

KARAKTERISASI DAN POLA RESISTANSI *Gallibacterium* *anatis* ASAL PETERNAKAN AYAM DI JAWA BARAT

ALYA AMALIAH



**PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIS HEWAN
PEMINATAN MIKROBIOLOGI MEDIK
SEKOLAH KEDOKTERAN HEWAN DAN BIOMEDIS
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2024**



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

PERNYATAAN MENGENAI TESIS DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis berjudul “Karakterisasi dan Pola Resistansi *Gallibacterium anatis* Asal Peternakan Ayam di Jawa Barat” adalah karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir tesis ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Agustus 2024

Alya Amaliah
B3501221009

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



RINGKASAN

ALYA AMALIAH. Karakterisasi dan Pola Resistansi *Gallibacterium anatis* Asal Peternakan Ayam di Jawa Barat. Dibimbing oleh AGUSTIN INDRAWATI, NI LUH PUTU IKA MAYASARI, dan RYAN SEPTA KURNIA.

Bakteri *Gallibacterium anatis* merupakan salah satu bakteri yang dapat menyebabkan penurunan produksi telur dan gangguan pernafasan pada unggas. Kejadian resistansi terhadap antibiotik banyak ditemukan pada penanganan bakteri ini. Di Indonesia, keberadaan bakteri *G. anatis* belum pernah dilaporkan. Tujuan penelitian ini adalah untuk melihat karakteristik molekuler serta kejadian resistansi antibiotik isolat *G. anatis* yang berasal dari peternakan ayam di Jawa Barat.

Total 23 sampel berhasil dikumpulkan yang berasal dari peternakan ayam layer, broiler, dan breeder. Sampel diuji dengan melakukan isolasi pada media blood agar kemudian dilanjutkan dengan pewarnaan Gram dan uji biokimia. Bakteri yang diduga sebagai bakteri *G. anatis* secara fenotipik kemudian dikonfirmasi menggunakan pengujian PCR konvensional dengan gen target 16S-23S rRNA dan dilanjutkan dengan pengujian sekuensing dengan metode sanger sequencing. Sampel yang terkonfirmasi sebagai *G. anatis* kemudian dilakukan identifikasi gen penyandi faktor virulen menggunakan PCR dan pengujian resistansi antibiotik menggunakan metode minimum inhibitory concentrations (MIC). Isolat kemudian dilanjutkan dengan deteksi gen penyandi resistansi pada isolat yang menunjukkan sifat resistansi.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa sebanyak 17 dari 23 sampel positif secara fenotipik yang diduga sebagai isolat *G. anatis*. Pengujian molekuler mengonfirmasi bahwa sebanyak 14 dari 17 isolat (73,9%) sebagai *G. anatis*. Adapun pengujian sekuensing mengonfirmasi bahwa semua isolat yang diujikan menunjukkan kemiripan >98,65% terhadap bakteri referensi *G. anatis* yang ada di GenBank. Deteksi gen penyandi faktor virulen yang dilakukan pada penelitian ini yaitu *gyrB* (100%), *gtxA* (93,3%), dan *flaA* (71,4%). Profil resistansi yang dilakukan pada empat golongan antibiotik menunjukkan bahwa kejadian resistansi terdapat pada golongan tetrasiklin, kuinolon, dan β -laktam. Kejadian resistansi tertinggi ditemukan pada antibiotik tetrasiklin, siprofloksasin, dan levofloksasin pada tingkat resistansi 100%. Adapun pada antibiotik amikasin, gentamisin, tigesiklin, imipenem, tobramisin, dan piperacillin menunjukkan tidak adanya isolat yang mengalami resistansi (0%). Deteksi gen resistansi pada isolat ditemukan gen *gyrA* (100%), *tet(B)* (92,85%), *bla_{SHV}* (87,5%), dan *qnrA* (85,71%). Adapun pada gen *tet(H)*, *tet(A)*, *ampC*, dan *bla_{ROB}* tidak ditemukan isolat yang positif terhadap gen ini.

Kesimpulan pada penelitian ini yaitu keberadaan *G. anatis* dapat dideteksi secara fenotipik dan genotipik di Indonesia, serta keberadaan bakteri ini menunjukkan tingkat resistansi yang tinggi antibiotik tetrasiklin, siprofloksasin, levofloksasin, dan penisilin dengan keberadaan gen resistansi yang beragam.

Kata Kunci : *Gallibacterium anatis*, gen resistansi, karakterisasi fenotipik, PCR, resistansi antibiotik

SUMMARY

ALYA AMALIAH. Characterization and Patterns of Resistance of *Gallibacterium anatis* in Poultry at West Jawa. Supervised by AGUSTIN INDRAWATI, NI LUH PUTU IKA MAYASARI, and RYAN SEPTA KURNIA.

Gallibacterium anatis causes decreased egg production and respiratory disorders in poultry. Antibiotic resistance is frequently observed during treatment with *G. anatis* infection. In Indonesia, the presence of *G. anatis* has not been previously reported. This study aimed to examine the molecular characteristics and antibiotic resistance of *G. anatis* isolates from chicken farms in West Java.

A total of 23 samples were successfully collected from layer, broiler, and breeder chicken farms. The samples were tested by isolation on blood agar media, followed by Gram staining and biochemical tests. Bacteria suspected to be *G. anatis* based on phenotypic characteristics were then confirmed using conventional PCR testing with the 16S-23S rRNA target gene, followed by sequencing using the Sanger sequencing method. Samples confirmed as *G. anatis* underwent further identification of virulence factor-encoding genes by PCR, and antibiotic resistance testing was conducted using the *minimum inhibitory concentration* (MIC) method. Subsequently, resistance genes were detected in isolates showing resistance traits.

The results of this study showed that 17 of 23 samples were phenotypically positive and suspected to be *G. anatis* isolates. Molecular testing confirmed that 14 of these 17 isolates (73.9%) were *G. anatis*. Sequencing tests confirmed that all tested isolates showed more than 98.65% similarity to the reference *G. anatis* bacteria in GenBank. The virulence factor genes detected in this study were *gyrB* (100%), *gtxA* (93.3%), and *flfA* (71.4%). Resistance profiles for the four classes of antibiotics indicated resistance occurrences in the tetracycline, quinolone, and β -lactam groups. The highest resistance was observed for tetracycline, ciprofloxacin, and levofloxacin antibiotics, with a resistance rate of 100%. In contrast, no resistance was observed to amikacin, gentamicin, tigecycline, imipenem, tobramycin, or piperacillin (0%). The detection of resistance genes in the isolates revealed the presence of *gyr(A)* (100%), *tet(B)* (92.85%), *bla_{SHV}* (87.5%), and *qnrA* (85.71%). However, none of the isolates were positive for *tet(H)*, *tet(A)*, *ampC*, and *bla_{ROB}*.

The conclusion for this research indicates that the presence of *G. anatis* can be detected both phenotypically and genotypically, and the bacteria show a high level of resistance in tetracycline, ciprofloxacin, levofloxacin, and penicillin with a variety of resistance genes.

Keywords: *Gallibacterium anatis*, genes resistance, phenotypic characterization, PCR, antibiotic resistance



@Hak cipta milik IPB University

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

© Hak Cipta Milik IPB, Tahun 2024
Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah; dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya

tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.

KARAKTERISASI DAN POLA RESISTANSI *Gallibacterium anatis* ASAL PETERNAKAN AYAM DI JAWA BARAT

ALYA AMALIAH

Tesis
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Magister Sains pada
Program Studi Ilmu Biomedis Hewan

PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIS HEWAN
PEMINATAN MIKROBIOLOGI MEDIK
SEKOLAH KEDOKTERAN HEWAN DAN BIOMEDIS
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2024

@Hak cipta milik IPB University

IPB University





@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Tim Penguji pada Ujian Tesis:

1. Prof. Dr. drh. I Wayan Teguh Wibawan, M.S

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

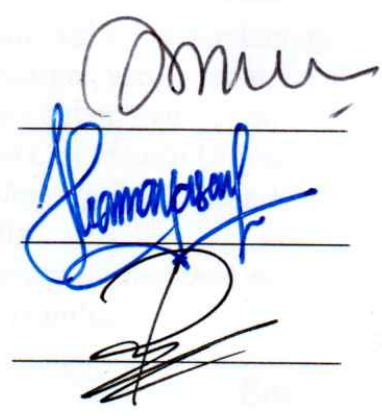
Judul Tesis : Karakterisasi dan Pola Resistansi *Gallibacterium anatis*
Asal Peternakan Ayam di Jawa Barat
Nama : Alya Amaliah
NIM : B3501221009

Disetujui oleh

Pembimbing 1:
Prof. Dr. drh. Agustin Indrawati, M.Biomed

Pembimbing 2:
Dr. drh. Ni Luh Putu Ika Mayasari

Pembimbing 3:
Dr. drh. Ryan Septa Kurnia, M.Si



Diketahui oleh

Ketua Program Studi:
Prof. drh. Bambang Pontjo Priosoeryanto, M.S., Ph.D.,
ApVet, DACCM
NIP. 196002281986011001

Dekan Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis:
Drh. Amrozi, Ph.D.
NIP. 197007211995121001



Tanggal Ujian: 05 Agustus 2024

Tanggal Lulus:



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

PRAKATA

Alhamdulillah, ucapan syukur kepada Allah *subhanaahu wa ta'ala* atas izin-Nya tugas akhir dalam penyelesaian magister ini bisa diselesaikan. Penelitian ini berjudul “Karakterisasi dan Pola Resistansi *Gallibacterium anatis* Asal Peternakan Ayam Jawa Barat”.

Terima kasih setulusnya penulis ucapkan kepada para pembimbing Prof. Dr. drh. Agustin Indrawati, M.Biomed, Dr. drh. Ni Luh Putu Ika Mayasari, dan Dr. drh. Ryan Septa Kurinia, M.Si yang telah membimbing dan banyak memberi saran dengan ketulusan, keikhlasan, serta kesabaran. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada PT. Medika Satwa Laboratoris yang telah memberikan izin selama penelitian ini berlangsung.

Ucapan terima kasih juga disampaikan dengan penuh rasa tulus dan bangga kepada Bapak Taswi, Mama Nillang, dan sanak keluarga yang senantiasa memberikan dukungan, doa, kasih sayangnya kepada penulis dalam menyelesaikan studinya. Ungkapan terima kasih juga kepada *Southeast Asia One Health University Network* (SEAHOUN) melalui program *One Health Scholarship 2023* yang telah memberikan pendanaan penelitian dalam tugas akhir penulis.

Semoga penelitian ini dapat bermanfaat untuk masyarakat manusia secara umum, dan dapat menjadi timbangan amal kebaikan untuk penulis.

Bogor,

Alya Amaliah



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvi
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Manfaat	2
II TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Karakteristik <i>Gallibacterium anatis</i>	3
2.2 Faktor Virulen dan Patogenesis <i>Gallibacterium anatis</i>	4
2.3 Mekanisme Kerja Antibiotik	5
2.4 Resistansi Antibiotik	5
III METODE	7
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	7
3.2 Desain Penelitian	7
3.3 Sampel Penelitian	8
3.4 Isolasi dan Identifikasi <i>Gallibacterium anatis</i>	8
3.5 Deteksi Gen Penyandi Faktor Virulen <i>Gallibacterium anatis</i>	8
3.6 Sekuensing dan Analisis Filogenetik <i>Gallibacterium anatis</i>	9
3.7 Uji Sensitivitas Antibiotik	9
3.8 Deteksi Gen Penyandi Resistansi Antibiotik Menggunakan PCR	10
3.9 Analisis Data	10
IV HASIL DAN PEMBAHASAN	11
4.1 Isolasi dan Identifikasi <i>Gallibacterium anatis</i>	11
4.2 Keberadaan Gen Panyandi Faktor Virulen <i>Gallibacterium anatis</i>	14
4.3 Analisis Penjajaran dan Konstruksi Pohon Filogenetik <i>Gallibacterium anatis</i>	16
4.4 Uji Resistansi Antibiotik Menggunakan Metode <i>Minimum Inhibitory Concentration (MIC)</i>	18
4.5 Deteksi Gen Penyandi Resistansi Terhadap Antibiotik	21
V SIMPULAN DAN SARAN	27
5.1 Kesimpulan	27
5.2 Saran	27
DAFTAR PUSTAKA	28
LAMPIRAN	36
RIWAYAT DIRI	37



DAFTAR TABEL

1	Mekanisme antibiotik terhadap bakteri	5
2	Susunan primer untuk deteksi gen penyandi faktor virulen <i>Gallibacterium anatis</i>	8
3	Target gen dan primer untuk deteksi gen penyandi resistansi antibiotik	9
4	Perbandingan hasil pengujian fenotipik dan genotipik bakteri <i>Gallibacterium anatis</i> asal peternakan ayam di Jawa Barat	14
5	Hasil PCR gen penyandi faktor virulen <i>Gallibacterium anatis</i>	14
6	Hasil analisis kemiripan <i>Gallibacterium anatis</i> gen 16-23S rRNA	16
7	Hasil uji resistansi antibiotik bakteri <i>Gallibacterium anatis</i>	19
8	Pola resistansi antibiotik pada bakteri <i>Gallibacterium anatis</i> asal peternakan ayam di Jawa Barat	20
9	Jumlah resistansi berdasarkan golongan antibiotik pada bakteri <i>Gallibacterium anatis</i>	21
10	Hasil deteksi gen penyandi resistansi berdasarkan golongan antibiotik	21

DAFTAR GAMBAR

1	Perbedaan koloni <i>G. anatis</i> pada media <i>blood agar</i>	3
2	Mekanisme <i>horizontal gene transfer</i> (HGT)	5
3	Diagram alur penelitian	6
4	Pengujian fenotipik bakteri <i>G. anatis</i>	11
5	Pengujian biokimia isolat <i>G. anatis</i>	12
6	Hasil visualisasi PCR konfirmasi <i>G. anatis</i>	13
7	Pohon filogenetik dari isolat <i>G. anatis</i> di Indonesia	17
8	Visualisasi hasil PCR deteksi gen resistansi <i>tet(B)</i> pada isolat bakteri <i>Gallibacterium anatis</i>	22
9	Visualisasi hasil PCR deteksi gen resistansi <i>bla_{SHV}</i> pada isolat bakteri <i>Gallibacterium anatis</i>	23
10	Visualisasi hasil PCR deteksi gen resistansi <i>gyr(A)</i> pada isolat bakteri <i>Gallibacterium anatis</i>	24
11	Visualisasi hasil PCR deteksi gen resistansi <i>qnr(A)</i> pada isolat bakteri <i>Gallibacterium anatis</i>	25

DAFTAR LAMPIRAN

1	Informasi sampel yang digunakan pada penelitian	36
2	Standar Penilaian Kelompok MIC	37