pertumbuhan adalah kolistin sulfate.

Kolistin sulfat pertama kali ditemukan pada tahun 1949 dan merupakan kelompok polimiksin⁽¹⁶⁾. Kolistin sulfat telah digunakan selama beberapa dekade di dunia kedokteran hewan pada babi, pedet, dan unggas. Sebagian besar aplikasinya adalah untuk pengobatan melalui peroral⁽⁷⁾. Kolistin memainkan peranan penting baik untuk kesehatan manusia maupun hewan. Kolistin merupakan sediaan terakhir yang digunakan untuk pengobatan infeksi nosokomial yang disebabkan oleh *carbapenemase-producing Enterobacteriaceae* (*E. coli*, *Klebsiella*), *multi-drug resistant Pseudomonas* dan *Acinetobacter sp. (non fermenters)*^(15, 7, 12).

Sebelum tahun 2015, resistensi kolistin pada bakteri-bakteri yang peka umumnya disebabkan oleh adanya mutasi kromosom dan dalam teori ini, resistensi ini tidak dapat ditransferkan oleh *motile genetics elements*^(4, 21). Akan tetapi pada tahun 2015 Liu *et al.* melaporkan kasus pertama mekanisme resistensi kolistin melalui *plasmid-mediated*, yaitu gen *mcr-1* pada isolat *E. coli* yang didapatkan dari daging babi mentah, hewan, dan manusia. Penemuan gen *mcr-1* ini menjadi penting, karena menyebabkan semakin berkurangnya pilihan dalam menangani kasus resistensi pada bakteri gram negatif. Penelitian gen *mcr-1* menjadi sangat penting terutama keberadaannya di hewan produksi dan produknya.

E. coli merupakan salah satu keluarga *Enterobacteriaceae*. *E.coli* merupakan bakteri komensal yang terdapat di saluran pencernaan manusia maupun hewan^(10, 22). Dalam satu gram feses unggas dapat ditemukan *E.coli* sebanyak 10^6 - 10^9 koloni⁽²³⁾. *E. coli* merupakan bakteri gram negatif, tidak berspora, berbentuk batang dengan ukuran 1.1 - $1.5 \mu\text{m} \times 2.0$ - $6.0 \mu\text{m}$, dapat bertahan pada media yang miskin nutrisi, dapat

motil dengan adanya *peritrichous flagella* atau dapat non motil ⁽²⁰⁾.

E. coli merupakan bakteri yang disarankan untuk diuji kepekaannya terhadap antibiotik pada saat dilakukan program monitoring dan surveilans. Hal ini disebabkan karena adanya serotipe O157 merupakan bakteri zoonosis yang patogen bagi manusia tetapi tidak bagi hewan dan *E. coli* juga merupakan bakteri komensal ^(1,25). Bakteri komensal dipertimbangkan berfungsi sebagai *reservoir* gen resisten antimikroba, yang bisa mentransfer gen tersebut ke bakteri patogen yang dapat menyebabkan diare pada hewan atau manusia ⁽²⁵⁾.

Tulisan ini bertujuan untuk mendapatkan nilai *minimum inhibitory concentration* (MIC) kolistin sulfat terhadap *E. coli* khususnya isolat yang didapatkan dari feses dan telur ayam layer. Dengan mendapatkan nilai MIC maka dapat ditentukan resisten tidaknya isolat tersebut, sehingga nantinya dapat digunakan sebagai dugaan prevalensi resistensi *E. coli* terhadap kolistin sulfat pada ayam layer. Dugaan prevalensi sangat penting dalam membuat resiko analisa resistensi, monitoring resistensi terutama dalam penentuan jumlah sampel sehingga mendapatkan nilai prevalensi sebenarnya, serta penentuan tindakan-tindakan untuk mengurangi resistensi pada hewan maupun produknya.

MATERI DAN METODE

Materi dan Peralatan

Materi yang digunakan adalah 87 arsip isolat *E. coli* yang didapatkan dari hasil pengkajian *E. coli* pada feses ayam layer dari peternakan ayam layer di tujuh provinsi dan tujuh arsip isolat yang berasal dari telur yang diambil di peternakan di lima provinsi oleh tim BBPMSOH, isolat *E. coli* strain NIH (sebagai *E. coli* standar) *Nutrient Agar* (NA, Difco/BD), *Heart Infusion Broth* (HIB, Difco/DB), *Muller*

Hinton Agar (MHA, Difco/DB), standar kolistin sulfat (Sigma), *destillated water* (DW) steril, dan NaCl fisiologis steril.

Alat yang digunakan adalah tabung reaksi dan penutupnya steril, cawan petri 10 cm, micropipet, fin tip steril, ose, inkubator, *clean bench*, spidol, vortex, penangas air, dan pipet ukur 1-9 mL steril

Metode

Uji MIC dilakukan dengan melakukan uji kepekaan *E. coli* terhadap kolistin sulfat. Standar kolistin sulfat dilarutkan dan diencerkan dengan DW steril sehingga mendapatkan konsentrasi akhir 2,5 ppm, 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm, 40 ppm, 80 ppm, dan 160 ppm. Buat media MHA yang mengandung kolistin sulfat dengan kelipatan 2 kali dimulai dari 0,25 µg/ mL hingga 16 µg/ mL dengan cara masukkan 1 mL larutan standar yang telah disiapkan ke dalam cawan petri dan masukkan 9 mL media MHA kemudian campur hingga rata. Sebagai kontrol media gunakan media MHA tanpa diberi kolistin sulfat standar dan sebagai bakteri kontrol digunakan *E. coli* strain NIH.

Ambil satu koloni isolat *E. coli* yang ditanam pada NA dan kemudian masukkan ke dalam 3 mL HIB steril, inkubasikan pada suhu 36-37°C selama 2-6 jam. Jika kekeruhan sudah setara dengan larutan McFarland 0,5 encerkan biakan tadi 100 kali dengan larutan *saline* steril, sehingga nantinya didapatkan satu spot/ titik inokulasi pada MHA setara dengan 10⁴ koloni/ titik. Inkubasi selama 18 jam pada suhu 37°C. Periksa MIC, yaitu konsentrasi terendah dari obat yang mampu untuk mencegah pertumbuhan bakteri yang ditandai tidak tampak adanya pertumbuhan bakteri. *E. coli* dinyatakan resisten jika MIC > 2 µg/ mL. ^(1,2)

PEMBAHASAN

Metode uji untuk mengetahui kepekaan *E. coli* terhadap kolistin sulfat dapat dilakukan dengan beberapa metode, yaitu metode *disc diffusion* (Kirby - Bauer), *dilution method* yang terdiri dari *broth* dan *agar dilution* (dengan menggunakan nilai MIC), *disc prediffusion*, atau dengan *rapid test* berdasarkan deteksi metabolisme glukosa yang berkenaan dengan pertumbuhan bakteri dalam media yang mengandung kolistin (1, 2, 3, 8, 9, 10). Pada pengkajian ini digunakan *dilution method* sesuai *British Society for Antimicrobial*

Chemotherapy (BSAC) tahun 2016. Metode *disc diffusion* sebaiknya hanya digunakan untuk uji *screening* karena kolistin dalam *disc* tidak dapat diabsorpsi dengan baik. Apabila ingin menggunakan metode *disc diffusion* sebaiknya menggunakan metode *prediffusion* sebagaimana yang dilaporkan oleh Boyen dkk (2010).

Dari pengkajian ini didapatkan nilai MIC kolistin sulfat terhadap isolat *E. coli* yang diisolasi dari feses ayam layer cukup bervariasi yaitu dari 0.5 - 8 ppm, sebagaimana Tabel 1..

Tabel 1 Nilai MIC Kolistin Sulfat Terhadap Isolat *E. coli* yang diambil dari Feses Ayam Layer

No.	Kode Isolat	MIC
1	EC/1	2 ppm
2	EC/3	2 ppm
3	EC/4	2 ppm
4	EC/5	2 ppm
5	EC/6	2 ppm
6	EC/7	2 ppm
7	EC/8	2 ppm
8	EC/9	2 ppm
9	EC/10	2 ppm
10	EC/11	2 ppm
11	EC/12	1 ppm
12	EC/13	1 ppm
13	EC/14	2 ppm
14	EC/15	8 ppm
15	EC/16	2 ppm
16	EC/17	2 ppm
17	EC/18	1 ppm
18	EC/19	1 ppm
19	EC/20	2 ppm

20	EC/21	4 ppm
21	EC/22	1 ppm
22	EC/23	2 ppm
23	EC/24	2 ppm
24	EC/25	2 ppm
25	EC/26	2 ppm
26	EC/27	4 ppm
27	EC/28	8 ppm
28	EC/29	2 ppm
29	EC/31	1 ppm
30	EC/32	1 ppm
31	EC/33	2 ppm
32	EC/34	4 ppm
33	EC/35	1 ppm
34	EC/36	4 ppm
35	EC/37	1 ppm
36	EC/38	1 ppm
37	EC/39	4 ppm
38	EC/40	1 ppm
39	EC/41	1 ppm
40	EC/42	2 ppm
41	EC/43	1 ppm
42	EC/44	1 ppm
43	EC/45	4 ppm
44	EC/46	1 ppm
45	EC/47	0.5 ppm
46	EC/48	1 ppm
47	EC/49	1 ppm
48	EC/50	4 ppm
49	EC/51	1 ppm
50	EC/52	1 ppm

51	EC/53	1 ppm
52	EC/54	0.5 ppm
53	EC/55	1 ppm
54	EC/56	2 ppm
55	EC/57	1 ppm
56	EC/58	1 ppm
57	EC/59	1 ppm
58	EC/60	1 ppm
59	EC/61	1 ppm
60	EC/62	1 ppm
61	EC/63	1 ppm
62	EC/65	2 ppm
63	EC/66	2 ppm
64	EC/67	2 ppm
65	EC/68	2 ppm
66	EC/69	2 ppm
67	EC/70	1 ppm
68	EC/71	2 ppm
69	EC/72	2 ppm
70	EC/73	4 ppm
71	EC/74	4 ppm
72	EC/75	2 ppm
73	EC/76	2 ppm
74	EC/77	4 ppm
75	EC/78	1 ppm
76	EC/79	0.5 ppm
77	EC/80	2 ppm
78	EC/81	2 ppm
79	EC/82	4 ppm
80	EC/83	1 ppm
81	EC/84	0.5 ppm

82	EC/85	2 ppm
83	EC/86	1 ppm
84	EC/87	2 ppm
85	EC/88	2 ppm
86	EC/89	2 ppm
87	EC/90	2 ppm

Pada Tabel 1 didapatkan bahwa nilai MIC paling banyak adalah pada 2 ppm (43,9%), selanjutnya adalah 1 ppm (36,8%), 4 ppm (12,4%), 0,5 ppm (4,6 %), dan 8 ppm (2,3%). sebagaimana terdapat dalam Tabel 2. Dari 87 isolat didapatkan 13 isolat (14,94%) resisten terhadap kolistin sulfat, dimana *E. coli*

dinyatakan resisten terhadap kolistin apabila nilai MIC > 2 ppm. Ketigabelas isolat tersebut berasal dari provinsi Bali (4 isolat), Kalimantan Barat (4 isolat), Nusa Tenggara Barat (1 isolat), Sulawesi Selatan (2 isolat), dan Kalimantan Selatan (2 isolat).

Tabel 2 Rekapitulasi MIC Kolistin Sulfat Terhadap Isolat *E. coli* yang Diambil dari Feses Ayam Layer

	MIC (ppm)						
	0.25	0.5	1	2	4	8	16
Jumlah	0	4	32	38	11	2	0

Dari hasil pengujian ini maka didapatkan dugaan prevalensi resistensi *E. coli* terhadap kolistin sulfat yang diambil dari feses ayam layer di peternakan adalah 14,94 %. Hasil ini lebih tinggi dari penelitian yang dilakukan di Jerman oleh Irgang dkk. (2016), dimana prevalensi resistensi *E. coli* terhadap kolistin adalah antara 0,6- 2% (pada peternakan ayam layer) dan 2,5-7,3% (pada peternakan ayam broiler). Dugaan prevalensi resistensi isolat *E.coli* yang didapatkan dari pengkajian ini menunjukkan angka yang lebih rendah jika dibandingkan dengan isolat yang berasal dari feses ayam broiler yang diambil di peternakan pada penelitian di Vietnam oleh Nguyen dkk. (2016) dimana prevalensi resistensinya adalah 22,2%.

Hasil MIC kolistin sulfat terhadap isolat *E. coli* yang didapat dari telur adalah 0,5 - 2 ppm (Tabel 3). Hal ini menunjukkan bahwa ketujuh isolat tersebut masih peka terhadap kolistin sulfat, dimana isolat *E. coli* dinyatakan masih peka terhadap kolistin apabila nilai MIC $\leq$ 2 ppm (BSAC). Ketujuh isolat ini merupakan hasil isolasi dari 180 telur yang diambil dari beberapa provinsi untuk mengetahui adanya cemaran *E. coli* pada telur.

Tabel 3 Nilai MIC Kolistin Sulfat Terhadap Isolat *E. coli* yang diambil dari Telur Ayam Layer

No.	Kode Isolat	MIC
1	EC/30	2 ppm
2	EC/64	2 ppm
3	EC/91	1 ppm
4	EC/92	0.5 ppm
5	EC/93	1 ppm
6	EC/94	1 ppm
7	EC/95	2 ppm

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil uji kepekaan *E. coli* terhadap kolistin sulfat dengan menggunakan nilai MIC didapatkan 14,94% isolat yang berasal dari feses ayam layer resisten terhadap kolistin sulfat. Adapun isolat yang berasal dari telur menunjukkan kepekaan terhadap kolistin yang sangat baik, hal ini bisa disebabkan antara lain

karena jumlah sampel yang sangat sedikit atau penanganan telur pada peternakan sudah baik sehingga meminimalisir adanya *E. coli* resisten kolistin sulfat terbawa dalam telur.

DAFTAR PUSTAKA

1. Bahera B, Mathur P, Das A, Kapil A, Gupta B, Bhoi S, Farooque K, Sharma V & Misra MC. 2010. Evaluation of Susceptibility Testing Methods for Polymixin. *International Journal of Infection Disease* 14: 596-601.
2. Boyen F, Vangroenweghe F, Butaye P, De Graef E, Castryck F, Heylen P, Vanrobaeys M & Haesebrouck F. 2010. Disc Prediffusion Is A Reliable Method for Testing Colistin Susceptibility in Porcine *E. coli* Strains. *Veterinary Microbiology* (144): 359-362
3. British Society for Antimicrobial Chemotherapy (BSAC). 2016. BSAC To Actively Support the EUCAST Disc Diffusion Method for Antimicrobial Susceptibility Testing in Preference to The Current BSAC Disc Diffusion Method. United Kingdom
4. Callens BD, Persoons D, Maes M, Laanen M, Postma F, Boyen F, Haesebrouck P, Butaye B, Catry & J Dewulf. 2012b. Prophylactic and Metaphylactic Antimicrobial Use in Belgian Fattening Pig Herds. *Preventive Veterinary Medicine* 106:53-62.

5. Collignon P, Powers JH, Chiller TM, Aidara-Kane A. & Aarestrup FM. 2009. World Health Organization Ranking of Antimicrobials According to Their Importance in Human Medicine: A Critical Step for Developing Risk Management Strategies for the Use of Antimicrobials in Food Production Animals. *Food Safety (H)* 2009;49 (1 July): 132-141
6. Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan (Ditjen PKH). 2014. Indeks Obat Hewan Indonesia Edisi IX. Jakarta. Kementerian Pertanian Republik Indonesia.
7. European Medicine Agency (EMA). 2013. Use Of Colistin Products In Animals Within The European Union: Development Of Resistance And Possible Impact On Human And Animal Health. 7 Westferry Circus Canary Wharf London E14 4HB United Kingdom. [Internet] [Diunduh tanggal 24 Februari 2016]. Terdapat dalam http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Report/2013/07/WC500146813.pdf
8. Galani I, Kontopidou F, Souli M, Rekatsina PD, Koratzanis E, Deliolas J. & Giamarellous H. 2008. Colistin Susceptibility Testing by Etest and Disk Diffusion Methods. *International Journal of Infection Disease* (31): 434-439
9. Gales A, Reis AO. & Jones R. 2001. Contemporary Assessment of Antimicrobial Susceptibility testing Methods for Polymixin B and Colistin: Review of Available Interpretative Criteria and Quality Control Guidelines. *Journal of Clinical Microbiology* Vol. 39 No. 1: 183-190
10. Guerra B, Junker E, Schroeter A, Malorny B, Lehmann S. & Helmuth R. 2003. Phenotypic and Genotypic Characterization of Antimicrobial Resistance in German *Escherichia coli* Isolates from Cattle, Swine, and Broiler. *J of Antimicro. C.* 52: 489-492
11. Lestari ES, Severin JA. & Verbrugh HA. 2012. Antimicrobial Resistance Among Pathogenic Bacteria in Southeast Asia. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* Vol 43 No. 2: 422
12. Li J, Nation RL, Turnidge JD, Milne RW, Coulthard K, Rayner CR. & Paterson DL. 2006. Colistin: Tre Re-Emerging Antibiotic for Multidrug-Resistant Gram Negative Bacterial Infections. *Lancet Infect Dis.* (6):589-601
13. Lim, L.M., N. Ly, D. Anderson, J.C. Yang, L. Macander, A. Jarkowski, A. Forrest, J.B. Bulitta. & B.T. Tsuji. 2010. Resurgence of Colistin: A Review of Resistance, Toxicity, Pharmacodynamics, and Dosing. *Pharmacotherapy* 30:1279-1291.
14. Liu YY, Wang Y, Walsh TR, Yi LX, Zhang R., Spencer J, Doi Y, Tian G, Dong B, Huang X, Yu LF, Gu D, Ren H, Chen X, Lu L, He D, Zhou H, Liang Z, Liu JH & Shen J. 2015. Emergence of Plasmid-mediated Colistin Resistance Mechanism MCR-1 In Animals and Human Being In China: A Microbiological and Molecular Biology Study. *Lancet Infect Dis* 201; published online 18 November 2015. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00424-7](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00424-7)

15. Marshall BM. & Levy SB. 2011. Food Animals and Antimicrobials: Impacts on Human Health. *Clin. Microbiol. Rev.* 2011, 24(4):718-735
16. Morales AS, Araujo JF, Moura Gomes VT, Costa ATR, Rodrigue DP, Ferreira TSP, Lima Filsner PHN, Felizardo MR. & Moreno AM. 2012. Colistin Resistance in *Escherichia coli* and *Salmonella enteric* Strains Isolated from Swine in Brazil. *The Sci World J Vol.* 2012:1-4
17. Naipospos TSP. 2014. Resistensi Antimikroba Pada Hewan Perspektif Produksi Ternak Global dan Korelasinya Dengan Menggunakan Antimikroba dalam Seminar Nasional "Ancaman Global Resistensi Antimikroba: Bagaimana Kita Harus Bertindak 22 Maret 2014". CIVAS. Jakarta
18. Nguyen NT, Nguyen HM, Nguyen CV, Nguyen TV, Nguyen MT, Thai HQ, HO MH, Thwaites G, Ngo HT, Baker S. & Carrique-Mas J. 2016. Use of Colistin and Other Critical Antimicrobials on Pig and Chicken Farms in Southern Vietnam and Its Association with Resistance in Commensal *Escherichia coli* Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* Vol 82 No.13: 3727-3735
19. Nordman P, Jayol A. & Poirer L. 2016. Rapid Detection of Polymyxin Resistance in Enterobacteriaceae. *Emerging Infection Diseases* Vol 22 No. 6: 1038-1043
20. Riemann HP. & Cliver DO. 2006. Foodborne Infections and Intoxications. 3rd Eddition. Food Science and Technology, International series.Elsevier Inc. USA.
21. Schroeder CM, White DG. & Meng J. 2004. Retail Meat and Poultry as Reservoir of Antimicrobial-Resistant *Escherichia coli*. *Food Microbiology* 21: 249-255
22. Tabbu CR. 2000. Penyakit Ayam dan Penanggulangannya ... Vol. 1. Penerbit Kanisius. Jogjakarta
23. World Health Organization (WHO). 2010. Regional Strategy and Containment of Antimicrobial Resistance. [Internet] [Diunduh pada 10 Desember 2013]. Terdapat dalam www.searo.who.int/about/administration/structure/BCT_hlm-107.pdf
24. World Health Organization (WHO). 2016. Antimicrobial Resistance. [Internet] [Diunduh pada 23 Oktober 2016]. Terdapat dalam <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/en/>
25. World Organisation for Animal Health (OIE). 2015. Terrestrial Animal Health Code Ed. 24th. World Organisation for Animal Health (OIE).