Penggunaan Antibiotik Enrofloksasin sebagai Obat Hewan dan Bahaya Residunya terhadap Kesehatan Masyarakat

(The Use of Enrofloxacin Antibiotic as a Veterinary Drug and Its Residual Hazards on Public Health)

Prima Mei Widiyanti^{1,2}, M B Sudarwanto³, E Sudarnika³, R Widiastuti²

¹*Program Studi Kesehatan Masyarakat Veteriner, Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor*

²*Balai Besar Penelitian Veteriner, Jl RE Martadinata No.30 Bogor 16680*

³*Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, Jl. Agatis, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680*

Kontributor utama: primamw@gmail.com

(Diterima 22 Maret 2019 – Direvisi 8 Mei 2019 – Disetujui 13 Mei 2019)

ABSTRACT

The livestock sector can improve the community's economy and has a role in fulfilling food needs, especially animal protein. One of the problems in the livestock sector is the presence of infectious diseases that consequently need treatment using veterinary drugs. This paper describes the use of enrofloxacin antibiotics as veterinary drug and their residual hazards on public health. Enrofloxacin is an antibiotic from the family of fluoroquinolones (second generation of quinolone). Enrofloxacin is a broad-spectrum antibiotic that is effective to kill Gram positive and negative bacteria, so it was used for the treatment of various diseases in animals. Pharmacokinetically, enrofloxacin will be metabolized into ciprofloxacin and other metabolites. The improper use of enrofloxacin antibiotics caused residues in food products of animal origin, microbial resistance and toxicity, therefore the use of enrofloxacin needs to be monitored and evaluated for the sake of animal health and society.

Key words: Antibiotic, enrofloxacin, residue, resistance, public health

ABSTRAK

Sektor peternakan dapat meningkatkan perekonomian masyarakat dan berperan dalam pemenuhan kebutuhan pangan khususnya protein hewani. Salah satu permasalahan dalam sektor peternakan adalah adanya penyakit infeksius, sehingga memerlukan obat hewan. Makalah ini menguraikan tentang penggunaan antibiotik enrofloksasin sebagai obat hewan dan residunya terhadap kesehatan masyarakat veteriner. Enrofloksasin merupakan antibiotik golongan fluorokuinolon (generasi kedua kuinolon). Enrofloksasin efektif untuk membunuh bakteri Gram positif dan negatif, sehingga digunakan untuk pengobatan berbagai penyakit pada hewan. Secara farmakokinetik, enrofloksasin akan di metabolisme menjadi siprofloksasin dan metabolit lainnya. Penggunaan antibiotik enrofloksasin secara tidak tepat dapat menimbulkan residu pada produk pangan asal hewan, resistensi mikroba dan toksisitas, sehingga penggunaannya perlu diawasi dan dievaluasi demi kesehatan hewan dan masyarakat.

Kata kunci: Antibiotik, enrofloksasin, residu, resistensi, kesehatan masyarakat

PENDAHULUAN

Peternakan merupakan salah satu sektor penting dalam bidang perekonomian. Peternakan dapat meningkatkan pendapatan ekonomi masyarakat, memperluas kesempatan kerja dan berperan dalam pemenuhan kebutuhan pangan khususnya protein hewani (susu, daging, telur) (Dianawati & Mulijanti 2015; As et al 2014).

Salah satu permasalahan di sektor peternakan adalah adanya penyakit infeksius pada hewan. Penyakit pada hewan dapat mempengaruhi penurunan produktivitas hingga menyebabkan kematian pada hewan. Penyakit pada hewan dapat disebabkan oleh

infeksi virus, bakteri, parasit dan lainnya. Pengobatan penyakit pada hewan yang disebabkan oleh infeksi bakteri dapat dilakukan dengan terapi antibiotik (kemoterapetik). Penyakit pada hewan yang dapat diterapi dengan menggunakan antibiotik antara lain mastitis, penyakit pernafasan, diare, penyakit reproduksi, persendian dan penyakit lainnya (De Briyne et al. 2014; Logue et al. 2017).

Antibiotik dapat digunakan untuk tujuan kemoterapetik dan profilaktik. Penggunaan antibiotik secara aman dan efektif harus diatur, karena antibiotik dapat menyebabkan residu pada produk pangan asal hewan. Pemberian antibiotik harus memperhatikan waktu henti obat, sehingga aman untuk dikonsumsi.

Pengendalian dan deteksi residu antibiotik pada pangan asal hewan dapat melindungi kesehatan manusia sebagai konsumen (Jayalakshmi et al. 2017; Moghadam et al. 2016).

Antibiotik yang dapat diberikan pada hewan salah satunya adalah antibiotik golongan fluorokuinolon. Penjualan fluorokuinolon mencapai 3,6 ton per tahun yang digunakan untuk pengobatan infeksi pada hewan di negara Perancis (Troughon & Lefebvre 2016). Fluorokuinolon dapat digunakan untuk penanganan penyakit pada unggas, sapi, kambing, domba, babi, kuda dan ikan. Fluorokuinolon merupakan antibiotik yang penting untuk pengobatan penyakit, karena dapat digunakan untuk pengobatan penyakit yang cukup serius dengan infeksi yang spesifik. *World Organisation for Animal Health* mengelompokkan fluorokuinolon ke dalam jenis antibiotik (antimikrobia) kriteria paling tinggi sebagai *critically important antimicrobials*, sehingga penggunaan dan residunya pada produk pangan asal hewan perlu mendapat perhatian (OIE 2018).

Enrofloksasin merupakan salah satu jenis antibiotik golongan fluorokuinolon yang banyak digunakan untuk terapi pada hewan. Antibiotik enrofloksasin merupakan antibiotik berspektrum luas, sehingga efektif untuk pengobatan penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri Gram positif dan Gram negatif. Namun, antibiotik enrofloksasin dapat menyebabkan gangguan syaraf, kardiotoxik, kebutaan, kematian embrionik serta toksisitas pada lingkungan (ekotoksitas) (Troughon & Lefebvre 2016; Kang et al. 2019; Wei et al. 2018). Penggunaan antibiotik enrofloksasin pada hewan juga dapat menyebabkan residu dan resistensi mikroba, sehingga penggunaan antibiotik enrofloksasin harus diawasi dan dievaluasi demi keamanan pangan dan kesehatan manusia (Mansouri-najand et al. 2012; Moharana et al. 2015). Tulisan ini bertujuan untuk mengulas penggunaan antibiotik enrofloksasin sebagai obat hewan dan bahaya residunya terhadap kesehatan masyarakat veteriner.

ANTIBIOTIK ENROFLOKSASIN DAN MEKANISME KERJANYA

Enrofloksasin merupakan antibiotik golongan fluorokuinolon (generasi kedua kuinolon). Kuinolon pertama yaitu asam nalidiksik yang telah digunakan untuk pengobatan pada hewan sejak tahun 1980, sedangkan enrofloksasin merupakan fluorokuinolon yang pertama digunakan pada tahun 1984. Pada antibiotik fluorokuinolon terdapat penambahan atom

fluor pada posisi ke-6 yang dapat meningkatkan spektrum antibakterial.

Mekanisme kerja antibiotik enrofloksasin

Enrofloksasin bekerja menghambat *deoxy ribonucleic acid* (DNA) *gyrase* (topoisomerase II) dan topoisomerase IV (topo IV) yang diperlukan oleh bakteri untuk replikasi DNA. Hambatan ini menghasilkan efek sitotoksik dalam sel target. Mekanisme kerja dari enrofloksasin berbeda dengan antimikroba lainnya seperti golongan beta laktam, makrolida, tetrasiklin dan aminoglikosida. Enrofloksasin mengandung ikatan fluor di tengah struktur kimianya. Gugus fluorida telah diketahui bersifat neurotoksik dan obat yang menempel pada gugus fluorida dapat berpenetrasi ke dalam jaringan yang sensitif termasuk otak. Kemampuan fluorida untuk menembus *blood-brain barrier*, membuat fluorida bersifat neurotoksik kuat. Fluorida juga mengganggu sintesa kolagen, dan dapat merusak sistem imun dengan menghabiskan persediaan energi dan menghambat pembentukan antibodi dalam darah (Babaahmady & Khosravi 2011; Raini 2016).

Farmakokinetik antibiotik enrofloksasin

Farmakokinetik obat menggambarkan perubahan konsentrasi obat setelah pemberian obat dengan dosis tertentu. Proses farmakokinetik antara lain absorpsi, distribusi, metabolisme dan eliminasi obat. Proses farmakokinetik tergantung dari rute administrasi, formulasi, spesies hewan, kondisi tubuh, umur hewan, dan status fisiologis. Obat masuk ke dalam tubuh dapat melalui per oral, intramuskular atau intravena, kemudian diabsorpsi ke sistem sirkulasi sistemik (Setiawan et al. 2019; López-Cadenas et al. 2013).

Enrofloksasin dimetabolisme di dalam hati melalui *de-ethylation* dari grup cincin piperazin. Dalam tubuh hewan, enrofloksasin menghasilkan metabolit siprofloksasin yang mempunyai gugus *ethyl* pada cincin piperazin (Gambar 1). Sipofloksasin bersifat lebih lipofilik daripada enrofloksasin pada pH 7,4. Metabolit lain dari enrofloksasin diketahui tidak bersifat sebagai antimikroba, metabolit tersebut antara lain *oxociprofloxacin*, *enrofloxacin amide*, *dioxociprofloxacin*, *desethylen ciprofloxacin*, *destethylen enrofloxacin*, *N-formyl ciprofloxacin*, *oxoenrofloxacin* dan *hydroxy oxoenrofloxacin* (Kumar 2012).

Gambar 1. Struktur kimia antibiotik enrofloksasin (a) dan siprofloksasin (b) sebagai metabolit utamanya

Sumber: Troughon & Lefebvre (2016) yang dimodifikasi

Pada ruminansia besar, enrofloksasin dimetabolisme menjadi siprofloksasin relatif besar (59-64%), namun pada unggas hanya <10% saja. Persentase metabolisme enrofloksasin menjadi siprofloksasin pada beberapa hewan dapat dilihat pada Tabel 1 (Troughon & Lefebvre 2016).

Tabel 1. Persentase siprofloksasin pada beberapa jenis hewan setelah pemberian enrofloxacin

Jenis hewan	Persentase siprofloksasin dalam plasma
Anjing	40
Sapi perah	59
Sapi pedaging	64
Ayam	<10
Babi	51
Kambing	34

Sumber: Troughon & Lefebvre (2016)

Setelah proses metabolisme, maka obat akan diekskresikan dan dieliminasi di dalam tubuh. Golongan fluorokuinolon (enrofloksasin) merupakan obat yang bersifat hidrofilik, akan mengalami proses eliminasi terutama di ginjal. Obat hidrofilik memiliki volume distribusi lebih kecil, karena sulit menembus jaringan adiposa dan intraseluler (Setiawan et al. 2019). Enrofloksasin dapat diekskresikan melalui feses, urin dan lainnya. Proses penurunan konsentrasi enrofloksasin pada tubuh ayam bagian daging paha lebih cepat dibandingkan dengan bagian dada, karena aktivitas otot paha lebih tinggi dibandingkan dengan daging dada (Widiastuti 2008; Troughon & Lefebvre 2016). Waktu henti obat (*withdrawal time*) antibiotik dengan dosis 2,5 mg/kg berat badan secara *intramuscular* adalah pada hari ke-6. Hal ini berarti pada hari ke-6 sudah tidak ditemukan lagi adanya residu antibiotik, sehingga produk pangan sudah aman untuk dikonsumsi kembali (Davis et al. 2007).

Farmakokinetik enrofloksasin pada sapi perah lebih cepat dibandingkan pada sapi jantan yang telah dikastrasi (*steer*), karena enrofloksasin lebih cepat

dimetabolisme menjadi siprofloksasin. Hal tersebut berkaitan dengan waktu paruh dan eliminasi obat yang lebih lama pada sapi jantan pedaging, namun tidak ada perbedaan ikatan enrofloksasin dengan protein plasma pada sapi perah dan sapi jantan pedaging (Idowu et al. 2010). Konsentrasi enrofloksasin di dalam plasma lebih tinggi dibandingkan konsentrasi di daging paha dan kulit (Kumar 2012).

Sapi yang diinjeksi dengan antibiotik enrofloksasin dengan dosis 2,5 mg/kg berat badan secara intravena, maka akan terdeteksi residunya setelah 15 menit penyuntikan. Konsentrasi tertinggi akan tercapai pada 42-78 menit sesudah diinjeksi. Siprofloksasin sebagai hasil metabolit enrofloksasin akan terdeteksi pada menit ke 300-480 setelah diinjeksi. Konsentrasi enrofloksasin pada plasma dan susu jumlahnya sama (López-Cadenas et al. 2013).

PENGUNAAN ANTIBIOTIK ENROFLOKSASIN PADA HEWAN

Produk antibiotik untuk hewan pertama kali diproduksi oleh laboratorium Bayer pada tahun 1991 dengan nama dagang Baytril® dan digunakan pada unggas secara oral. Pada saat sekarang, berbagai produk yang mengandung antibiotik enrofloksasin telah diproduksi oleh perusahaan dengan sediaan berupa tablet, bolus, maupun yang dapat diinjeksi. Jenis hewan yang dapat diberikan antibiotik enrofloksasin juga sudah beragam meliputi karnivora, hewan ternak dan hewan eksotis. Antibiotik enrofloksasin dapat digunakan untuk berbagai penyakit pada hewan yang disebabkan oleh bakteri Gram positif dan Gram negatif. Pengobatan yang utama pada infeksi respirasi, namun juga dapat digunakan untuk penyakit pencernaan, urinari, persendian, genital, mastitis dan penyakit kulit. Antibiotik enrofloksasin juga dapat digunakan pada akuakultur (perikanan) (Troughon & Lefebvre 2016). Antibiotik enrofloksasin digunakan untuk pengobatan penyakit yang sangat penting (*critically important*) antara lain septikemia, penyakit

respirasi dan pencernaan. Terapi enrofloksasin dapat digunakan untuk penanganan penyakit pada unggas, sapi, kambing, domba, kuda, kelinci, babi dan ikan (OIE 2018).

Enrofloksasin merupakan antibiotik yang diperbolehkan untuk pengobatan dan efektif untuk melawan mikroba yang sudah resisten terhadap antibiotik golongan aminoglikosida, betalaktam, makrolida dan tetrasiklin. Penggunaan antibiotik enrofloksasin dapat dilakukan pada sapi dengan dosis 2,5-5 mg/kg secara *subcutan* selama tiga hari atau 7,5-12,5 mg/kg secara *subcutan* dengan satu kali terapi. Penggunaan antibiotik enrofloksasin pada hewan dapat menimbulkan residu antibiotik pada produk hewan yang diproduksinya apabila tidak memperhatikan waktu henti obat (Mahmood et al. 2016).

RESIDU ANTIBIOTIK ENROFLOKSASIN TERHADAP KESEHATAN MASYARAKAT

Residu antibiotik enrofloksasin

Residu antibiotik merupakan sejumlah antibiotik atau hasil metabolit antibiotik pada jaringan atau produk hewan (daging, susu, telur dan lainnya), setelah hewan diberikan antibiotik. Residu antibiotik pada produk hewan dapat berdampak pada kesehatan masyarakat dan berimplikasi ke sektor perekonomian. Residu antibiotik dapat mengakibatkan reaksi alergi, resistensi mikroba, karsinogen, toksisitas dan penolakan produk (Asredie & Engdaw 2015).

Dalam jangka panjang, paparan residu antibiotik menyebabkan resistensi pada mikroflora di usus. Antibiotik berpotensi menjadi antigen atau haptan dan dapat menyebabkan alergi karena dapat merespon imunoglobulin E (IgE), sehingga menyebabkan urtikaria, bronkhospasmus, dan angioderma. Reaksi nonIgE dapat menyebabkan anemia hemolitik, trombositopenia, nefritis, eritema, *toxic epidermal necrolysis*. Pada aspek teknologi, keberadaan residu antibiotik dalam susu dapat mengganggu/menggagalkan

proses fermentasi produk susu yang menggunakan *starter*, antara lain yoghurt, keju, mentega, kefir, koumis, susu fermentasi dan lainnya. Efek residu antibiotik pada lingkungan dapat terjadi karena adanya pembuangan dari perusahaan obat, urin dan feses hewan yang diobati dengan antibiotik. Enrofloksasin dapat menyebabkan toksisitas pada ekosistem akuatik seperti algae, hewan vertebrata dan invertebrate. Ekskresi hewan (urin, feses) dapat mengandung 17-90% residu antibiotik karena tidak semua antibiotik diserap dalam saluran cerna. Berdasarkan hasil penelitian, konsentrasi residu antibiotik pada feses tergantung jenis antibiotik, dan waktu *sampling* pada hewan. Antibiotik juga dapat mencemari lingkungan perairan dan mengganggu ekosistem akuatik. Pembuangan limbah peternakan ke perairan dapat menyebabkan residu pada lingkungan yang dipengaruhi oleh jenis antibiotik, karakteristik tanah, temperatur, kelembaban dan iklim. Residu antibiotik dapat menyebabkan resistensi antimikroba. Gen resisten antibiotika/ *antibiotic resistance genes* (ARGs) telah dilaporkan di dunia (Jayalakshmi et al. 2017; Troughon & Lefebvre 2016).

Konsumsi pangan yang mengandung residu antibiotik enrofloksasin dapat membahayakan kesehatan manusia. Berdasarkan pengujian secara *in vitro* dapat menyebabkan resistensi bakteri pada kolon. *The European Medicines Agency* (EMA) menetapkan *Acceptable Daily Intakes* (ADI) untuk antibiotik enrofloksasin adalah 6,2 µg/kg berat badan karena lebih rendah dari batas toksik ADI yaitu 12 µg/kg berat badan yang telah dihitung berdasarkan faktor keamanan *No Observed Effect Level* (NOEL) dari 1,2 mg/kg berat badan per hari. Untuk melindungi kesehatan manusia banyak negara menetapkan batas maksimum residu antibiotik enrofloksasin pada produk hewan (Troughon & Lefebvre 2016). Menurut *The European Commission* (2010), batas maksimum residu (BMR) atau *maximum residue limit* (MRL) antibiotik enrofloksasin ditetapkan berdasarkan jenis hewan dan jenis produk pangan asal hewan (Tabel 2).

Tabel 2. Batas maksimum residu enrofloksasin (En) dan siprofloksasin (Si) dalam pangan

Residu	Jenis hewan	Daging	Lemak	Hati	Ginjal	Susu
BMR (µg/kg atau ppb)						
En dan Si	Sapi, kambing, domba	100	100	300	200	100
	Babi, kelinci	100	100	200	300	-
	Unggas	100	100	200	200	-

(-) = Tidak tersedia

Sumber: *The European Commission* (2010)

Penelitian yang dilakukan oleh Islam et al. (2016), menyatakan bahwa residu antibiotik enrofloksasin pada unggas secara berurutan paling tinggi konsentrasinya pada hati, kemudian ginjal, telur dan daging. Selain itu penelitian yang dilakukan oleh Widiastuti (2008) pada ayam yang diberi enrofloksasin dengan dosis 50 mg/kg berat badan menghasilkan residu dengan urutan konsentrasi tertinggi pada hati (117,47 ppb), daging dada (95,16 ppb) dan daging paha (71,40 ppb). Konsentrasi residu tertinggi pada hati karena hati merupakan pusat metabolisme.

Residu antibiotik enrofloksasin pada susu di India dilaporkan ada yang melebihi BMR. Sebanyak 100 sampel susu yang dianalisis, 19 sampel susu mengandung residu antibiotik enrofloksasin dan siprofloksasin, serta 2 sampel melebihi BMR (Srinivasu et al. 2017). Menurut Nirala et al. (2017), penelitian yang dilakukan di wilayah Bihar-India, terdapat 8 sampel susu yang mengandung residu antibiotik enrofloksasin dan siprofloksasin serta 3 sampel melebihi BMR dari total 250 sampel susu.

Hasil pengujian residu antibiotik di negara-negara Eropa seperti Cekoslovakia menunjukkan 150 susu sapi terdeteksi adanya residu enrofloksasin pada 115 sampel pada kisaran 1,7-18,6 ppb (Navrátilová et al. 2017). Pengujian terhadap 119 sampel susu segar di Kroasia yang dikumpulkan pada bulan Januari hingga Maret 2011 dan dianalisis secara *immunoassay* menunjukkan terdeteksinya residu tetrasiklin pada kisaran 0,02-49,5 ppb dan rata-rata 2,83 ppb, enrofloksasin pada kisaran 0,56-22,3 ppb (Bilandzic et al. 2011). Analisis pada 497 susu segar yang dikumpulkan dari peternak dan pengumpul di Makedonia pada bulan Oktober 2008 hingga April 2011, menunjukkan adanya residu fluorokuinolon pada kisaran 0,6-22,0 µg/kg (Dimitrieska-Stojkovic et al. 2011). Penelitian di negara India dengan HPLC menunjukkan 16,8% dari 125 sampel susu segar terdeteksi enrofloksasin dan 8% diantaranya melebihi batas maksimum residu (Moharana et al. 2015).

Antibiotik enrofloksasin pada telur lebih banyak ditemukan pada bagian putih telur dibandingkan kuning telur (Duan et al. 2014). Penelitian di Iran mengenai residu antibiotik enrofloksasin pada telur menunjukkan bahwa lebih dari 50% sampel positif dari total 150 sampel telur, dengan konsentrasi tertinggi 56,17 ppb. Telur dengan kadar residu antibiotik yang tinggi dapat beresiko terhadap mikroflora dalam usus, mengakibatkan bakteri yang resisten terhadap antibiotik dan reaksi hipersensitif (Mahmoudi & Norian 2015).

Metode deteksi antibiotik enrofloksasin

Beberapa residu antibiotik yang terdapat dalam produk pangan asal hewan antara lain tetrasiklin,

sulfonamide, fluorokuinolon, makrolida, linkosamid, aminoglikosida, betalaktam, sepalosporin dan lainnya. Deteksi residu antibiotik dapat dilakukan dengan beberapa metode antara lain *microbial inhibition test* (kualitatif atau semikuantitatif), biosensor, Charm II, *enzyme linked immunosorbant assay* (ELISA), *high performance liquid chromatography* (HPLC) dan *liquid chromatography mass spectrometry* (LC-MS) (Jayalakshmi et al. 2017; Priyanka et al. 2017).

Analisis residu antibiotik enrofloksasin secara kuantitatif dapat dilakukan dengan menggunakan HPLC (Trouchon & Lefebvre 2016). Penelitian mengenai residu antibiotik enrofloksasin pada susu telah dilakukan dengan menggunakan alat HPLC (Dimitrieska-Stojkovic et al. 2011; Moharana et al. 2015; Mohammed et al. 2016). Deteksi antibiotik enrofloksasin pada sampel susu dan plasma dengan menggunakan HPLC dapat dilakukan dengan detektor fluoresen (Idowu & Peggs 2004). Selain itu deteksi antibiotik enrofloksasin yang lebih sensitif juga dapat dilakukan dengan menggunakan LC-MS atau LC-MS/MS (Hermo et al. 2008).

Deteksi antibiotik enrofloksasin di Portugal secara simultan dengan beberapa jenis antibiotik lain dapat dilakukan menggunakan *ultra high performance liquid chromatography mass spectrometry* (UHPLC-MS/MS) dengan sensitivitas yang tinggi. Validasi metode sudah sesuai dengan aturan regulasi di Eropa sehingga dengan UHPLC-MS/MS dapat terdeteksi residu antibiotik enrofloksasin dengan konsentrasi 0,1-12 µg/kg (Santos et al. 2019).

BAHAYA RESIDU ANTIBIOTIK ENROFLOKSASIN

Residu antibiotik enrofloksasin dapat membahayakan bagi kesehatan masyarakat antara lain resistensi mikroba dan toksisitas.

Resistensi mikroba

Resistensi mikroba pada dekade saat ini merupakan permasalahan global yang berkaitan dengan kesehatan manusia dan hewan. Resistensi antibiotik terjadi ketika bakteri memperoleh gen resisten yang memungkinkan mikroba dapat bertahan hidup saat terpapar antibiotik (WHO 2017). Gen resisten pada bakteri dapat diwariskan atau diperoleh dari unsur genetik seluler seperti plasmid (Read & Woods 2014). Pemberian antibiotik dosis rendah (subterapetik), dapat meningkatkan perkembangan resistensi antibiotik yang memicu perubahan genetik, seperti perubahan ekspresi gen, terjadinya *horizontal gen transfer* (HGT), dan mutagenesis (Ventola 2015).

Antibiotik dapat mengganggu keseimbangan ekologi mikroba, sehingga terjadi kolonisasi bakteri yang resisten (Jernberg et al. 2010). Gen bakteri resisten tersebut mengakibatkan potensi resistensi dapat dipindahkan antara spesies bakteri yang berbeda (Smith et al. 2007). Bakteri resisten menyebar melalui seleksi alam saat antibiotik gagal menghentikan proses perkembangan bakteri tersebut, hal ini terjadi saat bakteri kompetitor tereliminasi akibat sensitif terhadap antibiotik (Read & Wood 2014).

Mekanisme gen resisten interseluler pada mikroba meliputi konjugasi, transduksi, dan transformasi. Konjugasi terjadi ketika molekul DNA yang bereplikasi sendiri/autonom (plasmid) memindahkan gen di antara bakteri yang belum tentu terkait erat. Transduksi dimediasi oleh bakteriofag, terjadi dengan cara DNA bakteri dimasukkan ke dalam partikel fag dan kemudian dipindahkan ke sel bakteri baru selama terjadinya infeksi. Transformasi terjadi ketika DNA yang dilepaskan dari satu sel diambil oleh sel penerima terdekat. Pada mekanisme intraseluler terjadi tranposisi, yaitu perpindahan gen dari satu lokasi DNA ke lokasi lain dan dari satu DNA ke DNA yang lain (Drlica & Perlman 2011).

Resistensi mikroba dari hewan ke manusia dapat terjadi melalui kontak langsung dengan hewan yang terinfeksi dengan mikroba yang sudah resisten atau transmisi melalui rantai pangan dari produk hewan yang terpapar dengan mikroba yang sudah resisten. Proses transfer genetik dari hewan ke manusia dapat terjadi dengan pola antara lain: (1) *Strain* bakteri yang sama pada hewan berpindah ke manusia, (2) Struktur genetik melewati satu atau lebih inang yang berbeda, berakhir di inang yang baru (manusia), dengan struktur DNA yang sama; (3) Inang dan gen plasmid berpindah ke lingkungan, mengalami perubahan kaset gen menjadi spesifik pada inang tertentu saja dengan persentase kesamaan DNA yang rendah atau inti plasmid tetap sama (Marshall & Levy 2011).

Penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa beberapa jenis bakteri sudah resisten terhadap antibiotik enrofloksasin (Tabel 3). Penelitian di Brasil dan Estonia menyatakan bahwa *Campylobacter* pada ayam sudah resisten terhadap antibiotik enrofloksasin (Panzenhagen et al. 2016; Roasto et al. 2007). Selain itu, penelitian yang dilakukan di Malaysia juga menunjukkan bahwa *Campylobacter* sudah resisten terhadap antibiotik enrofloksasin (Mansouri-najand et al. 2012). Menurut Li et al. (2017), bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* sudah resisten terhadap antibiotik enrofloksasin. Hasil penelitian menyatakan bahwa resistensi terjadi pada gen *gyrA*, *gyrB*, *gyrC* dan *parE*, sehingga penggunaan antibiotik enrofloksasin perlu pengawasan dan evaluasi.

Bakteri *Actinonobacillus* yang resisten terhadap enrofloksasin dapat terjadi karena adanya mutasi gen target dan membawa setidaknya satu mutasi dalam QRDR *gyrA* yang menyebabkan perubahan asam amino pada kodon 83 atau 87 (Wang et al. 2010).

Tabel 3. Bakteri yang resisten terhadap antibiotik enrofloksasin

Jenis bakteri yang resisten	Sumber
<i>Escherichia coli</i>	Niasono et al. (2019), Li et al. (2017), Piras et al. (2015)
<i>Salmonella typhimurium</i>	Li et al. (2017)
<i>Campylobacter</i> spp.	Mansouri-najand et al. 2012; Panzenhagen et al. 2016; Roasto et al. 2007
<i>Actinonobacillus</i> spp.	Wang et al. 2010

Toksisitas enrofloksasin

Efek samping obat golongan fluokuionolon dapat menyebabkan gangguan pada pencernaan yang meliputi mual, sakit perut, muntah dan diare serta reaksi inflamasi setelah penyuntikan obat khususnya pada babi. Antibiotik enrofloksasin dapat bersifat toksik pada mata kucing yaitu degenerasi retina dan kebutaan. Pada anjing apabila diberikan enrofloksasin dengan dosis tinggi dapat menyebabkan gangguan syaraf pusat antara lain lemah, nafsu makan menurun, hipersalivasi. Efek alergi yang dapat ditimbulkan enrofloksasin antara lain urtikaria dan angioderma. Enrofloksasin juga dapat menyebabkan toksisitas pada lingkungan (ekotoksikitas). Ekskresi dari hewan (feses, urin) dapat mencemari lingkungan sehingga menyebabkan kontaminasi pada tanah, air dan biota di air. Enrofloksasin dalam manur hewan memiliki konsentrasi 0,3 - 1,421 mg/kg. Enrofloksasin di lingkungan dapat didegradasi melalui proses fotolisis, biodegradasi, dan oksidasi oleh mineral namun kurang sensitif dalam proses hidrolisis. Waktu yang dibutuhkan untuk degradasi enrofloksasin selama 1155 hari (Troughon & Lefebvre 2016; Wei et al. 2018).

Toksisitas antibiotik enrofloksasin dapat mempengaruhi mikroba dalam tanah. Penelitian membuktikan bahwa tanah yang diberi perlakuan antibiotik enrofloksasin akan berdampak pada populasi bakteri dalam tanah akan menurun jumlahnya (Wei et al. 2018). Antibiotik enrofloksasin juga bersifat toksik pada cacing tanah, karena dapat menghambat aktivitas enzim pencernaan khususnya selulase dan alkaline fosfatase (Zhang et al. 2019).

Toksisitas antibiotik enrofloksasin tergantung pada aplikasi obat dan jenis hewannya. Kelinci

memiliki letal dosis 50 (LD50) atau dosis yang dapat mematikan 50% hewan coba dengan dosis lebih rendah dibandingkan tikus dan mencit. Pemberian enrofloksasin secara intravena pada mencit memiliki LD50 lebih rendah dibandingkan dengan per oral. LD50 pada beberapa hewan dapat dilihat pada Tabel 4 (Babaahmady & Khosravi 2011).

Tabel 4. Letal Dosis 50 (LD50) enrofloksasin pada beberapa jenis hewan

Jenis hewan	Aplikasi	LD50 (mg/kg berat badan)
Tikus	Oral	≥5000
Mencit	Oral	≥5000
Mencit	Intravena	200
Kelinci	Oral	500-800

Sumber: Babaahmady & Khosravi 2011

Enrofloksasin dan marbofloksasin termasuk antibiotik golongan fluorokuinolon, namun enrofloksasin menunjukkan efek toksisitas yang lebih tinggi. Penelitian pada ayam menunjukkan telur yang diberi antibiotik enrofloksasin memperlihatkan penurunan daya tetas dan terjadi kematian embrionik, sedangkan beberapa ekor ayam yang menetas menunjukkan kelainan bentuk sendi. Enrofloksasin dapat bersifat kardiotosik karena dapat mempercepat denyut jantung embrionik (Hrubá et al. 2019).

PENGENDALIAN RESIDU ANTIBIOTIK

Residu antibiotik dalam pangan khususnya produk pangan asal hewan mendapat perhatian besar karena berkaitan dengan keamanan pangan dan kesehatan masyarakat. Residu antibiotik dalam produk hewan dapat berpengaruh terhadap sosial ekonomi dalam perdagangan internasional hewan dan produk hewan, sehingga perlu dilakukan pencegahan dan pengendalian terhadap residu antibiotik dalam pangan. Pencegahan dan pengendalian residu antibiotik dapat dilakukan dengan beberapa cara antara lain: mendorong kepedulian residu antibiotik pada individu, kelompok atau organisasi masyarakat melalui sosialisasi dari dokter hewan, institusi, pemerintah daerah dan pusat; pengembangan prosedur deteksi residu antibiotik secara cepat dalam produk hewan; pemanasan produk hewan (dimasak) sebelum dikonsumsi, antibiotik digunakan hanya untuk pengobatan pada hewan yang sakit saja sesuai dengan penyebabnya (Nisha 2008). Penerapan *hazard analysis and critical control point* (HACCP) pada industri pangan juga dapat meningkatkan kualitas produk pangan. Pada industri yang sudah menerapkan HACCP, dilakukan pengecekan adanya residu antibiotik serta kontaminan lainnya untuk memastikan hasil pangan yang aman

untuk dikonsumsi masyarakat (Mohammed et al. 2016).

Adanya dampak atau kerugian yang ditimbulkan akibat residu antibiotik dalam pangan, maka penting untuk memperhatikan *withdrawal time* pengobatan dengan antibiotik pada hewan dan rutin melakukan monitoring pemeriksaan antibiotik pada produk hewan. Selain itu penerapan praktek higiene dan manajemen dengan baik untuk menjamin keamanan pangan agar kesehatan masyarakat semakin meningkat (Jayalakshmi et al. 2017; Priyanka et al. 2017).

Pencegahan residu antibiotik di Indonesia dilakukan dengan penetapan Permentan No. 14/2017 mengenai Klasifikasi Obat Hewan, sejak 1 Januari 2018 pemerintah melarang penggunaan *antibiotic growth promoters* (AGP) dalam pakan. Pelarangan ini juga diperkuat dengan Permentan No. 22/2017 tentang Pendaftaran dan Peredaran Pakan, yang mensyaratkan pernyataan tidak menggunakan AGP dalam formula pakan yang diproduksi bagi produsen yang akan mendaftarkan pakan untuk diperdagangkan. Selain itu, pelarangan penggunaan antibiotik sebagai imbuhan pakan (*feed additive*) juga diharapkan dapat mencegah terjadinya residu antibiotik pada produk hewan. Penggunaan antibiotik untuk terapi pada hewan seharusnya dilakukan oleh dokter hewan atau tenaga kesehatan hewan di bawah pengawasan dokter hewan. Regulasi lain yaitu mengenai jaminan pangan aman, sehat, utuh dan halal (ASUH) berdasarkan Permentan No. 95 tahun 2012 tentang Kesehatan Masyarakat Veteriner dan Kesejahteraan Hewan. Apabila regulasi tersebut dapat diterapkan dengan baik, maka dapat tercipta produk pangan asal hewan yang terhindar dari residu antibiotik dan terjamin keamanan pangan untuk masyarakat.

Pengendalian residu antibiotik di Indonesia juga membutuhkan pendekatan *one health* dengan upaya kolaborasi dari berbagai pihak, kerjasama dengan berbagai Kementerian, Lembaga pemerintah pusat dan daerah, sektor swasta, akademisi, praktisi, organisasi profesi agar peningkatan kesehatan masyarakat veteriner melalui pengendalian residu antibiotik pada produk pangan asal hewan dapat tercapai dengan baik. Menurut Agungpriyono et al. 2014, agar tercipta kerjasama yang harmonis dan sinergis maka semua orang dan pihak yang terkait dalam kerjasama seharusnya memiliki kesamaan persepsi, kemampuan berkomunikasi, adaptasi, dan toleransi yang baik.

KESIMPULAN

Enrofloksasin merupakan antibiotik famili dari fluorokuinolon (generasi kedua kuinolon). Enrofloksasin efektif untuk membunuh bakteri Gram positif dan negatif, sehingga digunakan untuk pengobatan berbagai penyakit pada hewan.

Penggunaan antibiotik enrofloksasin secara tidak tepat dapat menimbulkan residu pada produk pangan asal hewan, resistensi mikroba dan toksisitas, sehingga penggunaannya perlu diawasi dan dievaluasi demi kesehatan hewan dan masyarakat.

DAFTAR PUSTAKA

- Agungpriyono S, Purnawarman T, Suprayogi A. 2014. Pengembangan kompetensi utama *one health* (*one health core competency*, OHCC) dalam kurikulum pendidikan kedokteran hewan. Prosiding Konferensi Ilmiah Veteriner Nasional ke-13. Palembang (Indonesia): PDHI. hlm. 169-171.
- As ZA, Hardiono, Syarifudin A. 2014. Percobaan produksi biogas dari kotoran sapi dan kotoran ayam dengan penambahan enzim papain. *J Kes Ling*. 11:177-183.
- Asredie T, Engdaw TA. 2015. Antimicrobial residues in cow and its public health significance. *J Dairy Food Sci*. 10:147-153.
- Babaahmady E, Khosravi A. 2011. Toxicology of baytril (enrofloxacin). *Afr J Pharm Pharmacol*. 5:2042-2045.
- Bilandzic N, Kolanovic BS, Varenina I, Jurković Z. 2011. Concentrations of veterinary drug residues in milk from individual farms in Croatia. *Mljekarstvo*. 61:260-267.
- [CODEX] Codex Alimentarius Commission. 2017. Information to the database on countries needs for MRLs [Internet]. [diunduh 18 Mei 2019]. Tersedia pada: http://www.fao.org/fao-who-odexalimentarius/shproxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FCircular%252520Letters%252FCircular%2525202016-42%252FCL16_42e.pdf.
- Davis JL, Foster DM, Papich MG. 2007. Pharmacokinetics and tissue distribution of enrofloxacin metabolite ciprofloxacin in calves. *J Vet Pharmacol Therap*. 30:564-571.
- De Briyne N, Atkinson J, Borriello SP, Pokludová L. 2014. Antibiotics used most commonly to treat animals in Europe. *Vet Rec*. 175:325. doi: 10.1136/vr.102462.
- Dianawati M, Mulijanti SL. 2015. Peluang pengembangan biogas di sentra sapi perah. *J Lit Pertanian*. 34:125-134.
- Dimitrieska-Stojkovic E, Hajrulai-Musliu Z, Stojanovska-Dimzoska B, Sekulovski P, Uzunov R. 2011. Screening of veterinary drug residues in milk from individual farms in Macedonia. *Mac Vet Rev*. 34:5-13.
- Drlica K, Perlin DS. 2011. Antibiotic resistance: understanding and responding to an emerging crisis. Saddle River (New Jersey): FT Press.
- Duan X, Ocen D, Wu F, Li M, Yang N, Xu J, Chen H, Huang L, Jin Z, Xu X. 2014. Purification and characterization of a natural antioxidant peptide from fertilized eggs. *Food Res Int*. 56:18-24.
- Hermo MP, Nemutlu E, Kir S, Barrón D, Barbosa J. 2008. Improved determination of quinolones in milk at their MRL levels using LC-UV, LC-FD, LC-MS and LC-MS/MS and validation in line with regulation 2002/657/EC. *Anal Chim Acta*. 613:98-107.
- Hrubá H, Abdelsalam EEE, Anisimov N, Bandouchova H, Havelkova B, Heger T, Kanova M, Kovacova V, Nemcova M, Piacek V, Sedlackova J, Vitula F, Pikula J. 2019. Reproductive toxicity of fluorokinolones in birds. *BMC Vet Res*. 15:1-8.
- Idowu OR, Peggins JO. 2004. Simple, rapid determination of enrofloxacin and ciprofloxacin in bovine milk and plasma by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J Pharm Biomed Anal*. 35:143-153.
- Idowu OR, Peggins JO, Cullison R, Bredow JV. 2010. Comparative pharmacokinetics of enrofloxacin and ciprofloxacin in lactating dairy cows and beef steers following intravenous administration of enrofloxacin. *Res Vet Sci*. 89:230-235.
- Islam A, Saifuddin AKM, Al faruq A, Islam S, Shano S, Alam M, Hassan MM. 2016. Antimicrobial residues in tissues and eggs of laying hens at Chittagong, Bangladesh. *Int J One Health*. 2:75-80.
- Jayalakshmi K, Paramasivam M, Sasikala M, Tamilm TV, Sumithra A. 2017. Review on antibiotic residues in animal products and its impact on environments and human health. *J Entomol Zool Std*. 5:1446-1451.
- Jernberg C, Löfmark S, Edlund C, Jansson J. 2010. Long-term impacts of antibiotic exposure on the human intestinal microbiota. *Microbiol*. 156:3216-3223.
- Kang JW, Hossain MA, Park HC, Kim YS, Lee KJ, Park SW. 2019. Pharmacokinetic and pharmacodynamic integration of enrofloxacin against *Salmonella enteritidis* after administering to broiler chicken by per-oral and intravenous routes. *J Vet Sci*. 20:e15. doi: 10.4142/jvs.2019.20.e15.
- Kumar VS. 2012. Residue profile of enrofloxacin and its primary metabolite ciprofloxacin in broiler chicken [Tesis]. [Chennai (India)]: University Chennai.
- Li J, Hao H, Cheng G, Wang X, Ahmed S, Shabbir MAB, Liu Z, Dai M, Yuan Z. 2017. The effects of different enrofloxacin dosages on clinical efficacy and resistance development in chickens experimentally infected with *Salmonella typhimurium*. *Sci Rep*. 7:11676.
- Logue CM, Barbieri NL, Nielsen DW. 2017. Pathogens of food animals: Sources, characteristics, human risk, and methods of detection. *Adv Food Nutr Res*. 82:277-365. doi: 10.1016/bs.afnr.2016.12.009.
- López-Cadenas C, Sierra-Vega M, García-Vieitez J, Díez-Liébana M, Sahagún-Prieto A, Fernández-Martínez N. 2013. Enrofloxacin: Pharmacokinetics and

- metabolism in domestic animal species. *Curr Drug Metab.* 14:1042-1058.
- Mahmood T, Abbas M, Ilyas S, Fzal N, Nawaz R. 2016. Quantification of fluorokuinolone (enrofloxacin, norfloxacin and ciprofloxacin) residues in cow milk. *IJCBS.* 10:10-15.
- Mahmoudi R, Norian R. 2015. Determination of enrofloxacin residue in chicken eggs using FPT and ELISA methods. *JRH.* 5:159-164.
- Mansouri-najand L, Saleha AA, Wai SS. 2012. Prevalence of multidrug resistance *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in chickens slaughtered in selected markets, Malaysia. *Trop Biomed.* 29:231-238.
- Marshall BM, Levy SB. 2011. Food animals and antimicrobials: impacts on human health. *Clin Microbiol Rev.* 24:718-733.
- Moghadam MM, Amiri M, Riabi HR, Riabi HR. 2016. Evaluation of antibiotic residues in pasteurized and raw milk distributed in the south of Khorasan-e Razavi province, Iran. *J Clin Diagn Res.* 10:31-35.
- Mohammed HA, Abdou AM, Eid AM, Zakaria AM. 2016. Rapid test for detection of enrofloxacin residues in liquid milk. *BVMJ.* 30:97-103.
- Moharana B, Venkatesh PK, Preetha SP, Selvasubramanian S. 2015. Quantitation of enrofloxacin residues in milk sample using RP-HPLC. *World J Pharm Pharmaceu Sci.* 4:1443-1450.
- Mourad G, Bettache G, Medjekal S. 2014. Composition and nutritional value of raw milk. *Issues Biol Sci Pharm Res.* 2:115-122.
- Navrátilová P, Vyháňáková J, Vorlová L. 2017. Detection of fluorokuinolone residues in milk using *Yersinia spp.* strains: Towards better sensitivity for flumequine determination. *J Vet Res.* 61:467-472.
- Niasono AB, Latif H, Purnawarman T. 2019. Resistensi antibiotik terhadap bakteri *Escherichia coli* yang diisolasi dari peternakan ayam pedaging di Kabupaten Subang, Jawa Barat. *J Vet.* 20:187-195.
- Nirala RK, Anjana K, Mandal KG, Jayachandran C. 2017. Persistence of antibiotic residue in milk under region of Bihar, India. *Int J Curr Microbiol App Sci.* 6:2296-2299.
- Nisha AR. 2008. Antibiotic residues - a global health hazard. *Vet World.* 1:75-377.
- [OIE] Office Internationale des Epizooties. 2018. OIE list of antimicrobials of veterinary importance [Internet]. [diunduh 13 Mei 2019]. Tersedia pada: https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Our_scientific_expertise/docs/pdf/AMR/A_OIE_List_antimicrobials_May2018.pdf.
- Panzenhagen PHN, Aguiar WS, Frasco BS, Pereira VLA, Abreu DLC, Rodrigues DP, Nascimento ER, Aquino MHC. 2016. Prevalence and fluorokuinolones resistance of *Campylobacter* and *Salmonella* isolates from poultry carcasses in Rio de Janeiro, Brazil. *Food Control.* 61:243-247.
- Papich MG. 2016. Saunders handbook of veterinary drugs. 4th ed. Amsterdam (Belanda): Elsevier BV.
- Piras C, Soggiu A, Greco V, Martino PA, Del Chierico F, Putignani L, Urbani A, Nally JE, Bonizzi L, Roncada P. 2015. Mechanism of antibiotic resistance to enrofloxacin in uropathogenic *Escherichia coli* in dog. *J Proteomics.* 127:365-376. doi: 10.1016/j.jprot.2015.05.040.
- Priyanka, Panigrahi S, Sheoran MS, Ganguly S. 2017. Antibiotic residues in milk- a serious public health hazard. *J Environ Life Sci.* 2:99-102.
- Raini M. 2016. Antibiotik golongan fluorokuinolone: Manfaat dan kerugian. *Media Litbangkes.* 26:163-174.
- Read AF, Woods RJ. 2014. Antibiotic resistance management. *Evol Med Public Health.* 2014:147. doi: 10.1093/emph/eou024.
- Roasto M, Juhkam K, Tamme T, Hörman A, Häkkinen L, Reinik M, Karu A, Hänninen ML. 2007. High level of antimicrobial resistance in *Campylobacter jejuni* isolated from broiler chickens in Estonia in 2005 and 2006. *J Food Prot.* 70:1940-1944.
- Santos L, Rosa J, Freitas A, Leston S, Barbosa J, Ramos F. 2019. Detection and quantification of 47 antibiotic residues in farmed European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) using a multi-class and multi-residue UHPLC-MS/MS method. *Food Addit Contam.* 36:561-570.
- Setiawan E; Widyati, Marpaung FR, Sukandar E, Susaniwati, Lukas DL, Wijono H, Warindra T, Kurniawan R, Wibowo T, Hendradi W, Costa MO, Aziz MHA, Roberts J. 2019. Kajian *narrative* terhadap profil farmakokinetik antibiotik pada pasien kritis: Implikasi terhadap ketercapaian target farmakokinetik-farmakodinamik. *Pharmaceu Sci Res.* 6:1-12. doi: 10.7454/psr.v6i1.4274.
- Smith JL, Drum DJV, Dai Y, Kim JM, Sanchez S, Maurer JJ, Hofacre CL, Lee MD. 2007. Impact of antimicrobial usage on antimicrobial resistance in commensal *Escherichia coli* strains colonizing broiler chickens. *Appl Environ Microbiol.* 73:1404-1414.
- Srinivasu M, Ahmad AH, Kumar N, Pant D, Ahmad W. 2017. Screening of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin residues by high performance liquid chromatography in cow milk of district Udham Singh Nagar, Uttarakhand. *Int J Livest Res.* 7:140-145.
- The European Commission. 2010. Commission Regulation (EU) No 37/2010 of 22 December 2009 on pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuffs of animal origin. Official Journal of the European Union. [Internet]. [diunduh 16 Mei 2019]. Tersedia pada: https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/files/eudralex/vol-5/reg_2010_37/reg_2010_37_en.pdf

- Trouchon T, Lefebvre S. 2016. A Review of enrofloxacin for veterinary use. *Open J Vet Med.* 6:40-58.
- Ventola CL. 2015. The antibiotic resistance crisis: Part 1: Causes and threats. *P T.* 40:277-283.
- Wang YC, Chan JPW, Yeh KS, Chang CC, Hsuan SL, Hsieh YM, Chang YC, Lai TC, Lin WH, Chen TH. 2010. Molecular characterization of enrofloxacin resistant *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolates. *Vet Microbiol.* 142:309-312.
- Wei Z, Wang Jinhua, Zhu L, Wang Jun, Zhu G. 2018. Toxicity of enrofloxacin, copper and their interactions on soil microbial populations and ammonia-oxidizing archaea and bacteria. *Sci Rep.* 8:5828. doi: 10.1038/s41598-018-24016-8.
- Widiastuti R. 2008. Residu enrofloksasin dan siprofloksasin pada ayam pedaging pasca pencekokan enrofloksasin. *JITV.* 13:150-154.
- [WHO] World Health Organization. 2017. Global antimicrobial resistance surveillance system (GLASS) report. [Internet]. [diunduh 18 Mei 2019]. Tersedia pada: <https://www.who.int/glass/resources/publications/early-implementation-report/en/>
- Zhang W, Zhang M, Chen K, Jin YH, Yan HY, Hu YM, Jin LS. 2019. Effects of enrofloxacin and Cu combined pollution on the activities of digestive enzymes of earthworm in soil. *J Appl Ecol.* 30:2049-2055.