FaST - Jurnal Sains dan Teknologi, Vol.10, No.2, Nov 2026
e-ISSN 2598-9596
DOI: https://doi.org/10.19166/jstfast.v10i2.11769
Available online at: https://ojs.uph.edu/index.php/FaSTJST/article/view/11769

Profil Gen Resistensi Antibiotik dan Uji Sensitivitas *Bacillus velezensis* Galur N1: Implikasi sebagai Kandidat Probiotik Unggas

Vivian Litanto[1], Hans Victor[1], Juandy Jo[1,2*]
[1]Program Studi Biologi, Universitas Pelita Harapan, Tangerang, Indonesia
[2]Mochtar Riady Institute for Nanotechnology, Universitas Pelita Harapan, Tangerang, Indonesia

ABSTRACT

Antibiotic resistance is one of the most serious global health threats, partly driven by extensive antibiotic use in the livestock industry. Probiotics, such as Bacillus species, are considered a promising antibiotic alternative in poultry farming. However, probiotic candidates must be evaluated for antibiotic resistance genes (ARGs) that could act as a new reservoir for resistance spread. This study assessed the phenotypic and genotypic antibiotic resistance profiles of B. velezensis N1, a strain isolated from the chicken crop in Indonesia with a published whole genome. Antibiotic susceptibility was assessed against 23 antibiotics using the Kirby-Bauer disc diffusion method, while ARGs were identified through whole-genome analysis using the Comprehensive Antibiotic Resistance Database. The results showed that while B. velezensis N1 was susceptible to 14 antibiotics, it was resistant to nine antibiotics, namely amoxicillin, ampicillin, methicillin, oxacillin, streptomycin, tetracycline, lincomycin, tiamulin, and rifampicin. This finding was corroborated by its genomic analysis, identifying genes of BcI (a beta-lactamase causing amoxicillin and ampicillin resistance); BcII (a class B metallo-beta-lactamase hypothesized to mediate methicillin and oxacillin resistance); aadK (an aminoglycoside 6-adenylyltransferase causing streptomycin resistance); tet(45) (mediating tetracycline resistance); lmrB and vmlR (related to lincomycin resistance); vmlR (associated with tiamulin resistance); and rpoB (a rifamycin-resistant RNA polymerase subunit gene causing rifampicin resistance). This concordance between phenotypic and genotypic resistance profiles suggested that antibiotic resistance in B. velezensis N1 was largely explainable at the genetic level, providing preliminary data relevant to the safety evaluation of this strain as a poultry probiotic candidate.

ARTICLE INFO

Keywords: *antibiotic resistance; Bacillus velezensis; disc diffusion; poultry probiotic; whole-genome sequencing*.

***Corresponding author**:
juandy.jo@uph.edu

Article history:
Submitted 2 Sep 2026
Revised 12 Oct 2026
Accepted 23 Oct 2026
Online Available 2 Nov 2026
Published 20 Nov 2026

CC BY SA

1. Pendahuluan

Resistensi antibiotik telah menjadi salah satu ancaman kesehatan global yang serius karena dapat menurunkan efektivitas terapi antibiotik serta meningkatkan morbiditas dan mortalitas di seluruh dunia [1]. Salah satu faktor yang berkontribusi terhadap perkembangan resistensi antibiotik adalah penggunaan antibiotik secara luas pada industri peternakan, termasuk peternakan unggas. Penekanan untuk mengoptimalkan pembiakan hewan mengakibatkan antibiotik sering digunakan untuk tujuan profilaksis maupun memicu pertumbuhan. Secara tidak langsung, antibiotik dapat memberikan tekanan selektif terhadap komunitas bakteri, sehingga mendorong peningkatan bakteri resisten dan akumulasi gen resistensi antibiotik (*antibiotic resistance genes*, ARG) [2].

Keberadaan bakteri dengan ARG pada peternakan unggas menjadi perhatian karena bakteri tersebut dapat menginfeksi manusia melalui rantai pangan, kontak langsung dengan hewan, dan paparan lingkungan. Saluran pencernaan unggas merupakan salah satu reservoir penting untuk berbagai bakteri yang membawa ARG. Di dalam ekosistem ini, ARG dapat berpindah antar bakteri melalui mekanisme *horizontal gene transfer* (HGT), seperti konjugasi, transformasi, dan transduksi [1]. Mekanisme tersebut akan mempercepat penyebaran resistensi antibiotik di dalam maupun di luar lingkungan peternakan [3].

Salah satu alternatif solusi terhadap meningkatnya penggunaan antibiotik pada peternakan unggas adalah dengan memberikan probiotik pada hewan unggas. Jenis probiotik yang umum digunakan adalah *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Clostridium*, dan *Bacillus species. Bacillus velezensis* dikenal sebagai salah satu spesies *Bacillus* yang paling multifungsional dengan kemampuan menghasilkan senyawa antimikroba, enzim ekstraseluler, serta memberikan efek positif terhadap performa pertumbuhan, respons imun dan komposisi mikrobiota usus inangnya [4], sehingga dapat dipergunakan sebagai probiotik untuk peternakan unggas.

FaST - Jurnal Sains dan Teknologi, Vol.10, No.2, Nov 2026
e-ISSN 2598-9596
DOI: https://doi.org/10.19166/jstfast.v10i2.11769
Available online at: https://ojs.uph.edu/index.php/FaSTJST/article/view/11769

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi keamanan *Bacillus velezensis* galur N1 yang diisolasi dari tembolok ayam sebagai kandidat probiotik untuk mendukung pertumbuhan unggas, melalui karakterisasi profil resistensi antibiotiknya. Profil resistensi antibiotik dari *B. velezensis* galur N1 dianalisis secara fenotipik dan genomik dalam penelitian ini, dengan data genom utuh dari *B. velezensis* N1 telah dipublikasikan sebelumnya [5]. Analisis ini penting karena galur probiotik yang membawa ARG berpotensi menjadi reservoir baru bagi penyebaran resistensi antibiotik [1]. Oleh karena itu, karakterisasi profil resistensi antibiotik *B. velezensis* N1 merupakan salah satu komponen penting dalam evaluasi keamanan yang komprehensif sebelum galur tersebut dapat direkomendasikan sebagai probiotik untuk mendukung pertumbuhan unggas.

2. Bahan dan Metode

2.1 Isolat Bakteri

Isolat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kultur bakteri *B. velezensis* N1 yang berasal dari tembolok ayam milik Program Studi Biologi, Universitas Pelita Harapan, Indonesia. *Whole-genome sequencing* untuk *B. velezensis* N1 telah dilakukan di Theragen Etex Bio Institute, Korea dengan platform Illumina Hiseq 2500 (Illumina, USA), dimana hasil genom utuhnya telah dipublikasikan [5]. Data genom *B. velezensis* N1 sudah dimasukkan ke *International Nucleotide Sequence Database Collaboration* (*accession number* BQFE00000000).

2.2 Uji Kerentanan Antibiotik

Metode difusi cakram Kirby-Bauer dilakukan berdasarkan metode dari *Clinical and Laboratory Standard Institute* [6]. *B. velezensis* N1 diinokulasi dalam *nutrient broth* (Merck, Jerman) dan diinkubasi pada suhu 37°C untuk mendapatkan kekeruhan setara 0,5 McFarland. Kultur cair diambil menggunakan kapas telinga steril dan ditekan ke dinding tabung reaksi untuk menghilangkan cairan berlebih, kemudian diusapkan secara merata pada media agar Mueller Hinton (Himedia, India). Hingga 15 menit setelah penggoresan bakteri, 23 cakram antibiotik, yaitu *Amoxicillin* (2 µg), *Ampicillin* (10 µg), *Bacitracin* (10 IU), *Cefoxitin* (30 µg), *Methicillin* (5 µg), *Oxacillin* (1 µg)), *Vancomycin* (30 µg), *Gentamicin* (10 µg), *Kanamycin* (30 µg), *Neomycin* (30 µg), *Streptomycin* (10 µg), T*etracycline* (30 µg), *Chloramphenicol* (30 µg), *Clindamycin* (2 µg), *Lincomycin* (2 µg)), *Erythromycin* (15 µg), *Tylosin* (30 µg), *Tiamulin* (30 µg), *Sulfonamide* (300 µg), *Ciprofloxacin* (5 µg), *Nalidixic Acid* (30 µg), *Ofloxacin* (5 µg), dan *Rifampicin* (5 µg) (Liofilchem, Italia) ditekan secara aseptik ke permukaan agar. Semua cawan petri kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dalam kondisi aerobik. Setelah inkubasi, digunakan penggaris untuk mengukur diameter zona hambat, termasuk diameter masing-masing cakram antibiotik (6 mm). Semua cakram antibiotik diuji dengan tiga kali ulangan teknis menggunakan suspensi bakteri dari satu kultur yang sama. Pemilihan antibiotik didasarkan pada ketersediaan di laboratorium Program Studi Biologi, Universitas Pelita Harapan, dan tidak berkaitan dengan frekuensi penggunaannya di industri peternakan. Kontrol negatif berupa cawan tanpa cakram antibiotik disertakan pada setiap pengujian (data tidak ditampilkan).

2.3 Analisis Bioinformatika

Genom utuh *B. velezensis* N1 telah disekuensing oleh Theragen Bio menggunakan Platform Illumina HiSeq 2500, dan datanya telah dipublikasikan sebelumnya [5]. Kualitas sekuens genom utuh *B. velezensis* N1 diperiksa menggunakan FastQC. Di dalam penelitian ini, perakitan kontig dilakukan menggunakan SPAdes. *Coverage* kontig diperiksa menggun*akan Qualimap 2*. Kontig yang telah dirakit kemudian diurutkan ulang terhadap *B. velezensis* BY6 (CP051011.1) sebagai genom referensi dengan menggunakan *Mauve Contig Mover*. Kontig yang telah diurutkan ulang tersebut digabungkan menjadi satu sekuens FASTA menggunakan Artemis. Genom lengkap tersebut selanjutnya dimasukkan ke DFAST untuk anotasi.

Sebanyak 49 sekuens genom dari *B. velezensis* dan *B. amyloliquefaciens* dipilih secara acak dari data genom NCBI RefSeq dengan kualitas setingkat kromosom atau lebih tinggi. Sekuens tersebut diunduh dalam format FASTA. *Average nucleotide identity* (ANI) dihitung menggunakan fastANI. Seluruh 49 genom yang telah diunduh beserta sekuens *B. velezensis* N1 dicantumkan dalam berkas

FaST - Jurnal Sains dan Teknologi, Vol.10, No.2, Nov 2026
e-ISSN 2598-9596
DOI: https://doi.org/10.19166/jstfast.v10i2.11769
Available online at: https://ojs.uph.edu/index.php/FaSTJST/article/view/11769

genome_list.txt, dan perbandingan all-versus-all dilakukan menggunakan perintah berikut: fastANI --ql genome_list.txt --rl genome_list.txt -o fastani_output.txt --matrix --threads 16. Matriks yang dihasilkan kemudian divisualisasikan dalam bentuk heatmap menggunakan skrip python yang disusun dengan bantuan Google Gemini.

Pohon filogenetik dari sekuens tersebut dibuat dengan terlebih dahulu memperoleh anotasi genom dalam format GFF menggunakan Bakta melalui Galaxy (usegalaxy.org) dengan parameter baku (*default*). Berkas GFF yang dihasilkan selanjutnya diproses menggunakan roary melalui Galaxy (usegalaxy.org) sebagai satu kesatuan dataset untuk memperoleh sekuens gen inti (*core gene*) yang telah dilaraskan (*aligned*). Sekuens gen inti hasil alarasan dalam format FASTA selanjutnya dianalisis lebih lanjut menggunakan iqtree2. Model substitusi DNA terbaik ditentukan terlebih dahulu dengan menjalankan perintah: iqtree2 -s ./cga.aln -st DNA -m MFP -bb 1000 -nt 16. Model yang diperoleh adalah GTR+F+R5, sehingga inferensi pohon filogenetik akhir dijalankan menggunakan perintah: iqtree2 -s ./cga.aln -m GTR+F+R5 -bb 1000 -nt 16 -pre final_tree. Berkas pohon yang dihasilkan kemudian divisualisasikan menggunakan iTOL (https://itol.embl.de/).

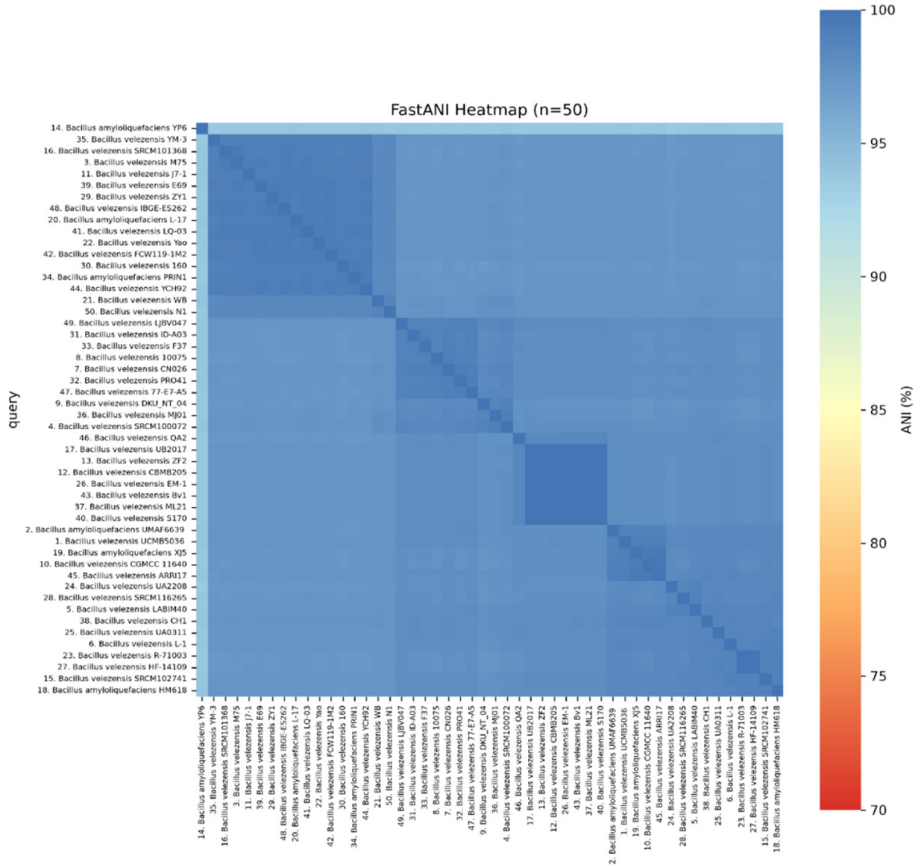
Gen resistensi antibiotik di dalam genom diperiksa menggunakan *Comprehensive Antibiotic Resistance Database* (CARD). Gen resistensi antibiotik diidentifikasi menggunakan aplikasi *Resistance Gene Identifier* (RGI) pada CARD, di mana RGI dapat memprediksi resistom antibiotik, yaitu kumpulan seluruh gen resistensi antibiotik pada bakteri patogen maupun non-patogen, dengan menggunakan kombinasi prediksi *open reading frame* melalui Prodigal, *sequence alignment* dengan BLAST, serta mutasi resistensi terkurasi (*curated*) dalam model deteksi resistensi antimikroba. Sekuens gen resistensi yang teridentifikasi diperiksa lebih lanjut menggunakan BLAST dan diperiksa silang dengan hasil DFAST. Kontig outlier diperiksa secara individual menggunakan BLAST dan kontig yang diduga plasmid juga diperiksa keberadaan gen resistensi antibiotiknya menggunakan CARD. Dilakukan penelusuran literatur dalam mengidentifkasi ARG yang telah dipublikasikan.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Analisis genom utuh *B. velezensis* N1

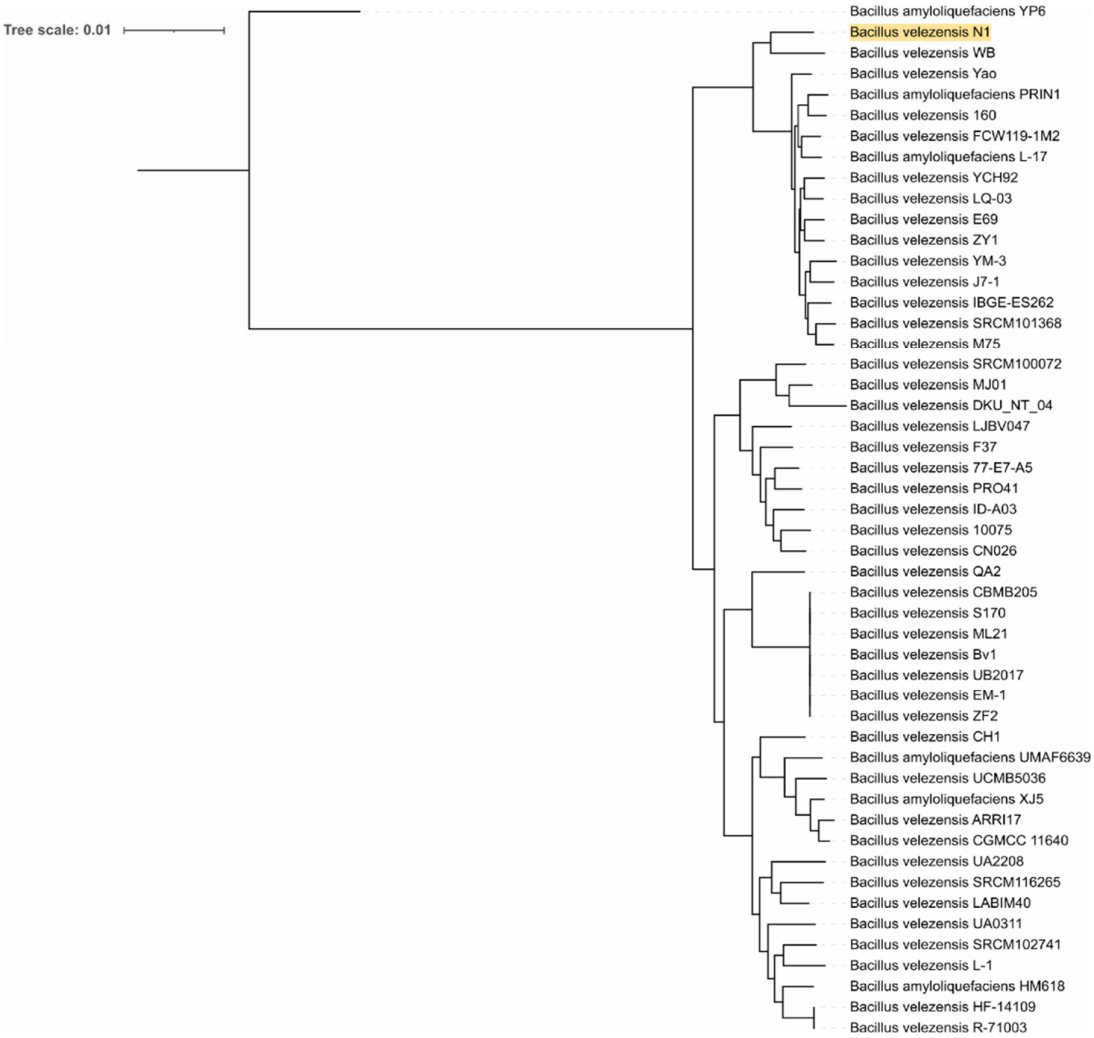
Berdasarkan hasil perakitan genom dan analisis bioinformatika, total panjang sekuens *B. velezensis* N1 adalah 3.878.255 *base pairs* dengan kandungan guanin-sitosin (GC) sebesar 46,51% [5]. Kemiripan genom N1 terhadap beberapa genom *B. velezensis* [5] dipastikan kembali dalam penelitian ini. Dari total 2.105 genom yang diperoleh dari basis data genom NCBI RefSeq, yang terdiri atas 1.779 genom *B. velezensis* dan 326 genom *B. amyloliquefaciens*, sebanyak 764 genom memiliki tingkat perakitan genom utuh (642 genom *B. velezensis* dan 122 genom *B. amyloliquefaciens*). Genom-genom tersebut kemudian dipilih secara acak (*random sampling*) untuk analisis lebih lanjut. Analisis heatmap melibatkan kedua spesies karena kekerabatannya yang sangat dekat, sehingga kesalahan klasifikasi taksonomi sering terjadi, terutama genom *B. amyloliquefaciens* yang tercatat sebagai *B. velezensis*, bahkan dalam basis data genom NCBI RefSeq NCBI. Kedua pendekatan *average nucleotide identity* (Gambar 1) dan *phylogenetic tree* (Gambar 2) menunjukkan bahwa genom N1 adalah sangat mirip dengan beberapa genom *B. velezensis*.

FaST - Jurnal Sains dan Teknologi, Vol.10, No.2, Nov 2026
e-ISSN 2598-9596
DOI: https://doi.org/10.19166/jstfast.v10i2.11769
Available online at: https://ojs.uph.edu/index.php/FaSTJST/article/view/11769



Gambar 1. Kemiripan *B. velezensis* N1 terhadap berbagai *genom B. velezensis* lainnya menggunakan pendekatan *average nucleotide identity*. Hasil analisis *average nucleotide identity* antara *B. velezensis* N1 and 49 genom B. *velezensis* dan *B. amyloliquefaciens* yang dipilih secara acak disajikan dalam bentuk *heatmap* dengan kisaran antara warna merah (70% mirip) dengan biru tua (100% mirip).

FaST - Jurnal Sains dan Teknologi, Vol.10, No.2, Nov 2026
e-ISSN 2598-9596
DOI: https://doi.org/10.19166/jstfast.v10i2.11769
Available online at: https://ojs.uph.edu/index.php/FaSTJST/article/view/11769



Gambar 2. Kemiripan *B. velezensis* N1 terhadap berbagai *genom B. velezensis* lainnya menggunakan pendekatan *phylogenetic tree*. *Core gene alignment* dari *B. velezensis* N1 (diwarnai kuning) and 49 genom *B. velezensis* dan B. *amyloliquefaciens* lainnya disajikan sebagai *phylogenetic tree*.

3.2 Profil resistensi antibiotik *B. velezensis* N1

Uji kerentanan *B. velezensis* N1 terhadap 23 jenis antibiotik dilakukan dengan metode difusi cakram Kirby-Bauer. Pengukuran zona hambat dan interpretasi dapat dilihat pada Tabel 1. Interpretasi mengacu pada standar EUCAST (*The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*) yang membagi hasil ke dalam tiga kategori, yaitu sensitif dengan regimen dosis standar (S), sensitif dengan peningkatan paparan (I), dan resisten (R). Mikroorganisme dikategorikan rentan apabila diameternya berada dalam kategori S atau I, sedangkan mikroorganisme dikategorikan resisten apabila hasilnya berada dalam kategori R [7]. Interpretasi hasil zona hambat pada penelitian ini mengadopsi standar CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) yang ditetapkan untuk genus *Staphylococcus* spp. [6].

FaST - Jurnal Sains dan Teknologi, Vol.10, No.2, Nov 2026
e-ISSN 2598-9596
DOI: https://doi.org/10.19166/jstfast.v10i2.11769
Available online at: https://ojs.uph.edu/index.php/FaSTJST/article/view/11769

Tabel 1. Hasil pengukuran zona hambat uji resistensi antibiotik *B. velezensis* N1

Kelas	Antibiotik	Standar Diameter Zona Hambat (mm)			Hasil (mm)
		S	I	R	Rata-rata (min - max)
Aminopenicillins	*Amoxicillin* 2 µg[B]	≥29	-	≤28	20,3 (19 - 23)
	Ampicillin 10 µg[A]	≥29	-	≤28	22,0 (20 - 23)
Polypeptide	*Bacitracin* 10 IU[A]	>13	-	-	13,6 (13 - 15)
Cephalosporins	*Cefoxitin* 30 µg[A]	≥22	-	≤21	25,6 (23 - 30)
Penicillinase resistant-penicillin	*Methicillin* 5 µg[C]	≥22	-	≤21	18,3 (17 - 21)
	Oxacillin 1 µg[A]	≥22	-	≤21	6,0 (6 - 6)
Glycopeptides	*Vancomycin* 30 µg[D]	≥12	10-11	≤9	21,0 (20 - 21)
Aminoglycosides	*Neomycin* 30 µg[A]	≥20	15-19	≤14	18,3 (16 - 20)
	Streptomycin 10 µg[A]	≥20	15-19	≤14	13,6 (12 - 15)
	Gentamicin 10 µg[A]	≥15	13-14	≤12	22,0 (19 - 25)
	Kanamycin 30 µg[A]	≥18	14-17	≤13	22,3 (20 - 25)
Tetracycline	*Tetracycline* 30 µg [A]	≥19	15-18	≤14	8,3 (6 - 13)
Phenicols	*Chloramphenicol* 30 µg[A]	≥18	13-17	≤12	31,3 (30 - 33)
Lincosamides	*Clindamycin* 2 µg[A]	≥17	-	<17	19,0 (18 - 20)
	Lincomycin 2 µg[D]	≥20	11-19	≤10	9,6 (8 - 11)
Macrolides	*Erythromycin* 15 µg[A]	≥24	-	<24	30,3 (28 - 33)
	Tylosin 30 µg [E]	≥20	15-19	≤14	19,0 (16 - 23)
Pleuromutilins	*Tiamulin* 30 µg[F]	≥20	15-19	≤14	12,3 (11 - 13)
Folate antagonists	*Sulfonamide* 300 µg [A]	≥17	13-16	≤12	28,3 (25 - 32)
Quinoloes	*Ciprofloxacin* 5 µg[A]	≥21	16-20	≤15	30,3 (28 - 33)
	Nalidixic acid 30 µg[A]	≥20	15-17	≤14	21,6 (21 - 23)
	Ofloxacin 5µg[A]	≥18	15-17	≤14	25,3 (21 - 28)
Ansamycins	*Rifampicin* 5 µg[A]	≥20	17-19	≤16	14,6 (9 - 20)

[A]*Zona hambat diinterpretasi berdasarkan standar CLSI terhadap Staphylococcus spp. [6].*
[B]*Standar untuk Amoxicillin 2 µg tidak tersedia, sehingga digunakan standar Ampicillin 10 µg.*
[C]*Standar untuk Methicillin 5 µg tidak tersedia, sehingga digunakan standar Oxacillin 1 µg.*
[D]*Standar untuk Vancomycin 30 µg dan Lincomycin 2 µg [11].*
[E]*Standar untuk Tylosin 30 µg tidak tersedia, sehingga digunakan standar Erythromycin 15 µg.*
[F]*Standar untuk Tiamulin 30 µg tidak tersedia, sehingga digunakan standar Lefamulin 20 µg.*
Hasil pengukuran sudah mencakup diameter cakram antibiotik (6 mm). S, sensitif dengan regimen dosis standar; I, sensitif dengan peningkatan paparan; R, resisten; -, data tidak tersedia. Hasil dari tiga kali pengulangan disajikan sebagai rata-rata (minimum hingga maksimum).

Berdasarkan hasil penelitian, *B. velezensis* N1 menunjukkan kerentanan terhadap 14 jenis antibiotik dari 23 jenis antibiotik yang diuji (Gambar 3 dan Tabel 1). Pola kerentanan yang bervariasi juga dilaporkan pada galur *B. velezensis* lain yaitu galur FJAT-10508 dan FJAT-13563 [8], P45 yang diisolasi dari usus ikan [9], dan *B. velezensis* diisolasi dari produk kedelai fermentasi asal Korea [10].

FaST - Jurnal Sains dan Teknologi, Vol.10, No.2, Nov 2026
e-ISSN 2598-9596
DOI: https://doi.org/10.19166/jstfast.v10i2.11769
Available online at: https://ojs.uph.edu/index.php/FaSTJST/article/view/11769



Gambar 3. Hasil uji representatif *B. velezensis* N1 terhadap 23 jenis antibiotik. Pengujian dilakukan dengan metode difusi cakram. Setiap cawan berisi 3-4 cakram antibiotik. Hasil diamati setelah inkubasi 24 jam pada suhu 37°C. (1) *Ampicillin* 10 µg , (2) *Amoxicillin* 2 µg , (3) *Bacitracin* 10 IU, (4) *Cefoxitin* 30 µg, (5) *Methicillin* 5 µg, (6) *Vancomycin* 30 µg, (7) *Neomycin* 30 µg, (8) *Oxacillin* 1 µg, (9) *Kanamycin* 30 µg, (10) *Tetracycline* 30 µg, (11) *Gentamicin* 10 µg, (12) *Streptomycin* 10 µg, (13) *Chloramphenicol* 30 µg, (14) *Lincomycin* 2 µg, (15) *Clindamycin* 2 µg, (16) *Erythromycin* 15 µg, (17) *Sulfonamide* 300 µg, (18) *Ciprofloxacin* 5 µg, (19) *Tiamulin* 30 µg, (20) *Tylosin* 30 µg, (21) *Nalidixic acid* 30 µg, (22) *Ofloxacin* 5 µg, (23) *Rifampicin* 5 µg.

Hasil pencarian ARG disajikan dalam Tabel 2. Pada golongan Aminopenicillin, *B. velezensis* N1 resisten terhadap *Amoxicillin* dan *Ampicillin*. Analisis genom menggunakan CARD mengidentifikasi gen pengkode BcI, yaitu beta-laktamase serin yang sering dijumpai di *Bacillus cereus*. Enzim beta-laktamase bekerja dengan menghidrolisis cincin beta-laktam yang merupakan gugus utama pada antibiotik golongan penisilin, sehingga menyebabkan antibiotik kehilangan aktivitasnya dan tidak mampu menghambat sintesis peptidoglikan pada dinding sel bakteri [12]. Berdasarkan klasifikasi Bush-Jacoby-Medeiros, BcI tergolong enzim grup 2A yang memiliki preferensi hidrolisis terhadap substrat Benzylpenicillin dan turunan penicillin, namun memiliki laju hidrolisis yang rendah terhadap *Cephalosporin*, *Carbapenem*, dan *Monobactam* [13]. Dengan demikian, resistensi fenotipik *B. velezensis* N1 terhadap *Amoxicillin* dan *Ampicillin* dapat dijelaskan melalui aktivitas enzimatik. *Amoxicillin* dan *Ampicillin* merupakan salah satu golongan antibiotik yang paling luas digunakan di industri peternakan unggas, baik untuk tujuan terapeutik maupun profilaksis, dan penggunaannya telah dilaporkan secara konsisten meningkatkan resistensi terhadap golongan *Aminopenicillin* pada bakteri usus unggas [14]. Mengingat *B. velezensis* N1 diisolasi dari tembolok ayam yang kemungkinan besar terpapar tekanan seleksi antibiotik golongan ini, keberadaan gen pengkode BcI dapat mencerminkan adaptasi terhadap lingkungan peternakan yang secara historis banyak menggunakan *Aminopenicillin*.

FaST - Jurnal Sains dan Teknologi, Vol.10, No.2, Nov 2026
e-ISSN 2598-9596
DOI: https://doi.org/10.19166/jstfast.v10i2.11769
Available online at: https://ojs.uph.edu/index.php/FaSTJST/article/view/11769

Tabel 2 Hasil temuan gen resistensi antibiotik *B. velezensis* N1 menggunakan CARD

Gen	Accession (Lokus)	Identity (%)	Keluarga gen AMR	Kelas Antibiotik	Mekanisme Resistensi
tet(45)	NZ_BQFE01000010.1 (BVN1_RS12040)	75,27	*Major Facilitator Superfamily* (MFS) *antibiotic efflux pump*	*Tetracycline*	Pompa eflux
lmrB	NZ_BQFE01000005.1 (BVN1_RS01300)	88,19	*ATP-binding cassette* (ABC) *antibiotic efflux pump*	*Lincosamides, Nucleoside*	Pompa eflux
rpoB	NZ_BQFE01000003.1 (BVN1_RS00540)	98,32	*rifamycin-resistant -subunit of RNA polymerase*	*Rifamycin*	Modifikasi/proteksi target
vmlR	NZ_BQFE01000005.1 (BVN1_RS02670)	70,98	*ABC-F subfamily ATP-binding cassette ribosomal protection proteins*	*Lincosamide, Streptogramin, Streptogramin A, Streptogramin B, Nucleoside, Pleuromutilin*	Proteksi target
BcI	NZ_BQFE01000007.1 (BVN1_RS05760)	62,42	*Class A Bacillus cereus Bc beta-lactamase*	*Penicillins, Cephalosporin*	Inaktivasi antibiotik
aadK	NZ_BQFE01000006.1 (BVN1_RS03325)	63,04	ANT(6)	*Aminoglycosides*	Inaktivasi antibiotik
BcII	NZ_BQFE01000007.1 (BVN1_RS05695)	*52,74*	*Subclass B1 Bacillus cereus Bc beta-lactamase*	*Cephalosporin, Penicillin beta-lactam*	Inaktivasi antibiotik

CARD, *Comprehensive Antibiotic Resistance Database*.
Gen resistensi antibiotik yang disajikan disesuaikan dengan hasil uji resistensi antibiotik di Tabel 1.

B. velezensis N1 juga menunjukkan resistensi terhadap *Methicillin dan Oxacillin* yang tergolong *penicillinase-resistant-penicillin*. Resistensi ini diduga dimediasi gen *BcII* yang mengkode beta-laktamase kelas B, yaitu *metallo-beta-lactamase* (MBL). MBL bergantung pada ion zink (Zn^{2+}) untuk mengaktivasi molekul air menjadi ion hidroksida untuk menyerang cincin beta-laktam. MBL mampu menghidrolisis hampir seluruh substrat dengan beta-laktam, termasuk *Penicillin*, *Cephalosporins*, dan *Carbapenem*. Meskipun demikian, *B. velezensis* N1 sensitif terhadap *Cefoxitin* karena kantong pengikat substrat (*substrate-binding pocket)* antar subkelas MBL berbeda-beda yang menentukan spesifisitas dan pola resistensi, sehingga aktivitas *BcII* pada *B. velezensis* N1 tidak berdampak pada *Cefoxitin* secara efektif [15].

Pada golongan *Aminoglycosides*, hanya *Streptomycin* yang menunjukkan resistensi, sedangkan *Neomycin* bersifat intermediet, serta *Gentamicin* dan *Kanamycin* sensitif. Pola ini selaras dengan temuan gen *aadK*, yang mengkode enzim *aminoglycoside O-nucleotidyltransferase* atau ANT(6), enzim yang secara spesifik memodifikasi *Streptomycin* melalui reaksi adenilasi dan telah dipetakan pada kromosom *B. subtilis* galur 168 [16]. Protein aadk termasuk salah satu dari lima enzim ANT(6) yang fungsinya telah dipublikasi dalam basis data CARD dan seluruhnya diketahui hanya memberikan resistensi terhadap *Streptomycin* [17].

Pada golongan *Tetracycline*, *B. velezensis* N1 menunjukkan resistensi fenotipik yang tinggi. Temuan ini selaras dengan keberadaan gen yang berpotensi memediasi resistensi, yaitu *tet(45)*, merupakan pompa eflux *Major Facilitator Superfamily* (MFS). *Tetracycline* bekerja dengan berikatan pada RNA ribosom 16S di subunit ribosom 30S, sehingga menghalangi penempelan aminoasil-tRNA pada sisi A ribosom dan menghentikan proses translasi. Keberadaan pompa eflux tersebut mengeluarkan antibiotik dari dalam sel, sehingga konsentrasi *Tetracycline* tidak mencapai kadar yang cukup untuk menghambat ribosom [18]. Gen *tet(45)* pertama kali dikarakterisasi dari isolat tanah yang terpapar

FaST - Jurnal Sains dan Teknologi, Vol.10, No.2, Nov 2026
e-ISSN 2598-9596
DOI: https://doi.org/10.19166/jstfast.v10i2.11769
Available online at: https://ojs.uph.edu/index.php/FaSTJST/article/view/11769

limbah peternakan unggas dan dilaporkan persisten di lingkungan tersebut [19]. Asal-usul karakterisasi *tet(45)* dari lingkungan yang terpapar limbah peternakan unggas juga relevan dikaitkan dengan konteks isolasi *B. velezensis* N1 dari tembolok ayam, yang kemungkinan turut terpapar tekanan seleksi antibiotik *Tetracycline* di lingkungan peternakan.

Pada golongan *Lincosamides*, *B. velezensis* N1 menunjukkan resistensi fenotipik terhadap *Lincomycin* yang diduga disebabkan oleh gen *lmrB* dan *vmlR*. Gen *lmrB* mengkode transporter eflux yang merupakan gen kedua pada operon *lmrAB*, dengan *lmrA* berperan sebagai represor operon tersebut. Fenotip resisten *Lincomycin* muncul ketika represi ini hilang, umumnya melalui mutasi pada daerah promotor *lmr* yang meningkatkan ekspresi *lmrAB*, dan inaktivasi *lmrB* pada mutan tersebut terbukti menghilangkan fenotip resistensinya [20]. Kondisi regulasi *lmrAB* pada *B. velezensis* N1 belum ditelusuri, sehingga tingkat kontribusi *lmrB* terhadap resistensi masih perlu dipastikan. Gen *vmlR*, yang spektrum aktivitasnya juga mencakup *Lincomycin* [20], diduga turut berkontribusi terhadap resistensi tersebut.

Pada golongan pleuromutilin, *B. velezensis* N1 menunjukkan resistensi fenotipik terhadap *Tiamulin*. Resistensi ini selaras dengan temuan gen *vmlR*, yang telah dikarakterisasi secara struktural pada *B. subtilis* sebagai mediator resistensi terhadap *Pleuromutilin* melalui mekanisme proteksi ribosom, yaitu protein vmlR berikatan dengan ribosom dan melepaskan antibiotik dari sisi ikatannya secara alosterik. Selektivitas protein vmlR bersifat sempit dan hanya mencakup *Virginiamycin M*, *Lincomycin*, serta *Tiamulin*, tanpa aktivitas terhadap *Chloramphenicol*, *Linezolid*, maupun *Erythromycin* [21].

Untuk *Rifampicin*, resistensi fenotipik yang teramati pada *B. velezensis* N1 sejalan dengan temuan gen *rpoB* varian resisten-rifampisin. Gen *rpoB* mengkode subunit *β RNA polimerase*, yang merupakan target molekuler *Rifampicin.* Mutasi pada gen ini merupakan mekanisme resistensi *Rifampisin* yang paling umum dan telah didokumentasikan secara luas pada berbagai spesies bakteri. Pada *B. velezensis*, mutasi *rpoB* yang berkontribusi terhadap resistensi *Rifampicin* bahkan dilaporkan turut memberikan efek pleiotropik terhadap fenotip lainnya, seperti produksi metabolit sekunder [22].

Beberapa keterbatasan penelitian ini perlu diakui. Pertama, hanya satu galur yang diteliti sehingga temuan ini tidak dapat digeneralisasikan untuk *Bacillus velezensis* sebagai spesies, mengingat adanya variasi profil resistensi dan kandungan genomik antar galur. Kedua, kerentanan antibiotik hanya dinilai melalui pengujian *in vitro*. Belum diketahui apakah fenotipe resistensi atau ARG yang teramati memiliki konsekuensi klinis maupun ekologis pada kondisi *in vivo*. Ketiga, belum adanya standar ukuran penghambatan dari berbagai antibiotik (seperti *Ampicillin* dan *Bacitracin*) untuk *B. velezensis*, sehingga zona hambat diinterpretasikan menggunakan standar CLSI untuk *Staphylococcus* spp. Selain itu, beberapa standar diekstrapolasi dari antibiotik yang berkerabat, yaitu *Ampicillin* untuk *Amoxicillin*, *Oxacillin* untuk *Methicillin*, *Erythromycin* untuk *Tylosin*, serta *Lefamulin* untuk *Tiamulin*. Meskipun pendekatan ini diambil sebagai acuan pragmatis karena tidak tersedianya standar yang tervalidasi, perbedaan fisiologi dinding sel, resistensi intrinsik, dan farmakodinamika obat antargenus maupun antarsenyawa dapat membatasi validitasnya. Dengan demikian, klasifikasi S/I/R yang disajikan dalam Tabel 1 perlu diinterpretasikan secara hati-hati. Terakhir, meskipun beberapa ARG yang teridentifikasi melalui analisis genom sesuai dengan profil resistensi fenotipik yang teramati, hubungan tersebut tidak dapat dianggap bersifat kausal karena analisis ekspresi gen dan validasi fungsional tidak dilakukan. Oleh karena itu, ARG yang terdeteksi melalui analisis genomik sebaiknya diinterpretasikan sebagai indikator potensi resistensi, bukan sebagai bukti langsung adanya aktivitas fenotipik.

4. Kesimpulan

B. velezensis N1 yang diisolasi dari tembolok ayam di Indonesia menunjukkan resistensi fenotipik terhadap sembilan dari 23 antibiotik yang diuji, yaitu *Amoxicillin*, *Ampicillin*, *Methicillin*, *Oxacillin*, *Streptomycin*, *Tetracycline*, *Lincomycin*, *Tiamulin*, dan *Rifampicin*. Analisis genom N1 mengidentifikasi keberadaan gen resistensi antibiotik yang berada dalam kromosom yang selaras dengan profil fenotipik, yaitu *tet(45)*, *lmrB*, *rpoB*, *vmlR*, *BcI*, *aadK*, dan *BcII*. Kesesuaian antara profil fenotipik dan genotipik ini menunjukkan bahwa sebagian pola resistensi antibiotik pada *B. velezensis* N1 dapat dijelaskan secara mekanistik melalui analisis genom, dan menjadi data awal yang relevan bagi evaluasi keamanan galur ini sebagai kandidat probiotik unggas. Namun perlu diperhatikan bahwa data resistensi

antibiotik hanya merupakan satu komponen dalam evaluasi keamanan yang komprehensif sebelum galur ini dapat direkomendasikan sebagai probiotik.

Acknowledgement
Para penulis berterima kasih kepada Dr. Reinhard Pinontoan yang mengijinkan penggunaan isolat *B. velezensis* N1.

Referensi

[1] Sanchez, H.M., Whitener, V.A., Thulsiraj, V., Amundson, A., Collins, C., Duran-Gonzalez, M., Giragossian, E., Hornstra, A., Kamel, S., Maben, A., Reynolds, A., Roswell, E., Schmidt, B., Sevigny, L., Xiong, C., Jay, J.A., "Antibiotic Resistance of Escherichia coli Isolated from Conventional, No Antibiotics, and Humane Family Owned Retail Broiler Chicken Meat," *Animals*, vol. 10, no. 12, p. 2217, Nov. 2020, https://doi.org/10.3390/ani10122217

[2] Checcucci A., Trevisi, P., Luise, D., Modesto, M., Blasioli, S., Braschi, I., Mattarelli, P., "Exploring the animal waste resistome: the spread of antimicrobial resistance genes through the use of livestock manure," *Frontiers in Microbiology*, vol. 11, p. 1416, Jul. 2020, https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01416

[3] McInnes, R.S., McCallum, G.E., Lamberte, L.E., Van Schaik W., "Horizontal transfer of antibiotic resistance genes in the human gut microbiome," *Current Opinion in Microbiology*, vol. 53, pp. 35–43, Feb. 2020, https://doi.org/10.1016/j.mib.2020.02.002

[4] Yu, L., Zhang, L., Zhang, S., Zhao, Y., Bi, Z., Xu, J., Fu, H., Zhang, X., "Effects of dietary Bacillus velezensis Y01 supplementation on growth performance, immune function, and cecal microbiota of 1 to 42 days Langya chickens," *BMC Microbiology*, vol. 25, no. 1, p. 288, May 2025, https://doi.org/10.1186/s12866-025-04008-1

[5] Pinontoan, R., Victor, H., Dikson, Tan, S.R.S., Tanudjaja, E., Cornelia, M., "Draft genome sequence of a malachite green-decolorizing Bacillus velezensis N1 isolated from Indonesian chicken crop," *Korean Journal of Microbiology*, vol. 58, Jan. 2022, https://doi.org/10.7845/kjm.2022.1101

[6] The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, 'New definitions of S, I and R from 2019 2022', in EUCAST, from https://www.eucast.org/newsiandr/.

[7] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: CSLI Supplement M100. 31st edition, 2021. USA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

[8] Mao, Y., Lou, X., Jianmei Che, J., Huang, X., Chen, Y., Lan, J., Chen, M., Liu, X., Huang, Q., Huang, X., Wang, J., "Screening and evaluation in vitro of Bacillus-Based probiotics for feed additives," *Microorganisms*, vol. 14, no. 4, p. 834, Apr. 2026, https://doi.org/10.3390/microorganisms14040834

[9] da Rosa, C.E., Pinilla, C.M.B., Toss, L.D., Brandelli A., "In Silico and In Vitro Characterization of Bacillus velezensis P45: Screening for a Novel Probiotic Candidate," *Foods*, vol. 14, no. 13, p. 2334, Jun. 2025, https://doi.org/10.3390/foods14132334

[10] Heo, G., Kong, H., Kim, N., Lee, S., Sul, S., Jeong, D., Lee, J., "Antibiotic susceptibility of Bacillus velezensis," FEMS microbiology letters, vol. 369, no. 1, p. fnac017, Nov. 2022, https://doi.org/10.1093/femsle/fnac017

[11] Wang, F., Wang. Y., Zhang, H., Zhao, B., Li, J., Shi, R., Chen, L., Zhang, Z., Shi, Q., Jia, Q., Wu, T., "Two strains of Bacillus velezensis : potent probiotics against Escherichia coli K99-induced diarrhea with high safety in mice," *Microbiology Spectrum*, vol. 13, no. 12, p. e0121425, Oct. 2025, https://doi.org/10.1128/spectrum.01214-25

[12] Chen, Y., Succi, J., Tenover, F.C., Koehler, T.M., "B-Lactamase genes of the Penicillin-SusceptibleBacillus anthracisSterne strain," *Journal of Bacteriology*, vol. 185, no. 3, pp. 823–830, Jan. 2003, https://doi.org/10.1128/jb.185.3.823-830.2003

[13] K. Bush and G. A. Jacoby, "Updated Functional Classification of -Lactamases," Antimicrobial Agents and Chemotherapy, vol. 54, no. 3, pp. 969–976, Dec. 2010, https://doi.org/10.1128/aac.01009-09

[14] Burow, E., Grobbel, M., Tenhagen, B., Simoneit, C., Szabó, I., Wendt, D., Kürbis, C., Ladwig-Wiegard, M., Banneke, S., Käsbohrer, A., "Antibiotic Resistance in Escherichia coli from Broiler

Chickens After Amoxicillin Treatment in an Experimental Environment," *Microbial Drug Resistance*, vol. 26, no. 9, pp. 1098–1107, Sep. 2020, https://doi.org/10.1089/mdr.2019.0442

[15] Yun, Y., Han, S., Park, Y.S., Park, H., Kim, D., Kim, Y., Kwon, Y., Kim, S., Lee, J.H., Jeon, J.H., Lee, S.H., Kang, L., "Structural insights for core scaffold and substrate specificity of B1, B2, and B3 Metallo-B-Lactamases," *Frontiers in Microbiology*, vol. 12, p. 752535, Jan. 2022, https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.752535

[16] Noguchi, N., Sasatsu, M., Kono, M., "Genetic mapping in Bacillus subtilis 168 of the aadK gene which encodes aminoglycoside 6-adenylyltransferase," *FEMS Microbiology Letters*, vol. 114, no. 1, pp. 47–52, Nov. 1993, https://doi.org/10.1016/0378-1097(93)90140-w

[17] Lu, J., Sha, Y., Gao, M., Shi, W., Lin, X., Kewei Li, K., Bao, Q., Feng, C., "Identification and characterization of a novel aminoglycoside O-nucleotidyltransferase ANT(6)-If from Paenibacillus thiaminolyticus PATH554," *Frontiers in Microbiology*, vol. 14, p. 1184349, Jun. 2023, https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1184349

[18] T. H. Grossman, "Tetracycline Antibiotics and Resistance," Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine, vol. 6, no. 4, Mar. 2016, https://doi.org/ 10.1101/cshperspect.a025387

[19] You, Y., Hilpert, M., Ward, M.J., "Identification of Tet45, a tetracycline efflux pump, from a poultry-litter-exposed soil isolate and persistence of tet(45) in the soil," *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, vol. 68, no. 9, pp. 1962–1969, Apr. 2013, https://doi.org/10.1093/jac/dkt127

[20] Yoshida, K., Ohki, Y., Murata, M., Kinehara, M., Matsuoka, H., Satomura, T., Ohki, R., Kumano, M., Yamane, K., Fujita, Y., "Bacillus subtilisLMRA is a repressor of theLMRABandyxaGHOperons: identification of its binding site and functional analysis ofLMRBandyxaGH," *Journal of Bacteriology*, vol. 186, no. 17, pp. 5640–5648, Aug. 2004, https://doi.org/10.1128/jb.186.17.5640-5648.2004

[21] Crowe-McAuliffe, C., Graf, M., Huter, P., Takada, H., Abdelshahid, M., Nováček, J., Murina, V., Atkinson, G.C., Hauryliuk, V., Wilson, D.N., "Structural basis for antibiotic resistance mediated by the Bacillus subtilis ABCF ATPase VmlR," Proceedings of the National Academy of Sciences, vol. 115, no. 36, pp. 8978–8983, Aug. 2018, https://doi.org/10.1073/pnas.1808535115

[22] Cai, X., Xi, H., Liang, L., Liu, J., Liu, C., Xue, Y., Yu, X., "Rifampicin-resistance mutations in the rpoB gene in Bacillus velezensis CC09 have Pleiotropic Effects," Frontiers in Microbiology, vol. 08, p. 178, Feb. 2017, https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00178