ISOLASI PLASMID DNA BAKTERI PENGHASIL *EXTENDED SPECTRUM BETA-LACTAMASE* (ESBL) PADA AIR LIMBAH PETERNAKAN *TEACHING FARM BROILER* UNTAN

SKRIPSI

Oleh:

CLARA ATRIA PAMELA

NIM. I1021211008

PROGRAM STUDI FARMASI

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS TANJUNGPURA

PONTIANAK

2025

ISOLASI PLASMID DNA BAKTERI PENGHASIL *EXTENDED SPECTRUM BETA-LACTAMASE* (ESBL) PADA AIR LIMBAH PETERNAKAN *TEACHING FARM BROILER* UNTAN

SKRIPSI

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S. Farm) pada Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak

Oleh:

CLARA ATRIA PAMELA

NIM. I1021211008

PROGRAM STUDI FARMASI

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS TANJUNGPURA

PONTIANAK

2025

SKRIPSI

ISOLASI PLASMID DNA BAKTERI PENGHASIL *EXTENDED SPECTRUM BETA-LACTAMASE* (ESBL) PADA AIR LIMBAH PETERNAKAN *TEACHING FARM BROILER* UNTAN

Oleh:
CLARA ATRIA PAMELA
NIM. I1021211008

Telah dipertahankan di hadapan Tim Penguji Skripsi
Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran
Universitas Tanjungpura
Tanggal : 30 Juni 2025
Disetujui,

Pembimbing Utama,	**Pembimbing Pendamping,**
Iswahyudi, Sp. FRS., PhD., Apt	**Wintari Taurina, M.Sc., Apt**
NIP. 196912151997031011	**NIP. 198304212008012007**
Penguji Utama,	**Penguji Pendamping,**
Indri Kusharyanti, M.Sc., Apt	**Fajar Nugraha, M.Sc., Apt**
NIP. 198303112006042001	**NIP. 198907012020121010**

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Tanjungpura

dr. Ita Armyanti, M.Pd. Ked
NIP. 198110042008012011

Lulus Tanggal : 30 Juni 2025
No. SK Dekan FK : 5889/UN22.9/TD.06/2025
Tanggal SK : 26 Juni 2025

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Clara Atria Pamela

NIM : I1021211008

Jurusan/Prodi : Farmasi

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam Skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Pontianak, 30 Juni 2025

Yang Membuat Pernyataan,



Clara Atria Pamela

NIM.I1021211008

MOTTO

“ Diberkatilah orang yang mengandalkan Tuhan, yang menaruh harapannya pada Tuhan”

(Yeremia 17:7)

“Karena masa depan sungguh ada, dan harapanmu tidak akan hilang”

(Amsal 23:18)

“Satu-satunya cara untuk melakukan pekerjaan hebat adalah mencintai apa yang kamu lakukan”

(Steve Jobs)

HALAMAN PERSEMBAHAN

Puji dan syukur bagi Tuhan Yang Maha Esa atas segala berkat serta penyertaan-Nya sehingga skripsi yang berjudul "Isolasi Plasmid DNA Bakteri Penghasil *Extended Spectrum Beta-Lactamase* (ESBL) Pada Air Limbah Peternakan *Teaching Farm Broiler* UNTAN" dapat terselesaikan dengan baik. Dengan penuh rasa syukur, cinta dan hormat, skripsi ini saya persembahkan kepada :

1. Kedua orang tua saya tercinta, Bapak (Alm. Efdi) dan Mama (Siani). Terima kasih atas doa, kasih sayang yang tulus, segala pengorbanan dan dukungan yang selalu diberikan. Terima kasih telah menjadi sumber kekuatan dan inspirasi dalam setiap langkah kehidupan ini. Semoga karya ini menjadi bukti dari usaha untuk membalas segala kebaikan yang telah kalian berikan.
2. Kedua kakak saya tercinta, kak Nola dan kak Mae yang selalu memberikan semangat, selalu mengajarkan agar menjadi orang yang mandiri dan menjadi sosok kakak yang berbagi kebersamaan selalu. Terima kasih atas doa dan dukungan yang diberikan.
3. Diri saya sendiri, yaitu Clara Atria Pamela. Terima telah melangkah sampai dititik ini meski sering merasa ragu dan lelah. Perjalanan ini tidak mudah, namun kamu membuktikan bahwa dengan keyakinan, usaha dan doa, semua rintangan bisa dilewati. Semoga karya ini menjadi pengingat bahwa kamu mampu, bahkan ketika kamu meragukan dirimu sendiri.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis haturkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala berkat serta penyertaan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul "Isolasi Plasmid DNA Bakteri Penghasil *Extended Spectrum Beta-Lactamase* (ESBL) Pada Air Limbah Peternakan *Teaching Farm Broiler* UNTAN".

Penulisan ini merupakan salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Sarjana (S1) Farmasi di Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak Tahun Ajaran 2024/2025. Maka pada kesempatan ini, penulis menyampaikan terima kasih dan rasa syukur kepada:

1. Dr. Ita Armyanti, M.Pd.Ked. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak.
2. Dr. Bambang Wijianto, M.Sc., Apt selaku Ketua Bagian Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak.
3. Nera Umilia Purwanti, M.Sc., Apt selaku Koordinator Program Studi Farmasi Universitas Tanjungpura.
4. Dr. Liza Pratiwi, M.Sc, Apt selaku dosen pembimbing akademik
5. Iswahyudi, Sp. FRS., PhD, Apt. selaku dosen pembimbing utama dan Wintari Taurina, M.Sc., Apt selaku dosen pembimbing pendamping yang telah memberikan arahan, bimbingan, saran, dan ilmu yang bermanfaat dalam menyelesaikan skripsi ini.

6. Indri Kusharyanti, M.Sc., Apt selaku dosen penguji utama dan Fajar Nugraha, M.Sc., Apt selaku dosen penguji pendamping yang telah memberikan arahan, bimbingan, saran, dan ilmu yang bermanfaat dalam menyelesaikan skripsi ini.
7. Seluruh civitas akademika Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura khususnya kepada dosen-dosen Program Studi Farmasi yang telah banyak memberikan ilmu-ilmu kefarmasian, nasihat, dan dukungan kepada penulis.
8. Peternakan Teaching Farm Broiler Closed House Fakultas Pertanian Universitas Tanjungpura yang telah memberikan izin untuk melakukan pengambilan sampel dilokasi peternakan.
9. Berbagai pihak yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini.

Pontianak, 30 Juni 2025



Clara Atria Pamela

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL i

HALAMAN PENGESAHAN ii

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN iii

MOTTO iv

HALAMAN PERSEMBAHAN v

KATA PENGANTAR vi

DAFTAR ISI viii

DAFTAR TABEL xii

DAFTAR GAMBAR xiii

DAFTAR LAMPIRAN xiv

ABSTRAK xv

ABSTRACT xvi

BAB I PENDAHULUAN 1

I.1 Latar Belakang 1

I.2 Rumusan Masalah 3

I.3 Tujuan Penelitian 4

I.4 Manfaat Penelitian 4

BAB II TINJAUAN PUSTAKA 6

II. 1 Mikroorganisme 6

II.2 Bakteri 6

II.3 Peternakan 7

II.4 Sumber Resistensi Antibiotik 8

II.5 Antibiotik 9

II.5.1 Definisi 9

II.5.2 Penggunaan Antibiotik Pada Peternakan Ayam 9

II.6 Resistensi Antibiotik 10

II.6.1 Definisi 10

II.6.2 Mekanisme Resistensi 10

II.6.3 Plasmid 12

II.6.4 Extended spectrum Beta Lactamase (ESBL) 13

II.7 Isolasi Plasmid DNA 14

II. 8 Metode Isolasi Bakteri 15

II. 9 Media *CHROM*agar™ ESBL 16

II. 10 Perbedaan Dinding Sel Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif 17

II.11 Phoenix (BD) Automated Microbiology System 19

II.12 Elektroforesis 20

II.13 Landasan Teori 21

II.14 Kerangka Konsep Penelitian 23

II.15 Hipotesis Penelitian 23

BAB III METODOLOGI PENELITIAN 24

III.1 Alat dan Bahan 24

III.1.1 Alat 24

III.1.2 Bahan 25

III.2 Tempat dan Waktu Penelitian 25

III. 3 Populasi dan Sampel 25

III.4 Variabel Penelitian 26

III. 4.1 Variabel Bebas 26

III.4.2 Variabel Terikat 26

III.5 Pembuatan Media CHROMagar™ ESBL 26

III.6 Pengambilan Sampel 27

III.7 Pemilihan Koloni ESBL (Tunggal) 27

III.8 Ekstraksi Plasmid dari Sampel Bakteri 27

III. 9 Elektroforesis 28

III. 10 Identifikasi dan Penentuan Profil Resistensi Bakteri menggunakan *Phoenix* (BD) *Automated Microbiology System* 29

III. 11 Skema Penelitian 31

III. 12 Analisis Data 32

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 33

IV.1 Pengambilan Sampel 33

IV.2 Inokulasi Sampel pada Media CHROMagar^{TM} ESBL..... 34

IV. 3 Pemilihan Koloni Tunggal Bakteri 37

IV. 4 Ekstraksi Plasmid dari Sampel Bakteri..... 38

IV. 5 Elektroforesis..... 39

IV.6 Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri dengan Phoenix (BD) Automated Microbiology System 44

IV.6.1 Identifikasi (ID) Secara Uji Biokimia dengan BD Phoenix..... 44

IV.5.2 *Antimicrobial Susceptibility Test* (AST)..... 49

IV.7 Keterbatasan Penelitian 55

BAB V PENUTUP..... 56

V.1 Kesimpulan 56

V.2 Saran..... 56

DAFTAR PUSTAKA..... 56

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Hasil Identifikasi Bakteri *E.coli* 45

Tabel 2. Prinsip Reaksi Biokimia Bakteri *E.coli* 46

Tabel 3. Hasil Identifikasi Bakteri *K.pneumoniae*..... 47

Tabel 4. Prinsip Reaksi Biokimia bakteri *K.pneumoniae* 48

Tabel 5. Hasil Uji AST Bakteri *E.coli* 50

Tabel 6. Hasil Uji AST Bakteri *K.pneumoniae* 51

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Sel Bakteri 7

Gambar 2. Peternakan Ayam 7

Gambar 3. Sumber Resistensi Antibiotik 8

Gambar 4. Peran antibiotik dalam seleksi dan perkembangbiakan bakteri resisten yang didorong oleh mutasi 11

Gambar 5. Horizontal Gen Transfer 12

Gambar 6. Struktur Plasmid Bakteri..... 13

Gambar 7. Tampilan Media Koloni Bakteri pada Media CHROMagar^{TM} ESBL 17

Gambar 8. Perbedaan Dinding Sel Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif 18

Gambar 9. Phoenix (BD) Automated Microbiology System..... 19

Gambar 10. Alat elektroforesis 21

Gambar 11. Kerangka Konsep Penelitian..... 23

Gambar 12. Skema Alur Penelitian 31

Gambar 13. Pertumbuhan koloni bakteri pada media CHROMagar^{TM} ESBL 36

Gambar 14. DNA Ladder..... 40

Gambar 15. Hasil Visualisasi dengan *gel documentation* 42

Gambar 16. Bentuk DNA Plasmid relaxed circular, linear, dan supercoiled 43

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Kaji Etik 66

Lampiran 2. Surat Izin Pengambilan Sampel 67

Lampiran 3. Pembuatan Media CHROMagarTM ESBL 68

Lampiran 4. Lokasi Pengambilan Sampel Air 70

Lampiran 5. Inokulasi Sampel Air ke Media CHROMagar ESBL 71

Lampiran 6. Isolasi Plasmid ke Media Cair LB (Luria Broth) 72

Lampiran 7. Ekstraksi Plasmid dari Sampel Bakteri 73

Lampiran 8. Elektroforesis 75

Lampiran 9. Gel Documentation 77

Lampiran 10. Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri 78

ABSTRAK

Peternakan ayam merupakan salah satu sumber resistensi antibiotik di lingkungan akibat penggunaan antibiotik yang berlebihan atau tidak terkontrol, yang memicu berkembangnya bakteri penghasil *Extended Spectrum Beta-Lactamase* (ESBL). Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi dan mengkarakterisasi bakteri penghasil ESBL pada limbah air peternakan *Teaching Farm Broiler* UNTAN. Penelitian ini merupakan penelitian non-eksperimental dengan desain deskritif observasional. Identifikasi dilakukan dengan media CHROMagar^{TM} ESBL, elektroforesis untuk analisis ukuran plasmid, serta BD Phoenix untuk identifikasi dan karakterisasi lanjutan. Hasil pada media CHROMagar^{TM} ESBL menunjukan keberadaan bakteri bakteri *E.coli* pada sampel PD (parit depan) dan PB (parit belakang), serta bakteri *K.pneumoniae* pada sampel (parit tengah) dan DK (dalam kandang). Identifkasi dengan BD Phoenix mengkonfirmasi bahwa bakteri tersebut adalah benar *E.coli* dan *K.pneumoniae*. Uji AST menunjukan kedua bakteri resisten terhadap antibiotik golongan beta-laktam. Visualisasi sampel hasil elektroforesis mengkonfirmasi keberadaan DNA plasmid penghasil ESBL merupakan mega plasmid karena berukuran diatas 10.000 bp.

Kata Kunci: Plasmid, bakteri, resistensi antibiotik, limbah peternakan ayam

ABSTRACT

Chicken farm is one of the sources of antibiotic resistance in the environment due to excessive or uncontrolled use of antibiotics, which triggers the development of Extended Spectrum Beta-Lactamase (ESBL) producing bacteria. This study aims to identify and characterize ESBL-producing bacteria in the waste water of UNTAN Broiler Teaching Farm. This research is a non-experimental research with observational descriptive design. Identification was done with CHROMagarTM ESBL media, electrophoresis for plasmid size analysis, and BD Phoenix for further identification and characterization. Results on CHROMagarTM ESBL media showed the presence of E.coli bacteria in samples PD (front ditch) and PB (back ditch), and K.pneumoniae bacteria in samples (middle ditch) and DK (inside the cage). Identification with BD Phoenix confirmed that the bacteria were indeed E.coli and K.pneumoniae. AST test showed that both bacteria were resistant to beta-lactam antibiotics. Visualization of electrophoresis samples confirmed the presence of ESBL-producing plasmid DNA is a mega plasmid because it is above 10,000 bp.

Keywords: Plasmids, bacteria, antibiotic resistance, chicken farm waste

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Resistensi bakteri terhadap antibiotik semakin meluas di lingkungan. Penggunaan antibiotik yang luas dalam pengobatan manusia dan hewan menjadi penyebab utama evolusi bakteri yang resisten terhadap antibiotik. Hal ini mengakibatkan penurunan keefektifan antibiotik dalam mengatasi infeksi, sehingga meningkatkan kerentanan individu terhadap berbagai penyakit.(1) Sumber penyebaran bakteri resisten antibiotik dapat berasal dari rumah sakit, rumah tangga, dan peternakan. Habitat yang menghasilkan bakteri resisten akan beredar dalam ekosistem. Siklus ini berpotensi membawa bakteri resisten kembali ke dalam tubuh manusia dan hewan.(2)

Peternakan merupakan salah satu sumber utama penyebaran bakteri resistensi antibiotik di lingkungan.(2)Ayam merupakan salah satu jenis unggas yang paling umum dipelihara untuk diambil daging ataupun telurnya. Ayam yang diternakan biasa berjenis ayam petelur dan ayam pedaging.(3) Berdasarkan Badan Pusat Statistik Provinsi Kalimantan Barat pada tahun 2023, peternakan ayam di kota pontianak berjumlah 4.440.959 ekor untuk ternak ayam pedaging dan 5.000 ekor untuk ternak ayam petelur.(4) Meningkatnya permintaan akan daging ayam membuat perkembangan usaha peternakan banyak diminati oleh para wirausaha. Usaha peternakan ayam dapat ditemukan dimana saja termasuk di kota pontianak. Dalam usaha peternakan perlu dikelola dengan baik, karena pengelolaan ternak yang salah dapat membahayakan kesehatan dan menyebabkan penyakit.

Penggunaan antibiotik pada peternakan ayam digunakan sebagai upaya pengobatan terhadap infeksi mikroorganisme. Penggunaan antibiotik yang tidak terkontrol menyebabkan terjadinya resistensi antibiotik. Untuk meningkatkan produktivitas ternak, banyak peternak memberikan antibiotik pada hewan ternak mereka. Antibiotik ini diharapkan dapat memperbaiki efisiensi pakan, mempercepat pertumbuhan, serta mencegah berbagai penyakit. Namun hal ini dapat berisiko menyebabkan bakteri menjadi resisten terhadap antibiotik.(5) Salah satu antibiotik yang sering digunakan adalah antibiotik beta-laktam. Bakteri penghasil ESBL diketahui dapat mengembangkan resistensi terhadap antibiotik jenis ini. Penggunaan antibiotik yang tidak sesuai dosis dan indikasi dapat mempercepat munculnya berbagai jenis resistensi bakteri.(6)

Tempat saluran air dibangun dalam peternakan ayam untuk mengalirkan air yang berasal dari air hujan maupun air limbah yang berasal dari dalam kandang peternakan. Residu hasil antibiotik yang digunakan oleh peternak ke hewan ternak akan berakhir di tempat saluran air limbah peternakan. Air limbah yang mengandung residu antibiotik tersebut dapat mencemari lingkungan disekitarnya. Air limbah inilah yang akan digunakan untuk mendeteksi keberadaan bakteri penghasil *Extended-spectrum beta-lactamases* (ESBL). Bakteri yang resisten memiliki gen yang membuatnya kebal terhadap antibiotik.(7) Berdasarkan penelitian yang dilakukan Yunindika pada sampel efluen di rumah potong hewan unggas di kota bogor pada tahun 2022 menunjukkan *E.coli* penghasil ESBL teridentifikasi pada seluruh sampel dengan persentase *E.coli* penghasil ESBL terendah 10,45% dan tertinggi yaitu 39,52% dengan rata-rata 17,76%.(8)

Mekanisme resistensi antibiotik pada bakteri sangat beragam. salah satu cara yang umum adalah melalui transfer gen resisten antar bakteri, terutama melalui plasmid. Gen yang mengatur pembentukan *β-lactamase* berada di plasmid atau kromosom. Plasmid ini sering membawa gen yang mengkode produksi enzim *beta-laktamase* dengan mentransfer gen resisten melalui plasmid. Gen pengkode *Extended-spectrum beta-lactamases* (ESBL) banyak berada di plasmid. Plasmid ini memungkinkan gen ESBL berpindah dari organisme satu ke organisme yang lain.(9)

Berdasarkan uraian latar belakang diatas, masalah terkait resistensi antibiotik yang bersumber dari peternakan menjadi ancaman terhadap lingkungan di sekitarnya, yang mengakibatkan pengobatan menjadi tidak efektif sehingga infeksi terus berlanjut dan meningkatkan risiko penyebaran infeksi.(10) Oleh karena itu peneliti bermaksud untuk melakukan identifikasi dan karakterisasi bakteri penghasil ESBL pada air limbah Peternakan *Teaching Farm Broiler* UNTAN. Penelitian ini diharapkan dapat megisolasi plasmid dari sampel limbah air, yang kemudian akan diidentifikasi & dikarakterisasi menggunakan *Phoenix Automated Microbiology System* dan gel elektroforesis.

I.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Apakah terdapat bakteri penghasil ESBL pada limbah air Peternakan *Teaching Farm Broiler* UNTAN ?
2. Bagaimana hasil identifikasi dan karakterisasi bakteri penghasil ESBL pada air limbah Peternakan *Teaching Farm Broiler* UNTAN ?

I.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian ini adalah:

1. Mendeteksi keberadaan bakteri penghasil ESBL pada air limbah Peternakan *Teaching Farm Broiler* UNTAN.
2. Menganalisis hasil identifikasi dan karakterisasi bakteri penghasil ESBL menggunakan Phoenix (BD) Auotomated Microbiology System dan Elektroforesis pada air limbah Peternakan *Teaching Farm Broiler* UNTAN.

I.4 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat penelitian ini adalah:

1. Manfaat bagi peneliti

   Hasil penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan pengetahuan, mengembangkan kemampuan berpikir kritis dan memahami lebih dalam bagaimana bakteri mengembangkan resistensi terhadap antibiotik.

2. Manfaat bagi Universitas

   Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi signifikan bagi perkembangan ilmu pengetahuan di bidang ini.

3. Manfaat bagi lingkungan

   Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi dalam upaya pencegahan dan pengendalian resistensi antibiotik pada bakteri patogen sehingga tidak mencemari lingkungan.

4. Manfaat bagi Masyarakat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan untuk merancang strategi pencegahan penyebaran bakteri resisten, misalnya melalui sanitasi, pengendalian penggunaan antibiotik dan meningkatkan kesadaran masyarakat terhadap resistensi antibiotik.