

Deteksi Gen Penyandi Resistansi *blaTEM*, *blaSHV*, dan *blaCTXM* pada *Pseudomonas aeruginosa* Ayam Petelur di Kabupaten Cianjur, Jawa Barat

Detection of blaTEM, blaSHV, and blaCTXM Resistance Coding Genes in Pseudomonas aeruginosa Layer Chickens in Cianjur Regency, West Java

Safika^{2*}, Fauzan Arisandi¹, Fachriyan Hasmi Pasaribu², Yamin Yaddi³

¹Program Studi Mikrobiologi Medik, Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor
Jl. Agatis, Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680, Jawa Barat

²Divisi Mikrobiologi Medik Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor
Jl. Agatis, Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680, Jawa Barat

³Fakultas Peternakan Universitas Halu Oleo
Jl. H.E.A. Mokodompit, Kambu, Kendari 93232, Sulawesi Tenggara

*Email korespondensi: fikakhan@yahoo.com

(Diterima 03-09-2021; disetujui 04-12-2021)

ABSTRAK

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri oportunistik patogen yang mampu meninfeksi bagi hewan dan manusia. Resistansi terhadap banyak antibiotik memberikan tantangan yang cukup besar dalam pengobatan infeksi *Pseudomonas aeruginosa*. Penelitian ini bertujuan mendeteksi adanya resistansi antibiotik dan gen penyandi resistansi pada isolat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang diisolasi dari peternakan ayam petelur di Kabupaten Cianjur, Jawa Barat. Sampel diisolasi dan identifikasi sebanyak enam puluh enam melalui usap kloaka. Sampel yang dikoleksi dilakukan kultur pada media selektif (MacConkey agar), dilanjutkan dengan uji mikroskopik, uji biokimia, dan dikonfirmasi dengan secara molekuler dengan *polymerase chain reaction* (PCR). Sampel yang positif diuji kepekaan terhadap antibiotik menggunakan metode *Kirby-Bauer disk diffusion* dan mendeteksi gen penyandi resistansi. Hasil penelitian 8 sampel bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dilakukan uji kepekaan antibiotik menunjukkan tingkat resistansi terhadap golongan antibiotik beta laktam (ampisilin 75%) dan aminoglikosida (gentamisin 0%). Deteksi gen penyandi resistansi secara berturut-turut menunjukkan gen *blaTEM* (100%), *blaCTXM* (100%) terdeteksi, sedangkan gen *blaSHV* tidak terdeteksi pada isolat yang diuji. Perlunya dilakukan penelitian lanjutan untuk mendeteksi sampel dari lingkungan, tempat air minum, pakan maupun karyawan di peternakan tersebut. Sehingga memeberikan informasi dan kajian ilmiah untuk pengaturan regulasi penggunaan antibiotik di peternakan.

Kata Kunci: antibiotik, ayam petelur, gen resisten, *Pseudomonas aeruginosa*

ABSTRACT

Pseudomonas aeruginosa is a pathogenic opportunistic bacteria capable of infecting animals and humans. Resistance to many antibiotics presents considerable challenges in the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections. This study aims to detect the presence of antibiotic resistance and genes encoding resistance in isolates of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from laying hens in Cianjur Regency, West Java. Sixty-six samples were isolated and identified through cloacal swab. The collected samples were cultured on selective media (MacConkey agar), followed by microscopic tests, biochemical tests, and confirmed molecularly by polymerase chain reaction (PCR). Positive samples were tested for susceptibility to antibiotics using the Kirby-Bauer disk diffusion method and detected genes encoding resistance by PCR. The results of the study of 8 samples of *Pseudomonas aeruginosa* bacteria were tested for antibiotic sensitivity showing the level of resistance to beta-lactam antibiotics (ampicillin 75%) and aminoglycosides (gentamicin 0%). The detection of resistance coding genes, respectively, showed that *blaTEM* (100%), *blaCTXM* (100%) genes were detected, while the *blaSHV* gene was not detected in the tested isolates. Further research is needed to detect samples from the environment, drinking water, feed and employees on the farm. So that it provides information and scientific studies to regulate the regulation of the use of antibiotics in livestock.

Keywords: antibiotic, laying hens, *Pseudomonas aeruginosa*, resistant genes



PENDAHULUAN

Pseudomonas merupakan bakteri bersifat Gram-negatif, aerobik, motil, tidak membentuk spora dan oksidase positif. *Pseudomonas* dapat ditemukan di tanah, area lembab, tumbuhan, hewan dan air (Barnes. 2003). Bakteri termasuk gammaproteo bacteria famili *Pseudomonadaceae*. *Pseudomonas aeruginosa* tumbuh subur dikondisi lingkungan yang beragam dan memiliki kelangsungan hidup yang adaptif bahkan di lingkungan yang beracun. Bakteri dapat tumbuh di lingkungan yang sangat sederhana meskipun kondisi nutrisi sangat sedikit (Brenner et al., 2005). *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri oportunistik patogen yang mampu meninfeksi bagi hewan dan manusia. Bakteri ini juga salah satu penyebab terjadinya infeksi nosokomial pada manusia (Silby et al., 2011).

Pseudomonas aeruginosa adalah salah satu agen penyebab penyakit yang diperoleh dari lingkungan serta menyebabkan penyakit serius di peternakan unggas. Infeksi yang disebabkan oleh *Pseudomonas aeruginosa* memberikan tantangan yang cukup besar untuk dilakukan pengobatan, karena telah mengalami resistansi terhadap banyak antibiotik (Azam & Khan. 2019). Penggunaan antibiotik, selain untuk menekan kejadian penyakit, juga digunakan dalam aplikasi produksi seperti merangsang kemampuan memproduksi telur, pertumbuhan otot, dan lain-lain. Namun, penggunaan antimikroba yang tidak sesuai dengan aturan pakai dikhawatirkan dapat menimbulkan mikroba resistan melalui mekanisme genetik maupun non-genetik (Okonko et al., 2010).

Resistansi pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* terhadap antibiotik telah banyak dilaporkan. Menurut Badr et al. (2016) melaporkan antibiotik sudah resistan terhadap neomisin, asam nalidiksat, lincomycin, trimethoprim sulfamethoxazole, klorampenikol, tetrasiklin dan doksisisiklin (100%), namun masih sensitif terhadap levofloxacin (100%), norfloksasin (92.3%), ciprofloksasin (84.6%), colistin sulfat dan gentamisin (77%), serta streptomisin (61.5%). Elsayed et al. (2016) juga melaporkan tingkat resistansi terhadap antibiotik amoksisilin (100%), kotrimoksazol (90%), ceftriakson (80%), Ofloksasin (30%). Hassan et al. (2020) 140 isolat *P. aeruginosa* yang diisolasi dari daerah sekitar peternakan unggas dilaporkan resistan terhadap piperacillin-tazobactam (25%), colistin (22,1%), meropenem (16,4%), ticarcillin-clavulanate (31,4%), cefepime (46,4%), polymyxin (18,5%), gentamicin (10,7%) ciprofloksacin (20%).

Peningkatan kejadian resistansi antibiotik pada ayam petelur disebabkan karena penggunaan antibiotik yang terus menerus selama masa produktif, penggunaan antibiotik yang tidak tepat dan dosis yang tidak tepat. Hal ini dapat menyebabkan kegagalan dalam pengobatan. Bakteri yang telah resistan pada ayam petelur dapat bermigrasi kepada manusia melalui rantai makanan, lingkungan, serta kontak langsung antara hewan dan manusia. Tingginya kejadian resistansi terhadap antimikroba menjadi perhatian lembaga internasional seperti World Health Organization (WHO), Food and Agriculture Organization (FAO), dan World Organization for Animal Health (OIE) (Afunwa et al., 2020). Penelitian ini bertujuan mendeteksi resistansi antibiotik dan gen penyandinya pada isolat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang diisolasi dari peternakan ayam petelur di Kabupaten Cianjur, Jawa Barat.

MATERI DAN METODE

Sampel Penelitian

Sampel penelitian yang digunakan sebanyak 66 sampel dari usap kloaka ayam petelur yang diambil dari beberapa peternakan di daerah Kabupaten Cianjur, Jawa Barat. Sampel dikoleksi dalam *Phosphate Buffered Saline* (PBS) sebagai media transport kemudian disimpan dalam suhu 4°C.

Isolasi dan Identifikasi Bakteri

Sampel usap kloaka yang telah diambil kemudian dikultur dalam medium *Mac Conkey agar* (MCA). Sampel yang dikultur diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37 °C. Koloni tunggal yang diduga *Pseudomonas aeruginosa* kemudian dikultur kembali pada media *Tryptic Soya Agar* (TSA) dan dikonfirmasi dengan menggunakan pewarnaan Gram dan uji biokimia: uji oksidase, uji *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), uji *Sulfide Indol Motility* (SIM), uji urea, uji *Simmon's Citrate*, dan uji fermentasi karbohidrat (glukosa, laktosa, sukrosa, maltosa dan manitol).

Konfirmasi Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang teridentifikasi dilakukan ekstraksi DNA dengan metode pemanasan (*boiling*) (De Medici et al. 2003). Kemudian dilakukan deteksi keberadaan gen *PA-SS*. Deteksi gen *PA-SS* menggunakan primer *forward* 5'- GGG GGA TCT TCG GAC CTC A -3' dan *reverse* 5'- TCC TTA GAG TGC CCA CCC G-3' dengan panjang amplicon 956 bp (Spilker et al., 2004). Amplifikasi DNA

Pseudomonas sp dengan volume total reaksi 25 µl yang terdiri dari 4 µl *template*, 2 µl *primer reverse* (20 µM), 2 µl *primer forward* (20 µM), 12 µl *Mytaq™ HS Red Mix* (2×) dan ditambahkan ddH₂O hingga 25 µl. Proses PCR dilakukan dengan *Thermocycler GeneAmp® PCR System 9700*. Predenaturasi pada suhu 95°C selama 5 menit. Tahap amplifikasi DNA dengan 30 siklus, denaturasi 95°C selama 1 menit, *annealing* 50°C selama 30 detik, ekstensi 72°C selama 2 menit dan ekstensi akhir 72°C selama 8 menit. Visualisasi hasil PCR dilakukan dengan elektroforesis pada 1% *agarose* dalam Tris-Acetate-EDTA (TAE) *buffer* (1×). Pewarnaan menggunakan 1 µl *FloroSafe DNA Stain* (1st BASE). *Ladder* DNA 100 bp digunakan sebagai ukuran standar.

Uji Kepekaan terhadap Antibiotika

Uji kepekaan terhadap antibiotik mengikuti metode *Disk Diffusion Kirby-Bauer* menggunakan agar *Mueller-Hinton* berdasarkan *Clinical and Laboratory Standards Institute Guidelines* (CLSI, 2018). Antibiotik yang digunakan adalah ampicilin 10 µg, tetrasiklin 30 µg, oksitetrasiklin 30 µg, doksisisiklin 30 µg, gentamisin 10 µg, kloramfenikol 30 µg dan enrofloksasin 5 µg. Pengujian kepekaan terhadap antibiotik ini dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali dalam waktu bersamaan. Diameter zona hambat hasil uji kepekaan antibiotik mengikuti standar diameter

zona hambat yang ditentukan oleh CLSI (2018) pada Tabel 1.

Deteksi Gen Penyandi Resistansi Antibiotik

Isolat *Pseudomonas aeruginosa* yang ditemukan intermediet dan resistan selanjutnya dilakukan deteksi gen resistansi menggunakan primer gen target *blaSHV*, *blaTEM*, *blaCTXM* (ampisilin). Reaksi PCR untuk mendeteksi gen penyandi resistansi antibiotik menggunakan *Mytaq™ HS Red Mix* (Bioline). Volume total reaksi 25 µl yang terdiri dari 3 µl DNA *template*, 2 µl primer *reverse* (20 µM), 2 µl primer *forward* (20 µM), 12 µl *Mytaq™ HS Red Mix* (2×) dan ditambahkan ddH₂O hingga 25 µl. Proses amplifikasi diawali dengan predenaturasi pada suhu 95°C selama 3 menit, selanjutnya 30 siklus proses amplifikasi dengan suhu denaturasi 95°C selama 30 detik, *annealing* pada suhu 52-62°C sesuai dengan primer yang digunakan (Tabel 2), ekstensi pada suhu 72°C selama 1 menit dan pada akhir amplifikasi dilanjutkan dengan ekstensi akhir pada suhu 72°C selama 5 menit. Produk PCR yang diamplifikasi dipertahankan pada suhu 12°C. Sampel yang telah diamplifikasi selanjutnya divisualisasi dengan elektroforesis pada gel agarose 1% dalam Tris-Acetate-EDTA (TAE) *buffer* (1×) dan pewarnaan menggunakan 1 µl *FloroSafe DNA Strain* (1st BASE), DNA ladder yang digunakan adalah 100 bp sebagai ukuran standar.

Tabel 1. Standar Diameter Zona Hambat

Jenis Antibiotik	Dosis (µg)	Diameter zona hambat (mm)		
		*S	*I	*R
β-laktam				
Ampisilin (AMP)	10	≥ 17	14-16	≤ 13
Aminoglikosida				
Gentamisin (CN)	10	≥ 15	13-14	≤ 12

Keterangan: (S) *Susceptible*, (I): *Intermediete*, (R): *Resistance*

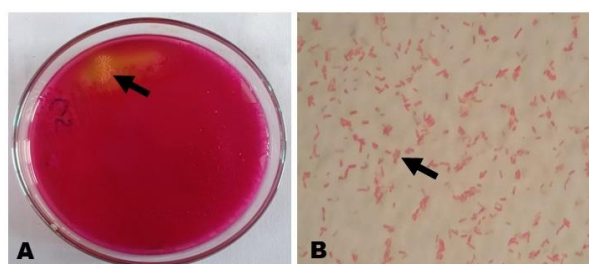
Tabel 2 Daftar Primer untuk Deteksi Gen Penyandi Resistansi Antibiotik

Antibiotik (Gen Resisten)	Sekuen Basa	Amplikon (bp)	Anneling (°C)	Refrensi
Ampisilin (<i>blaTEM^a</i>)	(F) 5'-ATC AGC AAT AAA CCA GC-3' (R) 5'-CCC CGA AGA ACG TTT TC-3'	516	54	Colom, et al. (2003)
Ampisilin (<i>blaSHV^b</i>)	(F) 5'-TCG CCT GTG TAT TAT CTC CC-3' (R) 5'-CGC AGA TAA ATC ACC ACA ATG-3'	768	52	Van, et al. (2008)
Ampisilin (<i>blaCTXM^a</i>)	(F) 5'-ATG ATG ACT CAG AGC ATT CG-3' (R) 5'-TGG GTT ACG ATT TTC GCC GC-3'	866	57	Colom et al. (2003)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan Identifikasi *Pseudomonas aeruginosa*

Koleksi sampel dari peternakan ayam petelur di kabupaten Cianjur didapatkan 66 sampel, kemudian dilanjutkan dengan kultur pada media *MacConkey Agar* (MCA). Hasil kultur pada media MCA menunjukkan 12 sampel (18,1%) yang diduga koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Koloni yang tumbuh berbentuk besar, tidak teratur, dan tidak memfermentasi laktosa (Gambar 1B). Selanjutnya dilakukan pewarnaan gram untuk melihat bentuk morfologi bakteri, secara mikroskopis menunjukkan berbentuk batang dan berwarna merah sebagai bakteri gram negatif (Gambar 1B).



Gambar 1. Koloni *Pseudomonas aeruginosa* pada media *MacConkey Agar* (A) dan Morfologi Sel *Pseudomonas aeruginosa* Perbesaran 1000× (B)

Koloni yang diduga bakteri *Pseudomonas aeruginosa* kemudian dikonfirmasi menggunakan uji biokimia. Hasil uji biokimia menunjukkan karakteristik sifat biokimia yaitu uji oksidase positif, dapat memfermentasi karbohidrat tetapi tidak terbentuknya H₂S dan gas, bersifat motil, uji sitrat positif, uji indol bersifat positif. Menurut Cowan and Steel's (2009) bakteri *Pseudomonas aeruginosa* menunjukkan hasil uji biokimia pada sitrat positif, oksidase positif, glukosa positif, sukrosa dan laktosa positif/negatif dan manitol positif/negatif. Berdasarkan karakteristik koloni

menunjukkan hasil yang konsisten untuk *Pseudomonas aeruginosa*.

Konfirmasi Isolat Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Menggunakan PCR

Identifikasi lebih lanjut dilakukan konfirmasi kembali dengan menggunakan *Polymerase Chain Reaction*. Isolat yang terkonfirmasi uji biokimia menunjukkan 8 dari 12 (66,7%) isolat positif terdeteksi memiliki gen *PA-SS* (Gambar 2). Hasil identifikasi isolat yang tidak terdeteksi terhadap Gen *PA-SS* diduga bakteri *non-Enterobacteriaceae* seperti *Alcaligenes sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Aeromonas sp.*, *Neisseria sp.* dan *Vibrio sp.* karena memiliki kemiripan uji bakteriologis dengan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (Cowan & Steel's. 2009). Menurut Krinogova et al. (2019) menyatakan mikroflora yang berada di kloaka unggas adalah *Enterococcus faecium*, *E.coli*, *Enterobacter spp.*, *Aspergillus spp.*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. Adebowale & Adeyemo (2018) juga menyebutkan hasil penelitiannya bahwa bakteri *non-Enterobacteriaceae* yang teridentifikasi pada ayam petelur adalah *Aeromonas hydrophila*, *Actinobacillus sp.*, *Burkholderia cepacia*, *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio mimicus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia pseudomallei*, *Acinetobacter iwoffii*, *Vibrio vulnificus* dan *Shewanella putrefaciens*.

Isolat yang menunjukkan hasil positif Gen *PA-SS* merupakan subunit 16S rRNA yang dirancang khusus untuk mengidentifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan panjang amplicon 956 bp. Menurut Spilker, et al. (2004) menyatakan bahwa gen *PA-SS* di rancang untuk mengidentifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan memiliki spesifisitas dan sensitivitas 100% terhadap target. Subunit 16S rRNA saat ini masih menjadi "gold standard" dalam menentukan filogenetik dari bakteri (Woese. 1987).



Gambar 2. Hasil Amplifikasi Gen *PA-SS* (956 bp) pada Isolat *Pseudomonas aeruginosa* dari Peternakan Ayam Petelur di Kabupaten Cianjur, Jawa Barat. M: marker; A6, B3, B5, B15, B17, C10, C11, C17: Kode Isolat Positif Gen *PA-SS*; B1, B9, B13, C12: Kode Isolat Negatif Gen *PA-SS*.

Uji Kepekaan Terhadap Antibiotik

Pengujian resistansi *Pseudomonas aeruginosa* terhadap antibiotik dengan metode *Disk Diffusion Kirby-Bauer* merupakan uji lanjut terhadap 8 sampel yang telah dikonfirmasi secara molekuler. Penentuan tingkat resistansi berdasarkan zona hambat antibiotik yang terbentuk pada media *Mueller-Hinton Agar* dengan merujuk pada CLSI (2018). Pemilihan antibiotik pada penelitian ini dilakukan melalui wawancara dengan peternak.

Hasil pengujian kepekaan antibiotik pada delapan isolat *Pseudomonas aeruginosa* menunjukkan tingkat resistansi terhadap antibiotik ampicilin 75% (5/8), gentamisin 0% (0/8) (Tabel 3). Peneliti di Itali juga melaporkan isolat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang berasal dari usap kloaka mengalami resistansi terhadap amoksisilin dan sulfamethoxazole-trimethoprim (76.3%), doksisisiklin (71.2%), enrofloksasin (78%), gentamisin (28.9%) dan oksitetrasiklin (81.3%) (Santaniello et al., 2020).

Peningkatan antibiotik resistan pada berbagai hewan ternak khususnya unggas menimbulkan tantangan yang lebih besar bagi kesehatan masyarakat, sehubungan dengan penularan residu antibiotik resistan dari peternakan ke peternakan maupun dari hewan ke manusia atau sebaliknya (Phillips et al., 2004). Karena keterbatasan jenis antibiotik yang digunakan untuk pengobatan hewan dan mudahnya peternak memperoleh antibiotik, serta rendahnya harga antibiotik mempersulit pengendalian penggunaan antibiotik di peternakan di Indonesia (Amalia &

Adisasmito, 2017). Menekan peningkatan lebih lanjut dalam kemunculan strain resisten baru perlu didorong kesadaran masyarakat, interaksi antara peternak-dokter hewan dan metode pengobatan alternatif serta tindakan pengendalian penyakit seperti vaksinasi. Tindakan tersebut akan memiliki manfaat jangka panjang dan efek ekonomi bagi kesehatan hewan, keamanan pangan dan kesehatan masyarakat (Ralte et al., 2019). Larangan penambahan antibiotik dalam pakan di Indonesia juga menjadi salah satu langkah alternatif dalam mengurangi residu antibiotik yang diatur dalam Permentan Nomor 14 Tahun 2017. Pola Penggunaan antibiotik di peternakan unggas pada umumnya dilakukan untuk terapi, mengendalikan, dan mencegah penyakit. Hampir 80% pada hewan penghasil protein menggunakan antibiotik (Obimakinde et al., 2017). Ditjen PKH (2019) melaporkan penggunaan antibiotik sebagai pencegahan penyakit sebesar (81.4%) dan penggunaan antibiotik sebagai pemicu pertumbuhan (0.3%). Penggunaan antibiotik yang tidak tepat dapat berdampak buruk untuk pengobatan manusia maupun hewan.

Deteksi Gen Penyandi Resistansi

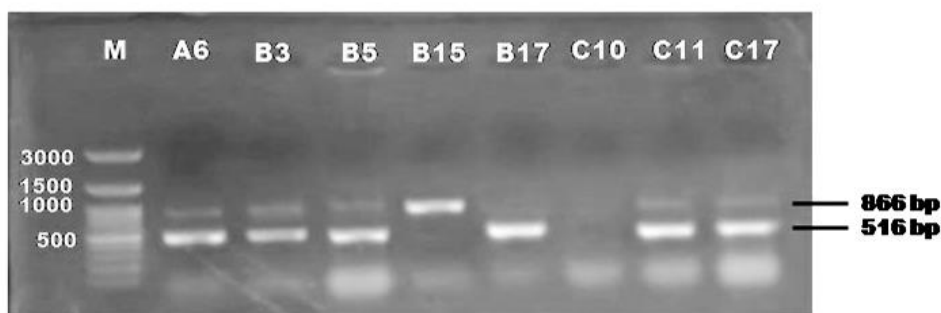
Isolat *Pseudomonas aeruginosa* yang menunjukkan hasil intermediet dan resistan terhadap uji kepekaan antibiotik dideteksi gen penyandi resistansi. Gen yang dideteksi adalah gen *blaTEM* (ampicilin), *blaSHV* (ampicilin), dan *blaCTXM* (ampicilin). Deteksi gen penyandi pada antibiotik gentamisin tidak dilakukan, karena persentase kejadian resistansinya tergolong rendah.

Tabel 3 Persentase Hasil Pengujian Kepekaan Antibiotik pada *Pseudomonas aeruginosa* (n = 8)

Jenis Antibiotik	Jumlah dan persentase sampel		
	Sensitif	Intermediet	Resisten
β -laktam			
Ampicilin (AMP)	2/8 (25%)	0/8 (0%)	6/8 (75%)
Aminoglikosida			
Gentamisin (CN)	7/8 (87,5%)	1/8 (12,5%)	0/8 (0%)

Tabel 4 Hasil Deketsi Gen Peyandi Resistan pada Isolat *Psedomonas aeruginosa*

Golongan Antibiotik	Gen target	Jumlah isolat resisten/ <i>Intermediate</i>	Isolat positif gen resistan	Persentase (%)
β -laktam	<i>blaTEM</i>	6	6	6/6 (100%)
	<i>blaSHV</i>	6	0	0/6 (0%)
	<i>blaCTXM</i>	6	6	6/6 (100%)



Gambar 3. Amplifikasi Gen *blaTEM* (516 bp), *blaSHV* (768 bp) dan *blaCTXM* (866 bp) Penyandi Resistansi pada Antibiotik Ampisilin. M: marker; A6, B1, B3, B5, B9, B13, B15, B17, C10, C11, C12, C17: kode isolat.

Hasil deteksi gen penyandi resistansi *extended-spectrum β -lactamase* (ESBL) terhadap antibiotik ampisilin yang mengalami intermediet dan resistan menunjukkan positif gen *blaTEM* 100% (6/6) dan gen *blaCTXM* 100% (6/6), namun semua isolat tidak terdeteksi yang menyandi gen resistan *blaSHV* 0% (0/6) (Tabel 4, Gambar 3). Hal ini memperlihatkan bahwa adanya aktivitas resistan terhadap gen penyandi ESBL. Chakraborty *et al.* (2020) menyatakan dalam penelitiannya bahwa gen penyandi resistansi *blaTEM* (72,7%) dan *blaCTXM* (9,09%) dapat ditemukan melalui usap kloaka di India, tetapi gen *blaSHV* tidak ditemukan. Peymani, *et al.* 2017 juga melaporkan isolat *Pseudomonas aeruginosa* berasal dari Iran yang dikoleksi memiliki gen penyandi resistansi ESBL sebesar (78,7%).

Penyebab terjadinya resistansi terhadap golongan beta laktam (ampisilin) pada bakteri Gram negatif, biasanya disebabkan oleh enzim *β -lactamase*. (Munita & Arias, 2016). ESBL mampu menghidrolisis antibiotik dan terletak pada plasmid yang membawa gen resistn terhadap antibiotik seperti aminoglikosida, trimetoprim, sulfonamid, tetrasiklin, dan kloramfenikol (Peterson & Bonomo, 2005). Gen penyandi enzim *β -lactamase* bermula dikromosom bakteri tetapi ditemukan juga di plasmid. Aktivitas gen berkaitan dengan transposon dan integron (Munita & Caesar, 2016). Kocsis & Szabo (2013) menyebutkan gen penyandi ESBL seperti gen *Temoniera* (TEM), *Sulphydryl variable* (SHV) dan *Cefotaximase-Munich* (CTXM) yang termasuk dalam kelas A ESBL paling sering ditemukan. Gen *blaTEM* dan *blaSHV* adalah tipe utama pada antibiotik golongan beta laktam. Namun gen *blaCTXM* lebih sering terjadi di beberapa negara (Bali *et al.* 2010). Keberadaan gen resistansi antibiotik yang terdeteksi menyebabkan bakteri memiliki sifat resisten. Hal ini ditandai dengan adanya gen yang terdeteksi pada isolat yang mengalami sifat intermediet pada uji kepekaan.

KESIMPULAN

Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang diperoleh melalui swab kloaka ayam petelur di Kabupaten Cianjur mengalami resistan terhadap antibiotik beta laktam (ampisilin 75%) dan aminoglikosida (gentamisin 0%). Dekteksi gen penyandi resistansi secara berturut-turut menunjukkan gen *blaTEM* (100%), *blaCTXM* (100%) terdeteksi, sedangkan gen *blaSHV* tidak terdeteksi pada isolat yang diuji. Perlunya dilakukan surveilans dan monitoring secara berkala untuk memastikan pemakaian antibiotik yang bijak, serta penelitian lanjutan untuk mendeteksi sampel dari lingkungan, tempat air minum, pakan maupun karyawan di peternakan tersebut. Sehingga memeberikan informasi dan kajian ilmiah untuk pengaturan regulasi penggunaan antibiotik di peternakan.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak adanya konflik kepentingan dalam penelitian ini baik dari segi keuangan, pribadi, orang atau organisasi yang terkait dengan materi dalam penelitian ini.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada peternak di Kabupaten Cianjur atas partisipasi untuk memberikan sampel pada penelitian ini. Penulis juga mengucapkan terimakasih kepada staf laboratorium Divisi Mikrobiologi Medik, Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor yang telah membantu dalam teknis penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

Adebowale, O., & O. Adeyemo. 2018. Characterization of bacterium types isolated from commercial laying hen farms in Ogun State

- Nigeria. Rev Elev Med Vet Pays Trop 71(3):137-141.
- Afunwa, R.A., J. Ezeanyinka, E.C. Afunwa, A.S. Udeh, N.A. Oli, & M. Unachukwu. 2020. Multiple antibiotic resistant index of gram-negative bacteria from bird droppings in two commercial poultries in Enugu, Nigeria. OJMM 10:171-181.
- Amalia, Z., & W. Adisasmito. 2017. Analysis of policy making factors on the prohibition of hormones and antibiotics use for feed as a public health protection. J IHPA 2(2):14-19.
- Azam, M.W. & U.A. Khan. 2019. Updates on the pathogenicity status of *Pseudomonas aeruginosa*. Drug Discov Today 24:350-9.
- Badr, H., H. Roshdy, A. El-Hafez, & E.M. Farghaly. 2016. Prevalence, pathogenicity and antibiogram sensitivity of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from diseased chickens. AVMJ 62(151):119-126.
- Barnes, H. J. 2003. Miscellaneous bacterial diseases. In: Diseases of poultry. 11th ed. Iowa State University Press. Ames. pp: 852-854.
- Bali, E.B., L. Acik, & N. Sultan. 2010. Phenotypic and molecular characterization of SHV, TEM, and CTX-M extended-spectrum β -lactamase produced by *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii* and *Klebsiella* isolates in a Turkish hospital. Afr J Microbiol Res 4(8):650-654.
- Chakraborty, S., T. K. Dutta, P. Roychoudhury, I. Samanta, Lalhruiipuii, S. Kalai, & S. Bandyopadhyay. 2020. Molecular characterization of biofilm Producing *Pseudomonas aeruginosa* isolated from healthy pigs and chicken in India. Indian J Anim Res. 54(11): 1400-1407.
- [CLSI] Clinical and Laboratory Standards Institute. 2018. Performance Standars for Antimicrobial Susceptibility Testing, Twentieth Informational Supplement: Supplement M100-S20, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pa, USA.
- Colom, K., J. Perez, R. Alonso, A. F. Aranguiz, E. Larino, & R. Cisterna. 2003. Simple and reliable multiplex PCR assay for detection of blaTEM, blaSHV and blaOXA-1 genes in Enterobacteriaceae. FEMS Microbiol Lett. 223:147-151. DOI: 10.1016/S0378-1097(03)00306-9.
- Cowan and Steel's. 2009. Manual for the Identification of Medical Bacteria. Third Edition. Cambridge University Press. Cambridge.
- De Medici, D., L. Croci, E. Delibato, S. Di Pasquale, E. Filetici, & L. Toti. 2003. Evaluation of DNA extraction methods for use in combination with SYBR Green I real-time PCR to detect *Salmonella enterica* serotype Enteritidis in poultry. J Appl Environ Microbiol 69:3456-3461.
- [Ditjen PKH] Direktorat Jenderal dan Kesehatan Hewan. 2019. Situasi Saat Ini dan Kebijakan Pemerintah tentang Antimicrobial Resistance (AMR) Di Sektor Peternakan dan Kesehatan Hewan. Disampaikan dalam Studium Generale AMR di Menara 165 Jakarta.
- Elsayed, M.S.A., A.M. Ammar, Z/S/ Al shehri, H. Abd-El Rahman, & N.A. Abd-El Rahman. 2016. Virulence repertoire of *Pseudomonas aeruginosa* from some poultry farms with detection of resistance to various antimicrobials and plant extracts. Cell Mol Biol 62:124.
- Hassan, W.H., A.M.K. Ibrahim, S.A.S Shany, & H.S.H. Salam. 2020. Virulence and resistance determinants in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from pericarditis in diseased broiler chickens in Egypt. J Adv Vet Anim Res. 7(3):452-463.
- Brenner D.J., N.R. Krieg, J.T. Staley, & G.M. Garrity. 2005. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2nd Edition, Vol. 2. Springer. New York.
- Krivosogova, A., A. Isaeva, O. Loretts, & A. Chentsova. 2019. Composition and antibiotic susceptibility of opportunistic pathogenic microflora in poultry farms aimed at egg or meat farming. Adv Intel Sys Res 167.
- Kocsis, B. & D. Szabo. 2013. Antibiotic Resistance Mechanisms in Enterobacteriaceae. In: A. Mendez-Vilas (Ed.). Microbial Pathogens and Strategies for Combating Them: Science, Technology and Education, Formatex Research Center. Badajoz. p: 251-257.
- Munita, J. M., & C. A. Arias. 2016. Mechanism of Antibiotic Resistance. Microbiol Spect 4(2):16.

- Obimakinde, S., O. Fatoki, B. Opeolu, & O. Olatunji. 2017. Veterinary pharmaceuticals in aqueous systems and associated effects: An update. *Environ Sci Pollut R* 24(4):3274-3297.
- Okonko, I.O., A.O. Nkang, E.A. Fajobi, O.K. Mejeha, A.O. Udeze, B.O. Motayo, A.A. Ogun, T.A. Ogunnusi, & T.A. Babalola. 2010. Incidence of multi-drug resistant (MDR) organisms in some poultry feeds solds in Calabar Metropolis, Nigeria. *EJEAFChe* 9(3):514-532.
- [Permentan] Peraturan Menteri Pertanian Replublik Indonesia. 2017. Klasifikasi Obat Hewan. <http://perundangan.pertanian.go.id/admin/file/Permentan%2014-2017%20Klasifikasi%20Obat%20Hewan.pdf>. [9 Maret 2021].
- Phillips, I., M. Casewell, T. Cox, B.D. Groot, C. Friis, R. Jones, C. Nightingale, R. Preston, & J. Waddell. 2004. Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data. *J Antimicrob Chemoth* 53: 28-52.
- Peymani, A., T. Naserpour-Farivar, E. Zare, & K.H. Azarhoosh. 2017. Distribution of *blaTEM*, *blaSHV*, and *blaCTX-M* genes among ESBL-producing *P. aeruginosa* isolated from Qazvin and Tehran hospitals, Iran. *J Prev Med Hyg* 58(2): E155.
- Ralte, R., V. Kumar, M.Y. Wani, S.N.S. Randhawa, A. Malik, & N. Kaur. 2019. Antimicrobial resistance profile of livestock and poultry of North-Western Punjab. *Int J Curr Microbiol App Sci* 8(10): 1250-1259. DOI: 10.20546/ijemas.2019.810.147.
- Santaniello, A., L. Varriale, L. Dipineto, T.P. Russo, L. Borrelli, V. Romano, S. D'Orazio, A. Pace, L.F. Menna, & A. Fioretti. 2020. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* from companion birds. *Antibiotics* 9:780. DOI: 10.3390/antibiotics9110780.
- Silby, M.W., C. Winstanley, S. A. Godfrey, S. B. Levy, R. W. Jackson. 2011. *Pseudomonas* genomes: diverse and adaptable. *FEMS Microbiol Rev* 35:652-80.
- Spilker, T., T. Coenye, P. Vandamme, & J.J. LiPuma. 2004. PCR-Based assay for differentiation of *Pseudomonas aeruginosa* from other *Pseudomonas* species recovered from cystic fibrosis patients. *J Clin Microbiol* 42(5):2074-207. DOI: 10.1128/JCM.42.5.2074-2079.
- Van, T.T.H., C. James, C. Toni, T.T. Linh, & J.C. Peter. 2008. Safety of raw meat and shellfish in Vietnam: an analysis of *Escherichia coli* isolations for antibiotic resistance and virulence genes. *Int J Food Microbiol* 24:217-223.
- Woese, C. R. 1987. Bacterial evolution. *Microbiol Rev* 51(2):221-271.