

Profil resistensi antibiotik *Escherichia coli* dari peternakan ayam di Bantul, Yogyakarta

Endah Retno Wulandari¹, Sutan Nur Chamida Tri Astuti¹, Afifah Nurul Falih¹,
Oktira Roka Aji^{1*}

¹Prodi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Terapan Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta

*Corresponding author: Jl. Ahmad Yani (Ringroad Selatan) Bantul, D. I. Yogyakarta, Indonesia. 55166

E-mail addresses: oktira.aji@bio.uad.ac.id

Kata kunci

Escherichia coli
Gen *uspA*
Kirby-Bauer
Peternakan ayam
Resistensi antibiotik

Keywords

Escherichia coli
uspA gene
Kirby-Bauer
Chicken farming
Antibiotic resistance

Diajukan: 29 Mei 2025

Ditinjau: 30 Mei 2025

Diterima: 15 Juni 2025

Diterbitkan: 30 Juni 2025

Cara Sitasi:

E. R. Wulandari, S. N. C. T. Astuti,
A. N. Falih, O. R. Aji, "Profil
resistensi antibiotik *Escherichia coli*
dari peternakan ayam di Bantul,
Yogyakarta", *Filogeni: Jurnal*
Mahasiswa Biologi, vol. 5, no. 2, pp.
98-106, 2025.

Abstrak

Resistensi antibiotik merupakan isu kesehatan penting yang berkaitan dengan penyebaran bakteri resisten dari peternakan ayam ke lingkungan. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi *Escherichia coli* dari peternakan ayam serta menentukan profil kepekaan antibiotiknya. Sampel diambil dari peternakan ayam di Bantul, Yogyakarta. Penelitian diawali dengan isolasi bakteri *E. coli*, diikuti pewarnaan Gram serta identifikasi molekuler dengan gen *uspA*. Uji sensitivitas antibiotik dilakukan menggunakan metode Kirby-Bauer terhadap antibiotik ampicilin, tetrasiklin dan kloramfenikol. Hasil menunjukkan bahwa 4 dari 8 isolat (A2, A4, B2, B3) merupakan positif bakteri *E. coli*, ditandai dengan koloni hijau metalik pada EMBA dan pita DNA sepanjang 884 bp pada hasil elektroforesis gen *uspA*. Uji resistensi menunjukkan seluruh isolat resisten terhadap ampicilin (100%), sedangkan terhadap tetrasiklin dan kloramfenikol menunjukkan hasil yang lebih rendah (50%). Temuan ini mengindikasikan adanya potensi penyebaran bakteri resisten dari peternakan ayam sehingga diperlukan pengawasan penggunaan antibiotik dan pemantauan resistensi secara berkala.

Abstract

Antibiotic resistance is an important public health issue related to the spread of resistant bacteria from poultry farms to the environment. This study aimed to isolate and identify *Escherichia coli* from poultry farms and to determine its antibiotic susceptibility profile. Samples were collected from poultry farms in Bantul, Yogyakarta. The study conducted with the isolation of *E. coli*, followed by Gram staining and molecular identification using the *uspA* gene. Antibiotic sensitivity testing was conducted using the Kirby-Bauer method against ampicillin, tetracycline, and chloramphenicol. Results showed that 4 out of 8 samples (A2, A4, B2, B3) were identified as *E. coli*, indicated by green metallic colonies on EMBA and a DNA band of 884 bp in *uspA* gene electrophoresis. Resistance testing revealed that all isolates were resistant to ampicillin (100%), while resistance to tetracycline and chloramphenicol was lower (50%). These findings indicate the potential for the spread of resistant bacteria from the poultry farm, so regular monitoring of antibiotic use and resistance monitoring is needed.

Copyright © 2025. The authors. This is an open access article under the CC BY-SA license

1. Pendahuluan

Antibiotik merupakan senyawa yang digunakan untuk menghambat atau membunuh bakteri penyebab infeksi [1]. Resistensi antibiotik merupakan ancaman serius bagi kesehatan masyarakat global, ditandai dengan menurunnya efektivitas antibiotik dalam mengatasi infeksi bakteri [2]. Penggunaan antibiotik yang tidak rasional, berlebihan, atau dalam jangka waktu panjang dapat menyebabkan bakteri mengembangkan mekanisme resistensi [3]. Kondisi ini terjadi ketika bakteri mengembangkan mekanisme untuk bertahan terhadap pengaruh antibiotik, sehingga pengobatan standar menjadi tidak efektif, infeksi lebih sulit dikendalikan, dan risiko kematian meningkat [4]. WHO memperkirakan bahwa resistensi antimikroba menyebabkan sekitar 700.000 kematian setiap tahun [5]. Tidak hanya terbatas pada kesehatan manusia, penggunaan antibiotik dalam sektor peternakan juga turut menyumbang terhadap perkembangan resistensi [6]. Praktik pemberian antibiotik pada hewan ternak, khususnya unggas, dilakukan tidak hanya untuk mengobati penyakit, tetapi juga untuk pencegahan infeksi dan sebagai *promotant* pertumbuhan [7]. Dalam sistem peternakan intensif, seperti pada peternakan ayam broiler, antibiotik kerap diberikan secara massal melalui pakan atau air minum tanpa dosis yang tepat, sehingga memperbesar kemungkinan seleksi dan proliferasi bakteri resisten [8]. Bakteri resisten yang muncul di lingkungan peternakan dapat menyebar ke manusia melalui berbagai jalur, seperti kontak langsung dengan hewan ternak, konsumsi produk hewan yang terkontaminasi, maupun melalui media lingkungan seperti air dan tanah [9].

Salah satu bakteri yang sering dijadikan indikator dalam studi resistensi antibiotik adalah *Escherichia coli*, yang secara alami hidup di saluran pencernaan hewan dan manusia [10]. Meskipun sebagian besar strain *E. coli* bersifat komensal, beberapa strain patogen dapat menyebabkan penyakit serius. Keberadaan *E. coli* yang resisten terhadap berbagai jenis antibiotik di peternakan merupakan indikasi kuat adanya tekanan seleksi akibat penggunaan antibiotik dan berpotensi menjadi sumber penyebaran resistensi di lingkungan [11]. Jika *E. coli* pada unggas resisten terhadap antibiotik, infeksi menjadi sulit diobati sehingga meningkatkan risiko kematian unggas, penularan ke manusia, dan penyebaran resistensi antimikroba di lingkungan. Berbagai studi terdahulu telah menunjukkan tingginya prevalensi resistensi antimikroba pada *E. coli* yang diisolasi dari lingkungan peternakan unggas dan produk turunannya di berbagai negara. Penelitian di Ghana mengungkapkan bahwa isolat *E. coli* dari ayam mentah dan feses unggas menunjukkan resistensi tinggi terhadap tetrasiklin [12]. Dukungan terhadap temuan ini diperkuat oleh studi di Nepal yang melaporkan bahwa 91,6% isolat *E. coli* dari ayam broiler dan *breeder* membawa gen resistensi seperti *blaTEM*, *mcr1*, *sul1*, dan *tetB*, dengan resistensi tertinggi terhadap ampicilin (99,4%) [13]. Di Indonesia, 62% isolat dari swab kloaka ayam di Blitar resisten terhadap ampicilin [14]. Tingginya angka resistensi ini menunjukkan perlunya pemantauan resistensi antimikroba di berbagai daerah. Profil resistensi *E. coli* penting diteliti karena bakteri ini dapat bertindak sebagai indikator untuk mengukur dampak penggunaan antibiotik di lingkungan, termasuk peternakan [15].

Saat ini belum banyak studi yang mengkaji profil resistensi *E. coli* di wilayah Bantul, Yogyakarta. Wilayah Bantul dipilih sebagai lokasi pengambilan sampel karena merupakan salah satu sentra peternakan ayam di Yogyakarta yang memiliki aktivitas budidaya unggas intensif. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi secara molekuler bakteri *E. coli* dari peternakan ayam di Bantul, Yogyakarta, serta menentukan profil kepekaan isolat terhadap antibiotik ampicilin, tetrasiklin, dan kloramfenikol. Isolasi cepat *E. coli* dari sampel umumnya digunakan media spesifik seperti *Eosin-Methylene Blue* (EMB) agar [16]. Dalam penelitian ini digunakan media EMB agar

untuk isolasi bakteri *E. coli* dan dilanjutkan dengan deteksi secara molekuler menggunakan gen penanda spesifik bakteri *E. coli* yaitu gen *uspA*. Gen *uspA* dipilih karena gen ini berperan penting dalam kelangsungan hidup, adhesi, dan motilitas sel *E. coli*, serta telah banyak digunakan secara luas sebagai *marker* molekuler untuk konfirmasi keberadaan *E. coli* [17]. Penelitian ini dilakukan untuk melengkapi data resistensi *E. coli* di wilayah yang belum banyak dilaporkan, serta membandingkan hasilnya dengan tren resistensi di daerah lain maupun negara lain yang telah diteliti sebelumnya.

2. Metode Penelitian

Instrumentasi. Penelitian ini menggunakan berbagai alat dan bahan untuk pengambilan sampel hingga uji resistensi antibiotik. Alat-alat yang digunakan meliputi timbangan digital, *vortex*, timbangan analitik, inkubator, *microwave*, oven, UV transilluminator, *minicentrifuge*, PCR, alat elektroforesis, autoklaf, mikroskop, kamera, mikropipet dan lain-lain. Bahan-bahan yang digunakan meliputi media *Escherichia coli* Broth (ECB), *Eosin Methylen Blue Agar* (EMBA), *Nutrient Agar* (NA), *Nutrient Broth* (NB), *Mueller Hinton Agar* (MHA), NaCl 0,85%, kertas cakram antibiotik (ampisilin, tetrasiklin, kloramfenikol), kristal violet, iodin, safranin, minyak imersi, primer *uspA*, DreamTaq Green PCR Master Mix, agarose, ddH₂O, TAE 0,5X, DNA ladder, staining gel, alkohol 70%, spirtus, akuades, kaca objek, kaca penutup, kapas, dan tisu.

Pengambilan sampel. Sampel feses ayam diambil dari dua peternakan di Kabupaten Bantul, Yogyakarta, dengan masing-masing peternakan diambil dari sisi timur, barat, selatan dan utara. Izin secara lisan dilakukan sebelum pengambilan sampel kepada pemilik/manajer peternakan. Sampel kemudian dibawa ke laboratorium untuk dianalisis.

Isolasi sampel. Isolasi bakteri *E. coli* dilakukan dengan memasukkan 1 gram sampel feses ke dalam tabung reaksi berisi 9 ml media ECB steril, kemudian diinkubasi pada suhu 44°C selama 24 jam. Selanjutnya, 1 ml kultur dari tabung tersebut dipindahkan ke tabung reaksi ECB lain yang berisi tabung Durham terbalik dan diinkubasi kembali selama 24 jam pada suhu 44°C. Tabung yang menunjukkan kekeruhan dan adanya gelembung dianggap positif mengandung *E. coli* [18]. Kultur tersebut kemudian diinokulasikan ke media EMBA menggunakan metode *four-way streak* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Koloni yang tumbuh berwarna hijau metalik menunjukkan adanya *E. coli*. Koloni ini kemudian diambil menggunakan ose steril dan diinokulasikan ke media NA miring secara aseptis untuk membuat kultur stok, yang kemudian disimpan pada inkubator dengan suhu 37°C. Pewarnaan gram dilakukan pada semua isolat untuk mengamati morfologi sel dibawah mikroskop.

Identifikasi isolat. Identifikasi isolat dilakukan dengan didasarkan pada deteksi gen *uspA* yang merupakan gen penanda spesifik bakteri *E. coli* [19]. Pertama, bakteri ditumbuhkan pada media NB selama 16–18 jam pada suhu 37°C, kemudian kultur disentrifugasi secara aseptis dan pelet bakteri dilarutkan dalam 100 µl ddH₂O dan divortex. DNA genom hasil preparasi tersebut kemudian diamplifikasi menggunakan metode PCR dengan primer gen *uspA* yaitu (primer forward 5'-CCGATACGCTGCCAATCAGT-3' dan primer reverse 5'-ACGCAGACCGTAAGGGCCAGAT-3') dan DreamTaq Green PCR Master Mix. Reaksi PCR dilakukan dalam volume total 12,5 µl, yang terdiri atas 4,5 µl ddH₂O, 0,5 µl primer *uspA* (forward), 0,5 µl primer *uspA* (reverse), 6 µl DreamTaq Green PCR Master Mix, dan 1 µl DNA template. Seluruh komponen dicampurkan dalam tabung PCR dan dijalankan dalam mesin termal siklus. Siklus PCR terdiri dari denaturasi awal pada 95°C selama 2 menit, diikuti 30 siklus denaturasi pada 94°C selama 30 detik, annealing pada 58°C selama 1 menit, ekstensi pada 72°C selama 1 menit, dan ekstensi akhir pada 72°C

selama 5 menit. Hasil amplifikasi divisualisasikan melalui elektroforesis agarose 1,5% dan keberadaan gen *uspA* sebesar 884 bp memastikan isolat bakteri sebagai *E. coli*. Kontrol positif digunakan bakteri *E. coli* ATCC 25922 dan kontrol negatif adalah *No Template Control* (NTC).

Uji resistensi antibiotik. Pengujian resistensi bakteri terhadap antibiotik dilakukan dengan metode *Kirby-Bauer*. Kultur bakteri disamakan kekeruhannya dengan standar McFarland 0,5 (sekitar $1,5 \times 10^8$ CFU/mL), kemudian suspensi bakteri disebarakan merata di atas media MHA menggunakan swab steril. Kertas cakram antibiotik ampicilin, tetrasiklin, kloramfenikol dan disk kontrol diletakkan merata di atas media dan ditekan dengan pinset agar menempel dengan baik. Media kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dalam posisi terbalik. Setelah inkubasi, zona hambat diukur dan dianalisis berdasarkan kriteria *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI) untuk menentukan sensitivitas bakteri terhadap antibiotik.

Analisis data. Data yang diperoleh dari pengujian resistensi bakteri *E. coli* terhadap antibiotik dianalisis secara deskriptif dan kuantitatif. Pengukuran dilakukan terhadap diameter zona hambat pada media MHA untuk masing-masing antibiotik (ampicilin, tetrasiklin, dan kloramfenikol). Interpretasi hasil resistensi dilakukan berdasarkan standar CLSI, yang mengelompokkan isolat ke dalam kategori: Sensitif (S), Intermediet (I), dan Resistensi (R). Selanjutnya, data disajikan dalam bentuk tabel untuk menunjukkan resistensi terhadap masing-masing antibiotik.

3. Hasil dan Pembahasan

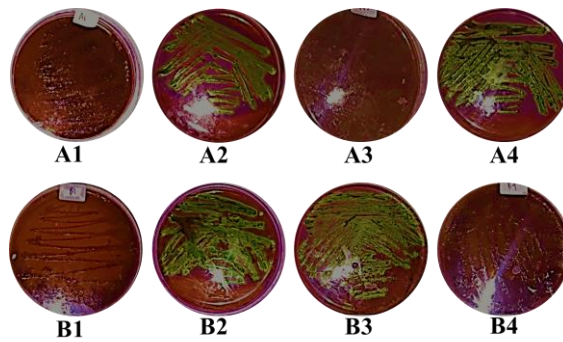
3.1 Hasil Penelitian

Sebanyak delapan sampel diambil dan dilakukan isolasi bakteri untuk menumbuhkan *E. coli*. Pertumbuhan bakteri positif di media ECB ditandai dengan keruhnya larutan, yang selanjutnya dikonfirmasi dengan munculnya gas pada tabung durham terbalik. Setelah inkubasi pada suhu 44°C selama 24 jam, pembentukan gas dan keruh pada tabung menandakan adanya *E. coli*. Semua sampel menunjukkan hasil positif pada tabung Durham. Pada media EMBA sampel A2, A4, B2, dan B3 menghasilkan koloni berwarna hijau metalik khas *E. coli*, sementara sampel A1, A3, B1, dan B4 menunjukkan koloni tidak berwarna yang menandakan hasil negatif (Tabel 1 dan Gambar 1).

Tabel 1. Hasil pengujian pada isolat yang diduga *E. coli*

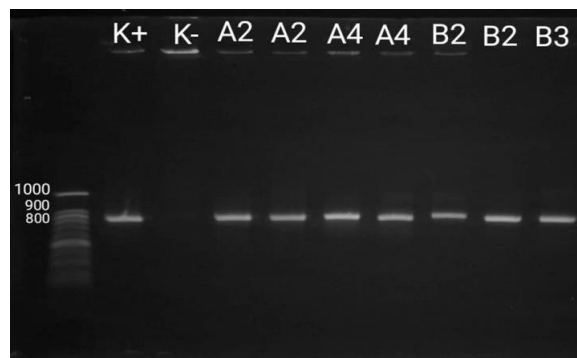
Kode Sampel	Pertumbuhan pada media EMBA	Pewarnaan Gram
A2	Positif (hijau metalik)	Basil, gram negatif
A4	Positif (hijau metalik)	Basil, gram negatif
B2	Positif (hijau metalik)	Basil, gram negatif
B3	Positif (hijau metalik)	Basil, gram negatif

Pengamatan morfologi sel dilakukan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000x dan pewarnaan Gram menggunakan kristal violet, iodine, dan safranin. Tabel 1. menunjukkan bahwa sampel A2, A4, B2, dan B3 memiliki morfologi bakteri berbentuk batang (basil) berwarna merah (Gram negatif).



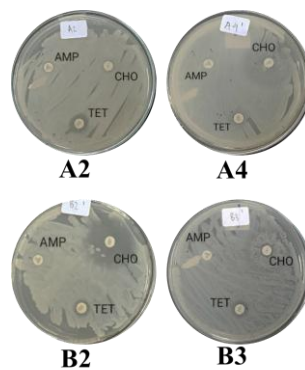
Gambar 1. Hasil pertumbuhan koloni isolat bakteri pada media EMBA yang diinkubasi pada suhu 36°C selama 24 jam

Identifikasi lebih lanjut dilakukan menggunakan teknik PCR dengan primer gen *uspA*. Pada Gambar 2 menunjukkan pita DNA dengan panjang amplicon 884 bp pada semua sampel (A2, A4, B2, B3), sesuai dengan ukuran target gen *uspA* pada *E. coli*.



Gambar 2. Hasil UV Transiluminator gen *uspA* (~884 bp). Kontrol positif digunakan bakteri *E. coli* ATCC 25922 dan kontrol negatif adalah *No Template Control* (NTC). Marker digunakan 1kb DNA Ladder pada gel agarosa 1,5%

Uji sensitivitas antibiotik dilakukan menggunakan metode difusi cakram dengan dua kali pengulangan. Hasil pengujian ditampilkan pada Gambar 3 dan Tabel 2. Pengukuran zona hambat terhadap antibiotik ampicilin menunjukkan bahwa seluruh isolat (A2, A4, B2, dan B3) tidak membentuk zona hambat, yang mengindikasikan resistensi 100% terhadap antibiotik tersebut.



Gambar 3. Hasil uji resistensi antibiotik pada isolat A2, A4, B2 dan B3. Antibiotik ampicilin (AMP), tetrasiklin (TET), dan kloramfenikol (CHO)

Tabel 2. Diameter zona hambat berbagai jenis antibiotik terhadap isolat *E. coli*

No	Antibiotik	Diameter Zona Hambat (mm)				Persentase Resistensi
		A2	A4	B2	B3	
1	Ampisilin	0 (R)	0 (R)	0 (R)	0 (R)	100%
2	Kloramfenikol	0 (R)	29 (S)	29 (S)	9,5 (R)	50%
3	Tetrasiklin	12 (I)	5 (R)	10 (R)	12 (I)	50%

Keterangan: R = Resisten; I = Intermediet; S = Sensitif

3.2 Pembahasan

Pada penelitian ini terdapat 8 sampel yang dianalisis dan 4 sampel menunjukkan hasil yang positif pada media EMBA. EMBA digunakan untuk identifikasi *E. coli* karena media ini mengandung laktosa sebagai sumber fermentasi dan pewarna Eosin Y serta Methylene Blue yang berfungsi sebagai indikator pH dan agen selektif (menghambat bakteri Gram positif). *E. coli* yang merupakan fermenter laktosa kuat akan menghasilkan asam dalam jumlah tinggi, menurunkan pH dan menyebabkan pewarna menempel pada koloni sehingga membentuk kilau hijau metalik yang khas [20], [21]. Sampel positif kemudian diuji pewarnaan Gram untuk konfirmasi mikroskopis.

E. coli merupakan jenis bakteri yang memiliki morfologi basil (batang) dan merupakan Gram negatif [22]. Warna merah safranin diperoleh karena bakteri Gram negatif kehilangan pewarna kristal violet setelah perlakuan alkohol dan kemudian menyerap safranin. Perbedaan warna ini terkait dengan struktur dinding sel pada *E. coli* yang merupakan bakteri Gram negatif, dimana memiliki lapisan peptidoglikan yang lebih tipis [23]. Dengan demikian, berdasarkan karakter morfologi sel diperoleh 4 isolat yang diduga kuat *E. coli*.

Data pengamatan morfologi sel bakteri diperkuat dengan identifikasi lebih lanjut menggunakan teknik PCR dengan primer gen *uspA*. Hasil yang diperoleh menunjukkan adanya pita DNA berukuran sekitar 884 bp menandakan bahwa sampel positif mengandung *E. coli*. Gen *uspA* berfungsi sebagai penanda genetik yang spesifik dalam identifikasi *E. coli* [24]. Gen ini mengkode protein stres universal yang diekspresikan saat bakteri mengalami kondisi lingkungan yang tidak optimal, seperti rendahnya kadar nutrisi atau perubahan suhu ekstrem [25]. Ekspresi protein ini mencerminkan adaptasi fisiologis *E. coli* terhadap tekanan lingkungan. Penggunaan gen *uspA* juga telah berhasil diterapkan dalam penelitian sebelumnya, yang berhasil mengidentifikasi *E. coli* dari perternakan ayam di Sukabumi, Indonesia, dengan hasil amplifikasi gen *uspA* pada amplicon sepanjang 884 bp sebagai konfirmasi keberadaan *E. coli* [25].

Hasil positif untuk 4 sampel positif *E. coli* selanjutnya dilakukan uji sensitivitas terhadap 3 jenis antibiotik yaitu ampisilin, kloramfenikol, dan tetrasiklin. Ampisilin merupakan antibiotik kelas β -laktam. Seiring dengan penggunaan kelas antibiotik β -laktam yang luas, terjadi peningkatan kolonisasi saluran pencernaan oleh bakteri penghasil extended-spectrum β -laktamase (ESBL) di peternakan unggas komersial maupun pada manusia [26]. Resistensi terhadap ampisilin pada *E. coli* umum terjadi karena produksi enzim β -laktamase yang mampu menghidrolisis cincin β -laktam pada antibiotik tersebut [27]. Studi yang dilakukan terhadap isolat *E. coli* dari usap kloaka ayam pedaging sehat menunjukkan bahwa resistensi terhadap ampisilin mencapai 100%, serupa dengan temuan dalam penelitian ini [28].

Uji resistensi antibiotik kloramfenikol pada penelitian ini menunjukkan dua isolat (A2 dan B3) bersifat resisten. Hal ini menunjukkan bahwa dibandingkan antibiotik ampisilin, resistensi isolat terhadap kloramfenikol lebih rendah (50%). Antibiotik

kloramfenikol bekerja dengan menghambat sintesis protein bakteri, tetapi resistensi dapat timbul melalui mekanisme asetilasi oleh enzim kloramfenikol asetiltransferase atau melalui sistem efluks [29]. Tren yang sama juga dilaporkan dari penelitian lain diantaranya yaitu dari Spanyol [30], Cina [31], dan Bangladesh [32] yang melaporkan resistensi isolat bakteri *E. coli* dari unggas terhadap kloramfenikol lebih rendah khususnya dibandingkan dengan resistensi terhadap ampicilin.

Pada antibiotik tetrasiklin, dua isolat (A4 dan B2) juga menunjukkan resistensi (50%). Resistensi terhadap tetrasiklin umumnya terjadi akibat ekspresi protein efluks atau protein yang melindungi ribosom bakteri dari ikatan tetrasiklin [33]. Selain itu, gen-gen resisten seperti *tetA* dan *tetB* telah banyak diidentifikasi pada isolat *E. coli* dari unggas [34]. Hasil penelitian ini sejalan dengan beberapa studi sebelumnya yang menunjukkan bahwa isolat *E. coli* dari unggas menunjukkan tingkat resistensi yang tinggi terhadap tetrasiklin [35]. Temuan ini menunjukkan bahwa isolat *E. coli* dari peternakan ayam di Bantul memiliki tingkat resistensi yang cukup tinggi terhadap antibiotik ampicilin, kloramfenikol, dan tetrasiklin. Pola resistensi ini mencerminkan kemungkinan adanya tekanan seleksi akibat penggunaan antibiotik di sektor peternakan. Pemantauan resistensi antimikroba secara berkala dan penerapan prinsip penggunaan antibiotik yang bijak diperlukan untuk mencegah penyebaran lebih lanjut ke lingkungan, hewan lain, maupun manusia.

4. Kesimpulan

Penelitian ini menunjukkan bahwa profil resistensi antibiotik dari isolat *E. coli* dari peternakan ayam di Bantul, Yogyakarta menunjukkan persentase resistensi terhadap ampicilin (100%), sedangkan resistensi terhadap tetrasiklin dan kloramfenikol lebih rendah (50%). Temuan ini mengindikasikan adanya potensi penyebaran bakteri resisten antibiotik di peternakan yang dapat berdampak terhadap lingkungan.

Daftar Pustaka

- [1] D. F. Pancu, A. Scurtu, I. G. Macasoi, D. Marti, M. Mioc, C. Soica, D. Coricovac, D. Horhat, M. Poenaru, and C. Dehelean, "Antibiotics: Conventional therapy and natural compounds with antibacterial activity—A pharmaco-toxicological screening," *Antibiotics*, vol. 10, no. 4, pp. 1-35, 2021, doi: 10.3390/antibiotics10040401.
- [2] M. A. Salam, M. Y. Al-Amin, M. T. Salam, J. S. Pawar, N. Akhter, A. A. Rabaan, and M. A. A. Alqumber, "Antimicrobial resistance: A growing serious threat for global public health," *Healthcare*, vol. 11, no. 13, pp. 1-20, 2023, doi: 10.3390/healthcare11131946.
- [3] M. J. Hossain, N. Jabin, F. Ahmmed, A. Sultana, S. M. Abdur Rahman, and M. R. Islam, "Irrational use of antibiotics and factors associated with antibiotic resistance: Findings from a cross-sectional study in Bangladesh," *Health Sci Rep*, vol. 6, no. 8, pp. 1-11, 2023, doi: 10.1002/hsr2.1465.
- [4] G. Muteeb, M. T. Rehman, M. Shahwan, and M. Aatif, "Origin of antibiotics and antibiotic resistance, and their impacts on drug development: A narrative review," *Pharmaceuticals*, vol. 16, no. 11, pp. 1-54, 2023, doi: 10.3390/ph16111615.
- [5] G. Mancuso, A. Midiri, E. Gerace, and C. Biondo, "Bacterial antibiotic resistance: The most critical pathogens," *Pathogens*, vol. 10, no. 10, pp. 1-14, 2021, doi: 10.3390/pathogens10101310.
- [6] C. Manyi-Loh, S. Mamphweli, E. Meyer, and A. Okoh, "Antibiotic use in agriculture and its consequential resistance in environmental sources: Potential public health implications," *Molecules*, vol. 23, no. 4, pp. 1-48, 2018, doi: 10.3390/molecules23040795.
- [7] G. Sharma, T. K. Dey, R. A. Hazarika, B. R. Shome, R. Shome, V. P. Singh, R. P. Deka, D. Grace, and J. F. Lindahl, "Knowledge and practices related to antibiotics among poultry producers and veterinarians in two Indian states," *One Health*, vol. 18, pp. 1-8, 2024, doi: 10.1016/j.onehlt.2024.100700.
- [8] M. D. Mund, U. H. Khan, U. Tahir, B.-E.- Mustafa, and A. Fayyaz, "Antimicrobial drug residues in poultry products and implications on public health: A review," *Int J Food Prop*, vol. 20, no. 7, pp. 1433–1446, 2017, doi: 10.1080/10942912.2016.1212874.

- [9] S. Pandey, H. Doo, G. B. Keum, E. S. Kim, J. Kwak, S. Ryu, Y. Choi, J. Kang, S. Kim, N. R. Lee, K. K. Oh, J.-H. Lee, and H. B. Kim, "Antibiotic resistance in livestock, environment and humans: One Health perspective," *J Anim Sci Technol*, vol. 66, no. 2, pp. 266–278, 2024, doi: 10.5187/jast.2023.e129.
- [10] S. Akter, A. M. M. A. Chowdhury, and S. A. Mina, "Antibiotic resistance and plasmid profiling of *Escherichia coli* isolated from human sewage samples," *Microbiol Insights*, vol. 14, pp. 1–6, 2021, doi: 10.1177/11786361211016808.
- [11] C. Xu, L. Kong, Y. Liao, Y. Tian, Q. Wu, H. Liu, and X. Wang, "Mini-review: Antibiotic-resistant *Escherichia coli* from farm animal-associated sources," *Antibiotics*, vol. 11, no. 11, pp. 1–17, 2022, doi: 10.3390/antibiotics11111535.
- [12] G. I. Mensah, V. Y. Adjei, E. K. Vicar, P. S. Atsu, D. L. Blavo, S. A. M. Johnson, and K. K. Addo, "Safety of retailed poultry: analysis of antibiotic resistance in *Escherichia coli* from raw chicken and poultry fecal matter from selected farms and retail outlets in Accra, Ghana," *Microbiol Insights*, vol. 15, pp. 1–5, 2022, doi: 10.1177/11786361221093278.
- [13] R. K. Bhattarai, H. B. Basnet, I. P. Dhakal, and B. Devkota, "Antimicrobial resistance of avian pathogenic *Escherichia coli* isolated from broiler, layer, and breeder chickens," *Vet World*, vol. 17, no. 2, pp. 480–499, 2024, doi: 10.14202/vetworld.2024.480-499.
- [14] A. M. Witaningrum, F. J. Wibisono, D. A. Permatasari, W. Tyasningsih, M. H. Effendi, F. Kurniawan, "Potential hazards of antibiotics resistance on *Escherichia coli* isolated from cloacal swab in several layer poultry farms, Blitar, Indonesia," *Indian Journal of Public Health Research & Development*, vol. 11, no. 3, pp. 2378–2384, 2020, doi: 10.37506/ijphrd.v11i3.2764.
- [15] M. F. Anjum, H. Schmitt, S. Börjesson, and T. U. Berendonk, "The potential of using *E. coli* as an indicator for the surveillance of antimicrobial resistance (AMR) in the environment," *Curr Opin Microbiol*, vol. 64, pp. 152–158, 2021, doi: 10.1016/j.mib.2021.09.011.
- [16] M. Manafi, "Fluorogenic and chromogenic enzyme substrates in culture media and identification tests," *Int J Food Microbiol*, vol. 31, no. 1–3, pp. 45–58, 1996, doi: 10.1016/0168-1605(96)00963-4.
- [17] K. Grakh, D. Mittal, A. Prakash, and N. Jindal, "Characterization and antimicrobial susceptibility of biofilm-producing avian pathogenic *Escherichia coli* from broiler chickens and their environment in India," *Vet Res Commun*, vol. 46, no. 2, pp. 537–548, 2022, doi: 10.1007/s11259-021-09881-5.
- [18] N. Cheeptham and A. Lal, "Use of EC-MUG media to confirm *Escherichia coli* contamination in water samples protocol," Accessed: Jun. 14, 2025. [Online]. Available: <https://asm.org/protocols/use-of-ec-mug-media-to-confirm-escherichia-coli-co>.
- [19] J. Chen and M. W. Griffiths, "PCR differentiation of *Escherichia coli* from other Gram-negative bacteria using primers derived from the nucleotide sequences flanking the gene encoding the universal stress protein," *Lett Appl Microbiol*, vol. 27, no. 6, pp. 369–371, 1998, doi: 10.1046/j.1472-765X.1998.00445.x.
- [20] M. Basavaraju and B. S. Gunashree, "*Escherichia coli*: An overview of main characteristics," in *Escherichia coli - Old and New Insights*, IntechOpen, 2023, doi: 10.5772/intechopen.105508.
- [21] E. S. Alifia and O. R. Aji, "Analisis keberadaan coliform dan *Escherichia coli* pada es batu dari jajanan minuman di Pasar Tengah Bandar Lampung," *Quagga: Jurnal Pendidikan dan Biologi*, vol. 13, no. 1, pp. 74–81, 2020, doi: 10.25134/quagga.v13i1.3698.
- [22] A. R. Tuttle, N. D. Trahan, and M. S. Son, "Growth and maintenance of *Escherichia coli* laboratory strains," *Curr Protoc*, vol. 1, no. 1, pp. 1–13, 2021, doi: 10.1002/cpz1.20.
- [23] M. Madigan, W. Sattley, J. Aiyer, D. Stahl, and D. Buckley, *Brock Biology of Microorganisms*, Global Edition. Deutschland: Pearson, 2021.
- [24] K. Grakh, D. Mittal, A. Prakash, R. Kumar, and N. Jindal, "uspA gene-based phylogenetic analysis and antigenic epitope prediction for *Escherichia coli* strains of avian origin," *Front Vet Sci*, vol. 10, pp. 1–11, 2023, doi: 10.3389/fvets.2023.1183048.
- [25] A. Hardiati, S. Safika, I. Wibawan, A. Indrawati, and F. Pasaribu, "Isolation and detection of antibiotics resistance genes of *Escherichia coli* from broiler farms in Sukabumi, Indonesia," *J Adv Vet Anim Res*, vol. 8, no. 1, p. 1, 2021, doi: 10.5455/javar.2021.h489.
- [26] J. Ribeiro, V. Silva, A. Monteiro, M. Vieira-Pinto, G. Igrejas, F. S. Reis, L. Barros, and P. Poeta, "Antibiotic resistance among gastrointestinal bacteria in broilers: A review focused on *Enterococcus* spp. and *Escherichia coli*," *Animals*, vol. 13, no. 8, pp. 1–29, 2023, doi: 10.3390/ani13081362.
- [27] H.-J. Song, D. C. Moon, A. F. Mechesso, H. Y. Kang, M. H. Kim, J.-H. Choi, S.-J. Kim, S.-S. Yoon, and S.-K. Lim, "Resistance profiling and molecular characterization of extended-spectrum/plasmid-mediated AmpC β -lactamase-producing *Escherichia coli* Isolated from healthy broiler chickens in South Korea," *Microorganisms*, vol. 8, no. 9, pp. 1–19, 2020, doi: 10.3390/microorganisms8091434.

- [28] M. Sarker, M. Mannan, M. Ali, M. Bayzid, A. Ahad, and Z. Bupasha, "Antibiotic resistance of *Escherichia coli* isolated from broilers sold at live bird markets in Chattogram, Bangladesh," *J Adv Vet Anim Res*, vol. 6, no. 3, pp. 272-277, 2019, doi: 10.5455/javar.2019.f344.
- [29] S. Schwarz, C. Kehrenberg, B. Doublet, and A. Cloeckaert, "Molecular basis of bacterial resistance to chloramphenicol and florfenicol," *FEMS Microbiol Rev*, vol. 28, no. 5, pp. 519-542, 2004, doi: 10.1016/j.femsre.2004.04.001.
- [30] B. García-Béjar, I. García de Blas Martín, M. Arévalo-Villena, and A. Briones Pérez, "High prevalence of antibiotic-resistant *Escherichia coli* isolates from retail poultry products in Spain," *Animals*, vol. 11, no. 11, pp. 1-15, 2021, doi: 10.3390/ani11113197.
- [31] H-X. Jiang, D-H. Lü, Z-L. Chen, X-M. Wang, J-R. Chen, Y-H. Liu, X-P. Liao, J-H. Liu, Z-L. Zeng, "High prevalence and widespread distribution of multi-resistant *Escherichia coli* isolates in pigs and poultry in China," *The Veterinary Journal*, vol. 187, no. 1, pp. 99-103, 2011, doi: 10.1016/j.tvjl.2009.10.017.
- [32] M. M. Rahman, A. Husna, H. A. Elshabrawy, J. Alam, N. Y. Runa, A. T. M. Badruzzaman, N. A. Banu, M. A. Mamun, B. Paul, S. Das, M. M. Rahman, A. T. M. M. E. Elahi, A. S. Khairalla, and H. M. Ashour, "Isolation and molecular characterization of multidrug-resistant *Escherichia coli* from chicken meat," *Sci Rep*, vol. 10, no. 1, pp. 1-11, 2020, doi: 10.1038/s41598-020-78367-2.
- [33] W. Li, G. C. Atkinson, N. S. Thakor, U. I. Allas, C-C. Lu, K-Y. Chan, T. Tenson, K. Schulten, K. S. Wilson, V. Hauryliuk, and J. Frank, "Mechanism of tetracycline resistance by ribosomal protection protein Tet(O)," *Nat Commun*, vol. 4, no. 1, pp. 1-8, 2013, doi: 10.1038/ncomms2470.
- [34] M. Jahantigh, K. Samadi, R. E. Dizaji, and S. Salari, "Antimicrobial resistance and prevalence of tetracycline resistance genes in *Escherichia coli* isolated from lesions of colibacillosis in broiler chickens in Sistan, Iran," *BMC Vet Res*, vol. 16, no. 1, pp. 1-6, 2020, doi: 10.1186/s12917-020-02488-z.
- [35] G. S. Alam, M. M. Hassan, M. Ahaduzzaman, C. Nath, P. Dutta, H. Khanom, S. A. Khan, M. R. Pasha, A. Islam, R. S. Magalhaes, and R. Cobbald, "Molecular detection of tetracycline-resistant genes in multi-drug-resistant *Escherichia coli* Isolated from Broiler Meat in Bangladesh," *Antibiotics*, vol. 12, no. 2, pp. 1-12, 2023, doi: 10.3390/antibiotics12020418.