

## EVALUASI NILAI KONSENTRASI HAMBAT MINIMUM SIPROFLOKSASIN TERHADAP ISOLAT *ESCHERICHIA COLI* DARI USAP KLOAKA BROILER

Maria Fatima Palupi, Eli Nugraha, Meutia Hayati, Neneng Atikah

Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan  
Jl. Raya Pembangunan Gunungsindur – Bogor 16340  
Email penulis korespondensi: lupi\_ima@yahoo.co.id

### ABSTRAK

Siprofloksasin merupakan antimikroba golongan kuinolon yang masuk dalam *Highest Priority Critically Important Antimicrobials for Human* yang juga digunakan sebagai terapatik di hewan produksi di Indonesia. Salah satu parameter farmakologi yang penting bagi evaluasi antimikroba adalah nilai konsentrasi hambat minimum (KHM). Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui nilai KHM siprofloksasin terhadap *Escherichia coli* yang diisolasi dari usap kloaka broiler. Nilai KHM sangat berguna untuk mendapatkan praduga prevalensi resistansi siprofloksasin dan mendapatkan isolat kandidat *E. coli* yang digunakan untuk uji *mutant prevention concentration* (MPC) siprofloksasin terhadap *E. coli*. Sebanyak 159 isolat *E. coli* arsip Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan yang diisolasi dari usap kloaka broiler pada tahun 2019 diuji nilai KHM dan patogenitasnya. Isolat berasal dari usap kloaka broiler yang diambil dari 48 peternakan dari tujuh provinsi yaitu Jawa Barat, Jawa Timur, Jawa Tengah, Sumatera Utara, Lampung, Sulawesi Selatan, dan Banten. Uji nilai KHM dilakukan dengan metode *agar dilution* dan uji patogenitas dilakukan dengan menggunakan uji *Congo Red*. Isolat dinyatakan tidak peka atau resistan siprofloksasin apabila nilai KHMnya  $\geq 4$   $\mu\text{g/mL}$ . Adapun isolat *E. coli* dapat digunakan sebagai kandidat uji MPC jika nilai KHMnya  $< 4$   $\mu\text{g/mL}$  dan bersifat patogenik. Berdasarkan hasil uji didapatkan nilai KHM berkisar 0.25–32  $\mu\text{g/mL}$  dengan 94 isolat *E. coli* (59.12%) resistan terhadap siprofloksasin dan 41 isolat resistan patogenik (25.79%). Hasil uji juga mendapatkan 24 isolat *E. coli* patogenik yang dapat digunakan sebagai kandidat uji MPC dengan nilai KHM berkisar 0.25–2  $\mu\text{g/mL}$ . Data ini menunjukkan bahwa resistansi *E. coli* terhadap siprofloksasin adalah tinggi dan data KHM untuk menentukan kandidat isolat *E. coli* untuk uji MPC sangat penting.

Kata kunci : siprofloksasin, *Escherichia coli*, konsentrasi hambat minimum, resistan, *mutant prevention concentration*

### PENDAHULUAN

Resistensi antimikroba merupakan ancaman nyata bagi kesehatan manusia dan hewan. Hal ini disebabkan adanya peningkatan kematian akibat kegagalan pengobatan yang disebabkan infeksi bakteri multiresistan dan sulitnya ditemukan antimikroba baru. Badan Kesehatan Dunia (*World Health Organization/ WHO*) telah membuat klasifikasi antimikroba berdasarkan posisi pentingnya penggunaan antimikroba tersebut untuk manusia. Posisi tertinggi disebut *Highest Priority Critically Important Antimicrobials for Human Medicine*. Antimikroba yang masuk dalam *Highest Priority Critically Important Antimicrobials for Human Medicine* adalah sefalosporin (generasi ke-3, 4, dan 5), kuinolon, glikopeptid, makrolid, polimiksin, dan ketolide (WHO 2017).

Antimikroba golongan kuinolon terdiri dari asam nalidiksik, danofloksasin, ofloksasin, benofloksasin, siprofloksasin, enrofloksasin, enoksasin, norfloksasin, lomefloksasin, sparfloksasin, grepafloksasin, klinafloksasin, gatifloksasin, moksifloksasin, gemifloksasin, trovafloksasin, flumequin, asam oksolinik, dan

garenoksasin (Sárkózy 2001; Pham *et al.* 2019). Selain digunakan pada manusia, beberapa antimikroba golongan kuinolon juga digunakan di hewan produksi. Berdasarkan Indeks Obat Hewan Indonesia (DJPKH 2016) terdapat berbagai antimikroba golongan kuinolon yang telah mendapat ijin edar sebagai berikut: siprofloksasin (22 nama dagang), enrofloksasin (77 nama dagang), marbofloksasin (3 nama dagang), norfloksasin 19 (nama dagang), ofloksasin 2 (nama dagang), dan oksolinik (2 nama dagang). Enrofloksasin dan siprofloksasin merupakan golongan kuinolon yang paling banyak didaftarkan untuk digunakan di hewan produksi. Berbeda dengan siprofloksasin, enrofloksasin hanya digunakan di hewan. Adapun untuk siprofloksasin sangat banyak digunakan di manusia, akan tetapi di Indonesia juga diperbolehkan untuk digunakan di hewan produksi. Hal yang menarik dari kedua obat tersebut adalah siprofloksasin merupakan metabolit aktif dari enrofloksasin. Hal ini menimbulkan kekhawatiran bahwa penggunaan enrofloksasin akan menyebabkan peningkatan resistansi siprofloksasin. Inilah yang menyebabkan Amerika Serikat melarang penggunaan enrofloksasin di hewan produksi, meskipun hingga sekarang baru Amerika Serikat saja yang melarang penggunaan enrofloksasin (USFDA 2017).

*Escherichia coli* merupakan bakteri yang digunakan untuk pemantauan dan surveilans resistansi antimikroba (OIE, 2016). Selain itu, *E. coli* termasuk dalam tiga bahaya resistansi yang sangat penting bagi manusia selain resistansi malaria dan tuberkulosa (Grace 2015). Oleh sebab itu, sangat penting untuk menggunakan *E. coli* sebagai salah satu parameter mengetahui tingkat resistansi siprofloksasin.

Mengingat resistansi merupakan bahaya yang sangat serius bagi manusia, maka tiap antimikroba yang memiliki irisan penggunaan yang sama antara manusia dan hewan sebaiknya dilakukan penilaian risiko untuk melihat apakah antimikroba ini masih bisa atau sebaiknya dilarang digunakan terutama di hewan produksi. Dalam melakukan penilaian risiko resistansi berkenaan dengan penggunaan antimikroba salah satu parameter yang sangat penting adalah informasi mengenai konsentrasi hambat minimal (KHM). Data KHM sangat diperlukan dalam identifikasi bahaya. Nilai KHM juga merupakan dasar penilaian sensitivitas atau resistansi bakteri terhadap antimikroba. Selain itu, nilai KHM merupakan batas bawah dari *mutant selection windows* (MSW) yang sangat penting dalam penilaian pendedahan saat melakukan penilaian risiko resistansi. Batas atas dari MSW merupakan nilai *mutant prevention concentration* (MPC). Dalam mencari nilai MPC diperlukan bakteri yang peka dengan nilai KHM dibawah nilai batas resistansi suatu antimikroba (Blondeau 2009).

Penelitian ini bertujuan untuk melakukan evaluasi nilai KHM dari *E. coli* sehingga didapatkan data praduga prevalensi dari *E. coli* resistan siprofloksasin, mendapatkan nilai batas bawah MSW siprofloksasin, dan mendapatkan kandidat *E. coli* untuk uji MPC siprofloksasin.

## MATERI DAN METODE

Penelitian dilakukan pada bulan November 2019 hingga Januari 2020. Penelitian dilaksanakan di Unit Uji Farmasetik dan Premiks-Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan (BBPMSOH). Arsip isolat *E. coli* BBPMSOH sebanyak 159 diuji nilai KHMnya terhadap siprofloksasin dan diuji patogenezitasnya. Semua isolat tersebut diambil dari usap kloaka ayam broiler dari 48 kandang broiler dari 7 provinsi yang dilakukan pada tahun 2019.

Uji evaluasi nilai KHM siprofloksasin terhadap *E. coli* dilakukan menggunakan metode *agar dilution* (CLSI 2016). Uji patogenezitas *E. coli* dilakukan dengan menggunakan uji Congo Red (Berkhoff dan Vinal 1986). Media yang digunakan adalah agar Muller Hinton (MHA) (Difco/DB-FRA) yang mengandung standar siprofloksasin (Sigma-USA) dengan konsentrasi pengenceran kelipatan dua. Konsentrasi standar siprofloksasin dalam media MHA dari 0.25 µg/mL hingga 64 µg/mL. Sebagai isolat kontrol positif digunakan *E. coli* ATCC 25922 dan MHA tanpa standar digunakan sebagai kontrol media (CLSI 2016).

Isolat *E. coli* yang akan diuji ditanam di media *nutrient agar* (NA, DIFCO/DB-FRA) atau *heart infusion agar* (HIA, DIFCO/DB-FRA) dan dinkubasi pada suhu 35-37 °C selama 18 jam. Uji kepekaan dilakukan dengan mengambil 1-2 koloni *E. coli* yang tumbuh di NA atau HIA dan kemudian diinokulasi ke dalam *heart infusion broth* (HIB, DB/Difco-FRA). Media HIB yang telah diinokulasi kemudian diinkubasi selama 2-6 jam pada suhu 35-37 °C hingga kekeruhannya setara dengan standar McFarland 0.5%. *E. coli* dalam HIB kemudian diencerkan dengan menggunakan NaCl fisiologis steril dan diinokulasikan 1-2 µL atau setara 10<sup>4</sup> cfu ke media MHA yang telah mengandung siprofloksasin. Media MHA yang telah diinokulasi kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 35-37 °C. Isolat dinyatakan resistan terhadap siprofloksasin jika memiliki nilai KHM ≥ 4 µg/mL (CLSI 2016).

Uji patogenezitas dilakukan dengan menggunakan uji Congo Red. Isolat *E. coli* ditanam pada media Congo Red dan diinkubasikan pada suhu 37 °C selama 24 jam kemudian inkubasi kemudian dilanjutkan pada suhu kamar selama 48 jam. Isolat dinyatakan patogenik jika pada hari ketiga inkubasi, isolat menunjukkan warna merah. Uji KHM dan uji patogenezitas tiap isolat masing-masing diulang tiga kali. Isolat dinyatakan layak menjadi kandidat uji MPC jika memiliki nilai KHM < 4 µg/mL dan bersifat patogenik berdasarkan hasil uji Congo Red.

## HASIL

Hasil uji nilai KHM tersaji pada Tabel 1 dan didapatkan nilai KHM siprofloksasin terhadap *E. coli* berkisar 0.25 – 32 µg/mL. Sebanyak 94 isolat *E. coli* (59.12%) resistan terhadap siprofloksasin dengan memiliki nilai KHM dari 4-32 µg/mL. Berdasarkan hasil uji Congo Red, didapatkan 65 isolat *E. coli* yang

patogenik. Empat puluh satu isolat *E. coli* diantaranya (25.79%) resistan terhadap siprfloksasin sebagaimana tersaji dalam Tabel 2.

Tabel 1. Nilai konsentrasi hambat minimum siprofloksasin terhadap *E. coli* (159 isolat)

	Nilai Konsentrasi Hambat Minimum ( $\mu\text{g/mL}$ )							
	0.25	0.5	1	2	4*	8*	16*	32*
Jumlah isolat <i>E. coli</i>	11	41	5	8	29	22	31	12

Keterangan: \*Isolat dinyatakan resistan siprofloksasin

Tabel 2. Hasil uji patogenesis isolat *e. coli* per nilai konsentrasi hambat minimum siprofloksasin terhadap *E. coli* (159 isolat)

	Nilai Konsentrasi Hambat Minimum ( $\mu\text{g/mL}$ )															
	0.25		0.5		1		2		4*		8*		16*		32*	
	P	NP	P	NP	P	NP	P	NP	P	NP	P	NP	P	NP	P	NP
Jumlah isolat <i>E. coli</i>	5	6	16	25	2	3	1	7	12	17	8	14	17	14	4	8

Keterangan: \*Isolat dinyatakan resistan siprofloksasin; P = Patogenik; NP = Non Patogenik/komensial

## PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil uji, didapatkan angka praduga prevalensi *E. coli* resistan siprofloksasin yang menunjukkan prevalensi yang tinggi yaitu 59.12 %. Penilaian bahwa angka praduga prevalensi resistansi tinggi menggunakan referensi EMA (2018) yang menyatakan jika angka prevalensi resistansi > 20% adalah tinggi. Angka resistansi terhadap siprofloksasin di *E. coli* hasil usap kloaka yang tinggi juga ditunjukkan pada hasil pilot *project survei* resistansi antimikroba tahun 2017 Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan bersama Badan Pangan Dunia (DJPKH, 2019). Dalam *pilot project* tersebut didapatkan resistansi siprofloksasin dari 61 isolat *E. coli* yang diuji adalah 84%.

Berdasarkan uji patogenesis yang tersaji pada Tabel 2 menunjukkan bahwa sebanyak 40 isolat patogenik resistan siprfloksasin (25.79%) dan 53 isolat non patogenik resistan siprofloksasin (33.33%). Berdasarkan hasil patogenik resistan siprofloksasin menunjukkan angka prevalensi yang tinggi yaitu diatas 20%. Hal ini merupakan informasi yang sangat bagus untuk evaluasi apakah dengan prevalensi resistansi pada *E. coli* patogenik yang tinggi masih efektif menggunakan siprofloksasin sebagai terapi infeksi bakteri pada ayam broiler. Adapun angka resistansi siprofloksasin pada isolat non patogenik atau bakteri *E. coli* komensial juga tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa isolat *E. coli* komensial potensial sebagai reservoir gen resistan siprofloksasin. Gen resistan fluorokuinolon dalam hal ini siprofloksasin dapat disebarkan baik secara vertikal maupun horisontal.

Disitasi dari Hamed *et al.* (2018) resistansi fluorokuinolon utamanya disebabkan karena perubahan mutasi di enzim target melalui *stepwise mutations* di *quinolone resistance-determining regions* (QRDRs) dari berbagai gen DNA gyrase (*gyrA* dan *gyrB*) dan/atau gen topoisomerase IV (*parC* dan *parE*). Mekanisme mutasi lainnya dapat terjadi pada gen yang mengatur ekspresi dari protein membran luar atau *outer membrane proteins* (OMPs) dan pompa *efflux* (Hooper dan Jacoby 2016). Resistansi kuinolon yang dimediasi plasmid atau *plasmid-mediated quinolone resistance* (PMQRs) dengan tiga mekanisme kerja yaitu dimediasi oleh (1) *quinolone-resistance protein* (QNR), (2) melibatkan *mutant aminoglycoside-modifying enzyme* (*AAC(6')-Ib-cr*) yang mampu memodifikasi beberapa kuinolon dengan menambahkan grup asetil sehingga mengurangi kemampuan aktifitas antibakteri kuinolon, dan (3) mengaktifkan pompa *efflux* QepA dan *oqxAB* (Abornoz *et al.* 2017; Robicsek *et al.* 2006; Yamane *et al.* 2007; Kim *et al.* 2009).

Siprofloksasin dalam kesehatan hewan sering kali direkomendasikan untuk terapi infeksi saluran pernafasan, infeksi saluran pencernaan serta saluran urinaria yang disebabkan oleh *Campylobacter*, *E. coli*, *Haemophilus*, *Mycoplasma*, *Pasteurella* dan *Salmonella* species (DJPKH 2016; Khan *et al.* 2015). Penyakit-penyakit pada unggas biasanya muncul pada umur tiga hari hingga beberapa bulan. Rata-rata pada umur 3 minggu sangat rentan terhadap penyakit pernafasan dan umur 4-6 minggu sangat rentan terhadap saluran pencernaan (Khan *et al.* 2016). Penggunaan siprofloksasin pada hewan produksi harus benar-benar memperhatikan masa henti obat. Menurut Khan *et al.* (2015) waktu henti obat untuk produk obat hewan sesuai dengan *European health law and National Office of Animal Health* – Inggris, waktu henti obat tidak boleh kurang dari 28 hari. Adapun pada penelitian Khatun *et al.* (2018) menunjukkan bahwa pada 7 hari setelah pemberian siprofloksasin sesuai dosis (per oral) pada daging broiler masih ditemukan residu siprofloksasin 70 µg/kg sedangkan ambang aman siprofloksasin dalam daging adalah 30 µg/kg BB (Khatun *et al.* 2018). Mengacu pada European Union Codex batas minimum residu siprofloksasin dalam daging adalah 100 µg/kg (Meena *et al.* 2018). Batas residu bahan pangan asal hewan di Indonesia diatur dalam SNI 01-6366 2000: Batas Maksimum Cemaran Mikroba dan Batas Maksimum Residu Dalam Bahan Makanan Asal Hewan, akan tetapi dalam standar ini belum diatur dengan jelas mengenai batas residu siprofloksasin (BSN 2000).

Siprofloksasin menjadi penting karena adanya kasus resistansi kuinolon pada isolat *Salmonella* dan *E. coli* pada hewan (Lin *et al.* 2015; Palupi 2019;). Hal ini, menjadi perhatian kesehatan manusia karena kuinolon merupakan sedikit dari terapi yang tersedia untuk mengobati infeksi serius *Salmonella* dan *E. coli* pada manusia berkenaan dengan penyakit asal pangan atau produk hewan. Selain itu, siprofloksasin sangat penting dalam penanganan bioterorisme. Siprofloksasin merupakan pilihan terbaik untuk infeksi bakteri antraks setelah ditemukan peningkatan resistansi antraks terhadap doksisisiklin. Pemakaian siprofloksasin yang berlebihan pada hewan produksi tidak hanya berkenaan dengan resistansi

pada hewan produksi dan produknya, akan tetapi juga kontaminasi siprofloksasin pada lingkungan peternakan. Kontaminasi siprofloksasin dapat mempengaruhi dan mengganggu mikrob di tanah ataupun air. Hal ini disebabkan waktu degradasi siprofloksasin di tanah sangat lama dengan waktu paruh di tanah hingga 1155-3466 hari (Trauchon dan Lefebvre 2016).

Berkenaan dengan evaluasi KHM untuk mendapatkan kandidat *E. coli* untuk uji MPC, berdasarkan hasil uji sebagaimana Tabel 2 didapatkan 24 isolat *E. coli* patogenik yang dapat digunakan untuk kandidat uji MPC dengan nilai KHM berkisar 0.25-2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Informasi nilai KHM sangat diperlukan dalam penilaian risiko penggunaan antimikroba berkenaan dengan resistansi. Menurut Gebru *et al.* (2011) penggunaan antibiotik pada konsentrasi terapi menjadi salah satu penyebab berkembangnya resistansi. Konsentrasi terapi yang ditentukan berdasarkan nilai KHM dapat mengeliminasi atau menghambat perkembangan bakteri yang peka, akan tetapi, secara selektif memperbanyak bakteri mutan resistan (Gebru *et al.* 2011). Nilai KHM tetap sangat berguna dalam menentukan kepekaan antimikroba, akan tetapi nilai KHM tidak dapat digunakan untuk menentukan dinamik infeksi bakteri yang sebenarnya dalam densitas atau konsentrasi tinggi. Hal ini disebabkan karena penentuan nilai KHM dilakukan dengan inokula bakteri  $10^5$  cfu/mL jika dilakukan dengan uji metode *broth micro dilution*. Apabila nilai KHM ditentukan menggunakan metode *agar dilution* maka jumlah inokulasi adalah  $10^4$  cfu per titik. Konsentrasi inokula bakteri dalam uji KHM tersebut tidak dapat digunakan untuk mendeteksi perkembangan subpopulasi bakteri resistan dalam konsentrasi infeksi  $10^6$ - $10^8$  cfu atau lebih (Blondeau 2009; Hindler dan Humphries 2013).

Hipotesis MSW telah diperkenalkan sebagai salah satu strategi baru untuk menginvestigasi perkembangan resistansi antimikroba. Rentang nilai MSW adalah konsentrasi obat yang berada diantara nilai KHM dan nilai MPC. Dalam rentang konsentrasi MSW, pertumbuhan bakteri yang peka dihambat, akan tetapi pertumbuhan bakteri mutan tidak bisa dihambat atau yang dikenal sebagai mutasi *single step*. Mutasi *single step* adalah mutasi yang mampu mengurangi kepekaan sedemikian rupa sehingga pada dosis yang dapat diterima tidak dapat lagi mencegah pertumbuhan mutan (Drlica 2003).

MPC adalah konsentrasi obat yang diperlukan untuk mencegah munculnya semua mutasi *single step* pada populasi yang peka dari  $10^{10}$  cfu atau lebih dengan menggunakan metode *agar dilution* (Mouton *et al.* 2005). Nilai MPC digunakan sebagai perkiraan ukuran potensi antimikroba untuk memungkinkan seleksi resistan selama pengobatan pasien yang terinfeksi (Choi dan Ko 2014). Uji *in vitro* MPC hanya dapat dilakukan dengan menggunakan isolat atau koloni yang masih peka terhadap antimikroba yang akan diuji (Blondeau 2009).

Siprofloksasin merupakan antimikroba yang karakteristik farmakokinetik dan farmakodinamiknya dalam menentukan aktivitas antibakteri dan menghambat laju resistan menggunakan rasio *Area Under Curve* (AUC) dan KHM (Blondeau

2009; Khan *et al.* 2015). Berdasarkan hasil nilai KHM dari penelitian ini didapatkan batas bawah MSW siprofloksasin terhadap *E. coli* yaitu  $0.25 - 2 \mu\text{g}/\text{mL}$ . Berdasarkan penelitian Atta dan Sharif (1997) mengenai farmakokinetik siprofloksasin pada broiler dengan pemberian dosis  $5 \text{ mg}/\text{kg}$  BB secara per oral didapatkan konsentrasi maksimal ( $C_{\text{max}}$ ) siprofloksasin dalam plasma adalah  $4.67 \pm 0.33 \mu\text{g}/\text{mL}$  yang dicapai pada menit ke  $42.5 \pm 8.14$  setelah pemberian dan nilai AUC adalah  $55.51 \pm 7.3 \mu\text{g}/\text{mL}$ . Adapun pada penelitian farmakokinetik siprofloksasin pada broiler dengan pemberian secara intra vena dengan dosis  $50 \text{ mg}/\text{kg}$  berat badan yang dilakukan oleh Ambarwati (2014) didapatkan  $C_{\text{max}}$  dalam plasma adalah  $15.294 \pm 1.34 \mu\text{g}/\text{mL}$  yang dicapai 5 menit setelah pemberian dan nilai AUC  $2177.56 \mu\text{g}\cdot\text{menit}/\text{mL}$ . Berdasarkan dua penelitian farmakokinetik tersebut menunjukkan bahwa dengan dosis pemberian secara oral  $5 \text{ mg}/\text{kg}$  BB dan dosis intravena  $50 \text{ mg}/\text{kg}$  BB, baik  $C_{\text{maks}}$  dan AUC siprofloksasin dalam plasma broiler berada diatas ambang bawah MSW.

Hasil evaluasi pada penelitian ini menunjukkan data KHM sangat diperlukan untuk mengevaluasi keberlanjutan penggunaan suatu antimikroba. Berdasarkan data KHM kita bisa mendapatkan angka prevalensi resistansi, batas bawah MSW, dan evaluasi dosis yang digunakan. Mengingat pentingnya informasi mengenai prevalensi resistansi bakteri non patogenik dan patogenik dalam melakukan penilaian risiko antimikroba berkenaan dengan resistansi maka sangat disarankan untuk melakukan uji patogenesis sehingga bisa mengevaluasi risiko dengan baik dan mendapatkan data untuk evaluasi yang lebih lengkap. Dari data KHM dan patogenesis didapatkan kandidat *E. coli* yang tepat untuk dilakukan uji MPC sebagai data yang sangat penting dalam mengetahui rentang MSW berkenaan dengan *single step* mutan akibat pemberian siprofloksasin. Oleh sebab itu diperlukan pengujian lanjutan seperti uji MPC dengan menggunakan kandidat yang telah didapatkan dan uji deteksi gen siprofloksasin guna mendapatkan informasi yang lebih lengkap untuk referensi penilaian risiko penggunaan siprofloksasin terhadap resistansi *E. coli* pada broiler.

## KESIMPULAN DAN SARAN

Hasil evaluasi KHM menunjukkan praduga prevalensi *E. coli* resistan siprofloksasin dari broiler adalah tinggi (59.12%) dengan pradugaan prevalensi jumlah *E. coli* patogenik resistan kolistin adalah 25.79% dan *E. coli* komensal resistan siprofloksasin 33.33%. Hasil evaluasi KHM juga menunjukkan 24 kandidat isolat *E. coli* untuk uji MPC yang memiliki nilai KHM  $0.25 - 2 \mu\text{g}/\text{mL}$  yang sekaligus merupakan batas ambang bawah MSW. Mengingat siprofloksasin sangat penting bagi manusia, praduga prevalensi resistansi siprofloksasin yang tinggi, lamanya residu siprofloksasin terurai di lingkungan, dan masa henti obat untuk mencapai kadar residu siprofloksasin yang aman maka patut dipertimbangkan untuk mulai mengurangi penggunaan siprofloksasin atau hanya menggunakan siprofloksasin hanya pada kasus-kasus infeksi bakteri yang spesifik pada hewan produksi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Albornoz E, Tijet N, De Belder D, Gomez S, Martino F, Corso A, Melano RG, Petroni A. 2017. qnrE1, a member of a new family of plasmid-located quinolone resistance genes, originated from the chromosome of *Enterobacter* species. *Antimicrob Agents Chemother* (61)5:e02555-16. <https://doi.org/10.1128/AAC.02555-16>
- Ambarwati. 2014. Tesis: Studi Farmakokinetik Siprofloksasin Pada Plasma, hati, ginjal, dan otot pada briler menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT). Universitas Gadjah Mada
- Atta AH, Sharif L. 1997. Pharmacokinetics of ciprofloxacin following intravenous and oral administration in broiler chickens. *J vet Pharmacol Therap.* (20): 326-329
- Berkhoff HA, Vinal CA. 1986. Congo red medium to distinguish between invasive and non-invasive *Escherichia coli* pathogenic for poultry. *Avian Dis.* 30(1):117-131. <https://10.2307/1590621>
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. 2000. SNI 01-6366 2000: Batas maksimum cemaran mikroba dan batas maksimum residu dalam bahan makanan asal hewan. Jakarta (ID): Badan Standardisasi Nasional
- Blondeau JM. 2009. New concepts in antimicrobial susceptibility testing: the mutant prevention concentration and mutant selection window approach. *Vet Dermatol.* (20):383-396. [doi.org/10.1111/j.1365-3164.2009.00856.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-3164.2009.00856.x)
- Choi MJ, Ko KS. 2014. Mutant prevention concentration of colistin for *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae* Clinical Isolat. *J Antimicrob Chemother.* 69(1):275-277. [doi.org/10.1093/jac/dkt315](https://doi.org/10.1093/jac/dkt315)
- [CLSI] Clinical Laboratory Standards Institute. 2016. M100S: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing 26<sup>th</sup> Ed. CLSI. USA. pp: 52-54, 196
- Drlica K. 2003. The mutant selection window and antimicrobial resistance. *J Antimicrob Chemother.* August: 1-7. DOI: 10.1093/jac/dkg269
- [DJPKH] Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan. 2016. Indeks Obat Hewan Indonesia Ed. IX. Jakarta (ID): Kementerian Pertanian Republik Indonesia.
- [DJPKH] Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan. 2019. Surveilans resistensi antimikroba di sektor peternakan dan kesehatan hewan. Disampaikan oleh Direktorat Kesehatan Masyarakat Veteriner pada pertemuan pelarangan penggunaan kolistin pada tanggal 05 Desember 2019 di Kementerian Pertanian
- [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](http://www.ema.europa.eu/docs/en_gb/document_library/scientific_guideline/2018/07/WC500252679.pdf)

- Geburu E, Choi MJ, Lee SJ, Damte D, Park SC. 2011. Mutant prevention concentration and mechanism of resistance in clinical isolates and enrofloxacin/ marbofloxacin-selected mutants of *Escherichia coli* of canine origin. *J Med Microbiol.* 60(Pt10):1512-1522. doi:10.1099/JMM.0.028654-0
- Grace D. 2015. Review of evidence on antimicrobial resistance and animal agriculture in developing countries. International Livestock Research Institute (ILRI). [http://dx.doi.org/10.12774/eod\\_crjune2015.graced](http://dx.doi.org/10.12774/eod_crjune2015.graced). pp: 8-18
- Hamed SM, Walid F, Elkhatib WF, El-Mahallawy HA, Helmy MM, Ashour MS, Aboshanab KMA. 2018. Multiple mechanisms contributing to ciprofloxacin resistance among Gram negative bacteria causing infections to cancer patients. *Scientific Reports* (8):12268. DOI:10.1038/s41598-018-30756-4
- Hindler JA, Humphries RM. 2013. Colistin MIC variability by method contemporary clinical isolates of multidrug-resistant gram negative bacilli. *JCM.* 51(6):1676-1684. doi:10.1128/JCM.03385-12
- Hooper DC, Jacoby GA. 2016. Topoisomerase inhibitors: fluoroquinolone mechanisms of action and resistance. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine* 6. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025320>
- Khan GJ, Khan RA, Majeed I, Siddiqui FA, Khan S. 2015. Ciprofloxacin; the frequent use in poultry and its consequences on human health. *Professional Med J* 22(1):001-005.
- Khatun R, Howlader AJ, Ahmed S, Islam N, Alam K, Haider S, Mahmud MS, Hasan MA. 2018. Validation of the Declared Withdrawal Periods of Antibiotics. *Universal J of Public Health* 6(1): 14-22. DOI: 10.13189/ujph.2018.060103
- Kim HB, Wang M, Park CY, Kim EC, Jacoby GA, Hooper DC. 2009. oqxAB encoding a multidrug efflux pump in human clinical isolates of Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemotherapy* (53)8:582–3584. <https://doi.org/10.1128/AAC.01574-08>.
- Lin D, Chen K, Chan EWC, Chen S. 2015. Increasing prevalence of ciprofloxacin-resistant food borne *Salmonella* strains harboring multiple PMRQ elements but not target gene mutations. *Sci. Rep.* 5, 14754. doi: 10.1038/srep14754
- Meena NS, Sahni YP, Sharma RK, Sharma V, Shrivastava K, Jain S, Gautam V, Soman S, Talpade JP. 2018. Detection of ciprofloxacin in muscle, liver and kidney of broiler chicken. *J of Entomology and Zoology Studies* 6(4): 1124-1127
- Mouton RW, Dudley MN, Cars O, Derendorf H, Drusano GL. 2005. Standardization of pharmacokinetic/ pharmacodynamic (PK/PD) terminology for anti-infective drugs: an update. *J Antimicrob Chemother.* 55:601-607. doi: [10.1093/jac/dki079](https://doi.org/10.1093/jac/dki079)
- Palupi MF. 2019. Kajian Penilaian Risiko dan Mutant Prevention Concentration Kolistin Terhadap Resistansi *E. coli* Pada Broiler. Thesis. IPB
- Pham TDM, Ziora ZM, Blaskovich MAT. 2019. Quinolone Antibiotics. *MedChemComm* 2019: 1-59. Doi: 10.1039/C9MD00120D

- Robicsek A, Strahilevitz J, Jacoby GA, Macielag M, Abbanat D, Park CY, Bush K, Hooper DC. 2006. Fluoroquinolone-modifying enzyme: a new adaptation of a common aminoglycoside acetyltransferase. *Nature medicine* (12): 83–88. <https://doi.org/10.1038/nm1347>
- Trauchon T, Lefebvre S. 2016. A review of enrofloxacin for veterinary use. *OVJM*. 6: 40-58. [dx.doi.org/10.4236/ovjm.2016.62006](https://doi.org/10.4236/ovjm.2016.62006)
- [US FDA] United State America Food and Drug Administration. 2017. Withdrawal of Enrofloxacin for Poultry. Terdapat di <https://www.fda.gov/animal-veterinary/recalls-withdrawals/withdrawal-enrofloxacin-poultry> (diunduh 12 Maret 2020).
- [OIE] World Organization for Animal Health. 2016. Terrestrial Animal Health Code Ed. 25<sup>th</sup>. OIE. Paris, France. Chapter 6.7-6.8
- [WHO] World Health Organization. 2017. Critically important antimicrobials for human medicine – 5th rev. WHO. Switzerland. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. Pp:12-37
- Yamane K, Wachino J, Suzuki S, Kimura K, Shibata N, Kato H, Shibayama K, Konda T, Arakawa Y. 2007. New plasmid-mediated fluoroquinolone efflux pump, QepA, found in an *Escherichia coli* clinical isolate. *Antimicrob Agents Chemother* (51): 3354–3360. <https://doi.org/10.1128/AAC.00339-07>