

**DETEKSI FENOTIP ISOLAT BAKTERI *Klebsiella pneumoniae* RESISTEN KARBAPENEM PENGHASIL ENZIM METALLO BETA LAKTAMASE DENGAN METODE TES SINERGI DISK GANDA (DDST) PADA PASIEN INFEKSI DI RSUP DR WAHIDIN SUDIROHUSODO MAKASSAR TAHUN 2019**

**Muhammad Jen Hamdani**

**N012171038**



**PROGRAM PASCASARJANA**

**UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2021**

**DETEKSI FENOTIP ISOLAT BAKTERI *Klebsiella pneumoniae* RESISTEN KARBAPENEM PENGHASIL ENZIM METALLO BETA LAKTAMASE DENGAN METODE TES SINERGI DISK GANDA (DDST) PADA PASIEN INFEKSI DI RSUP DR WAHIDIN SUDIROHUSODO MAKASSAR TAHUN 2019**

TESIS

Sebagai Salah Satu Syarat untuk mencapai Gelar Magister

Program Studi

Magister Ilmu Farmasi

Disusun dan diajukan oleh

**MUHAMMAD JEN HAMDANI**

Kepada

**SEKOLAH PASCASARJANA**

**UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2021**

TESIS

DETEKSI FENOTIP ISOLAT BAKTERI *Klebsiella pneumoniae*  
RESISTEN KARBAPENEM PENGHASIL ENZIM METALLO BETA  
LAKTAMASE DENGAN METODE TES SINERGI DISK GANDA  
(DDST) PADA PASIEN INFEKSI DI RSUP DR WAHIDIN  
SUDIROHUSODO MAKASSAR TAHUN 2019

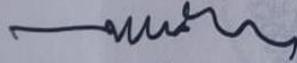
Disusun dan diajukan oleh

MUHAMMAD JEN HAMDANI  
Nomor Pokok N012171038

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis  
pada tanggal 11 Agustus 2021  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

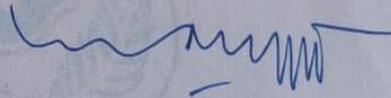
Menyetujui

Komisi Penasehat



Prof. Dr. H.M. Natsir Djide, MS, Apt.

Ketua

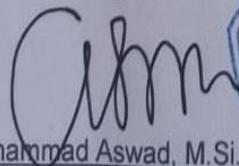


Prof. dr. Mansyur Arief, Sp.PK (K), Ph.D.

Anggota

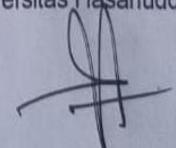
Ketua Program Studi

Magister Ilmu Farmasi

  
Muhammad Aswad, M.Si., Ph.D., Apt.

Dekan Fakultas Farmasi

Universitas Hasanuddin

  
Prof. Subehan, M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.

## PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Muhammad jen Hamdani

Nomor Mahasiswa : N012171038

Program studi : Magister Farmasi

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 11 Agustus 2021

Yang menyatakan



Muhammad Jen Hamdani

## PRAKATA

*Alhamdulillahirabbil'alamin*, segala puji bagi Allah Subhana WA Taala atas segala limpahan rahmat, karunia dan ridah-Nya, sehingga penulis dapat merampungkan tesis yang berjudul "*Deteksi Fenotip Isolat Bakteri Klebsiella pneumoniae Resisten Karbapenem penghasil Enzim Metallo Beta-lactamase dengan Metode Tes Sinergi Disk Ganda (DDST) pada Pasien Infeksi di RSUP Dr Wahidin Sudirohusodo Makassar tahun 2019*" sebagai salah satu persyaratan untuk menyelesaikan studi di Sekolah Pasca sarjana Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin Makassar.

Dalam penyusunan dan penyelesaian tesis ini terdapat berbagai hambatan. Namun hal tersebut dapat teratasi berkat bimbingan, bantuan, perhatian, dorongan dan kerjasama dari berbagai pihak. Dengan kerendahan dan keikhlasan hati penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada bapak Prof. Dr. H. M. Natsir Djide, M.S., Apt, sebagai Ketua Komisi Penasehat dan Prof. dr. Mansyur Arief, Sp.PK (K), Ph.D. sebagai Anggota Komisi Penasehat dimana dalam kesibukan aktivitasnya beliau menyempatkan membimbing dan memberi arahan mulai dari awal pengembangan minat terhadap permasalahan penelitian ini, sampai dengan penulisan tesis ini. Tak lupa pula penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Subehan, M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt, selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
2. Muhammad Aswad, M.Si., Ph.D., Apt, selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Farmasi Universitas Hasanuddin
3. Prof. dr. Muh. Nasrum Massi, Ph.D., Dr. Herlina Rante, M.Si., Apt, dan Muhammad Aswad, M.Si., Ph.D., Apt, selaku Komisi Penguji yang banyak memberikan masukan dan saran dalam penulisan tesis ini.
4. Dosen dan staf Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin Makassar
5. Ayahanda La Hujairi, SE dan Ibunda Wa Hania yang senantiasa memberikan kasih sayang, support dan menghadirkan ananda dalam setiap doanya.
6. Saudariku dr. Ditta Septia Wulandari dan Mita Yustika Ningsi, dan terkhusus untuk istri tercinta Wa Isma, Amd.Farm dan anak tersayang Azkannisa Hafiza Hamdani yang telah memberikan pengertian dan pengorbanan, dukungan semangat dan doa yang tulus dan kasih sayang kepada penulis dalam menyelesaikan pendidikan.
7. Seluruh rekan-rekan Sekolah Pasca sarjana Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin Makassar Angkatan 2017 yang senantiasa memberikan bantuan, dorongan dan kritik saran kepada penulis.
8. Tak lupa juga kepada Instalasi Laboratorium Patologi Klinik RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar, khususnya pada Sub Divisi Infeksi Tropis atas segala bantuan dan arahan selama penelitian berlangsung.

Akhirnya penulis berharap semoga tesis ini bermanfaat bagi kita semua dan dapat memberikan sumbangan bagi perkembangan Ilmu Pengetahuan dan pelayanan kesehatan di masa mendatang. Semoga Allah SWT, senantiasa memberkati setiap langkah pengabdian kita. Amin.

Makassar, 11 Agustus 2021

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Jen Hamdani', written in a cursive style.

Muhammad Jen Hamdani

## ABSTRAK

M. Jen Hamdani. *Deteksi Fenotip Isolat Bakteri Klebsiella pneumoniae Resisten Karbapenem penghasil Enzim Metallo Beta-lactamase dengan Metode Tes Sinergi Disk Ganda (DDST) pada Pasien Infeksi di RSUP Dr Wahidin Sudirohusodo Makassar tahun 2019* (Dibimbing oleh M. Natsir Djide dan Mansyur Arief).

Resistan bakteri terhadap antibiotika merupakan salah satu faktor meningkatnya kegagalan terapi infeksi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui prevalensi kejadian *Klebsiella pneumoniae* yang resistensi terhadap antibiotika golongan carbapenem pada pasien infeksi di RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar dan prevalensi fenotip isolat *Klebsiella pneumoniae* penghasil *Metallo Beta-Lactamase* (MBL) yang resistan terhadap carbapenem pada pasien infeksi di RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar.

Pengujian yang dilakukan meliputi identifikasi bakteri *Klebsiella pneumoniae* pada setiap isolat pasien infeksi dan uji sensitivitas antibiotika menggunakan metode difusi agar *Kirby-Bauer*, *Phenotypic confirmatory Test* dengan menggunakan Vitec 2 compact serta Uji fenotip enzim *Metallo Beta-lactamase* (MBL) menggunakan metode *Tes Sinergi Disk Ganda (DDST)*.

Hasil penelitian menunjukkan uji sensitivitas antibiotika menggunakan metode Vitec 2 compact pada 50 sampel klinis (pus, sputum, darah, jaringan, urine, cairan otak, dan feses), yang diuji terhadap antibiotika golongan carbapenem dimana terdapat 10 isolat (20%) telah resistan. Pada uji fenotip dengan metode *Tes Sinergi Disk Ganda (DDST)*, isolat *Klebsiella pneumoniae* yang resistan carbapenem, disebabkan oleh adanya produksi enzim metallo beta-lactamase (MBL) sebanyak 2 isolat atau 20% dari total isolat yang resistan terhadap antibiotika golongan carbapenem.

Kata Kunci : Carbapenem, *Tes Sinergi Disk Ganda (DDST)*, *Klebsiella pneumoniae*, *Metallo Beta-lactamase* (MBL)

## ABSTRACT

M. Jen Hamdani. Phenotypic detection of *Klebsiella pneumoniae* bacterial isolat carbapenem-resistance produces Metallo Beta-Lactamase Enzyme with the Double Disc Synergy Test (DDST) method infection patients at Dr. Wahidin Sudirohusodo Hospital Makassar in 2019 (supervised by M. Natsir Djide and Mansyur Arief).

Bacterial antibiotic resistance is one of the factors increasing the failure of anti-infective therapy. This study aimed to identify the prevalence of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* and phenotypic isolat of carbapenem-resistant Metallo-Beta-Lactamase (MBL)-producing *Klebsiella pneumoniae* in infected patients in Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar Hospital.

The evaluations carried out were the sensitivity test of antibiotics, phenotypic confirmatory test, and MBL phenotypic test using agar diffusion Kirby-Bauer, Vitec 2 Compact, and Double Disc Synergy Test (DDST) method, respectively.

The results showed that amongst 50 clinical samples (pus, sputum, Blood, tissue, urine, brain fluid, and feces) tested, there were 10 isolats (20% of all samples) which were resistant, evaluated by the antibiotic sensitivity test using the Vitec 2 compact method against the carbapenem class antibiotics. In the phenotype test using the Double Disk Synergy Test (DDST) method, *Klebsiella pneumoniae* isolats were carbapenem-resistant, caused by the production of 2 isolats Metallo-beta-lactamase (MBL) enzyme or 20% of the total isolats resistant to the carbapenem class of antibiotics.

Keywords: Carbapenem, Double Disc Synergy Test (DDST), *Klebsiella pneumoniae*, Metallo-Beta-Lactamase

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
PRAKATA	v
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	5
D. Manfaat Penelitian	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	7
B. Antibiotik	9
C. Beta-lactam	10
D. Carbapenem	13

E. Mekanisme Resistensi Bakteri Terhadap Beta-lactam	15
F. Carbapenemase	16
1. Class A Serin Carbapenemases	17
2. Class B MBLs	18
3. Class D Serin Carbapenemases	19
G. Metallo Beta-lactamase (MBL)	19
H. Vitec 2 Compact	21
I. Metode deteksi MBL	24
J. Kerangka Teori	26
K. Kerangka Konsep	27
III. METODE PENELITIAN	
A. Jenis Rancangan Penelitian	28
B. Waktu dan Tempat Penelitian	28
C. Alat dan Bahan	28
1. Alat	28
2. Bahan	28
D. Populasi dan Sampel Penelitian	29
E. Cara Kerja	30
1. Pengambilan Sampel	30
a. Sampel Urine	30
b. Sampel Sputum	31
c. Sampel Pus	31
d. Sampel Darah	31

e. Sampel Serebrospinal (CSF)	32
2. Isolasi dan Identifikasi Bakteri	32
a. Isolasi	32
b. Identifikasi Bakteri	33
3. Uji sensitivitas dengan menggunakan VITEC 2 Compact	33
4. Deteksi fenotip dengan menggunakan metode Tes sinergi disk ganda (DDST)	34
5. Skema Kerja	35
IV. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	
A. Karakteristik Pasien	38
B. Hasil Uji Resistensi Carbapenem pada <i>Klebsiella Pneumoniae</i>	45
1. Identifikasi Bakteri	45
2. Uji Resistensi	48
V. PENUTUP	
A. Kesimpulan	54
B. Saran	54

#### DAFTAR PUSTAKA

#### LAMPIRAN

## DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Data demografi pasien	39
2. Distribusi subjek penelitian berdasarkan diagnose penyakit	41
3. Jenis golongan antibiotika	43
4. Hasil identifikasi bakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i> dengan menggunakan <i>Vitec 2 Compact</i>	45
5. Hasil uji <i>Phenotypic Confirmatory Test Klebsiella pneumoniae</i> pada carbapenem dengan menggunakan <i>Vitec 2 Compact</i>	48
6. Hasil uji <i>Phenotypic Confirmatory Test MBL Klebsiella pneumoniae</i> terhadap antibiotika golongan carbapenem dengan menggunakan metode <i>Tes sinergi disk ganda (DDST)</i>	50

## DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Grafik diagnose penyakit pada pasien infeksi di RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar dengan 50 subjek penelitian pada periode April – Juli 2019	42
2. Grafik frekuensi penggunaan antibiotika pada pasien infeksi di RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar dengan 50 subjek penelitian pada periode April – Juli 2019	45
3. Grafik kejadian resistensi antibiotika carbapenem terhadap 50 bakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i> dari 50 sampel klinik di RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar	48
4. Grafik frekuensi strain penghasil MBL <i>Klebsiella pneumoniae</i> terhadap antibiotika carbapenem pada pasien infeksi di RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar dengan 50 subjek penelitian pada periode April – Juli 2019	52
5. Gambar Pertumbuhan Mucoïd pada <i>Mac Conkey Agar</i>	8
6. Gambar struktur golongan carbapenem	14
7. Gambar Hasil metode DDST	65
8. Gambar Vitec 2 Compact	65
9. Gambar Hasil Uji Fenotip enzim MBL Tes Sinergi Disk Ganda (DDST)	66
10. Gambar Isolat <i>Klebsiella Pneumoniae</i> pada medium TSIA	66
11. Gambar Paper Disc Antibiotika (Imipenem 10 µg)	67

## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Nomor</b>		<b>Halaman</b>
1.	Data Uji sensitivitas antibiotik carbapenem terhadap <i>Klebsiella pneumoniae</i>	63
2.	Data hasil uji fenotip konfirmasi MBL dengan metode Tes Sinergi Disk Ganda (DDST)	64
3.	Gambar hasil pengamatan	66
4.	Rekomendasi Komisi Etik	68
5.	Permohonan izin penelitian	69
6.	Laboratory report	70

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar belakang**

Resistensi antimicrobial telah diidentifikasi sebagai salah satu ancaman terbesar bagi kesehatan manusia di masa depan, dengan peningkatan jumlah strain mikroba yang resistan dilaporkan setiap tahun pada populasi manusia dan hewan di Negara maju dan berkembang. Organisasi kesehatan dan lembaga penelitian telah menyerukan kontrol yang lebih ketat atas distribusi dan penggunaan antibiotik di masyarakat, dengan penekanan pada resep dan dispensing antibiotika lini depan. Sementara upaya telah dilakukan selama bertahun-tahun untuk mempromosikan penggunaan obat secara rasional, misalnya melalui jaringan internasional WHO tentang program penggunaan obat secara rasional (INRUD) (Chandler, 2017).

Anggota keluarga Enterobacteriaceae yang kebal terhadap beberapa kelas antimicrobial telah banyak tumbuh, dan dokter semakin beralih ke agen dari kelas carbapenem sebagai pilihan terakhir untuk pengobatan efektif infeksi serius yang disebabkan oleh patogen ini. Mekanisme yang mendasari resistensi carbapenem dalam Enterobacteriaceae kompleks ini mencakup produksi carbapenem-hidrolisis- $\beta$ -lactamase (CRE [CP-CRE] penghasil carbapenemase) dan resistensi karena adanya kombinasi faktor lain (non-CP-CRE), seperti

hyperproduces Ampc beta-lactamase atau extended-spectrum-beta-lactamase (ESBL) di kombinasi dengan permeabilitas membran yang berubah (Roe-carpenter *et al*, 2017).

Selama dekade terakhir ini, munculnya bakteri penghasil beta-lactamase spektrum luas dan Enterobacteriaceae yang resistan terhadap carbapenem telah menjadi ancaman dunia bagi kesehatan masyarakat. Dari tahun 2001 hingga 2012, tingkat resistensi terhadap imipenem mencapai 30% di beberapa daerah epidemi di Timur Tengah, sementara dua negara Asia teratas dengan tingkat resistensi tertinggi terhadap imipenem adalah Indonesia (6%) dan Filipina (4%). 2009 gen New Delhi metallo- $\beta$ -lactamase (blaNDM-1) ditemukan dalam sampel *Klebsiella pneumoniae* di Indonesia (Parathon H, 2017).

*Klebsiella pneumoniae* adalah bakteri gram-negatif berbentuk non-motil batang aerobik yang menyebabkan berbagai infeksi di rumah sakit. Bakteri ini berkoloni pada berbagai inang mulai dari tanaman hingga mamalia, tetapi juga dapat di temukan di tanah dan permukaan air. Biasanya, individu pembawa *Klebsiella pneumoniae* tanpa gejala pada kulit, hidung dan tenggorokan. Pada individu yang mengalami gangguan kekebalan tubuh, neonatus dan geriatrik, *Klebsiella pneumoniae* dapat menyebabkan infeksi yang parah di rumah sakit seperti pneumonia dan infeksi saluran kemih. Selain itu, strain *Klebsiella pneumoniae* hypervirulent tertentu dapat menyebabkan infeksi di komunitas (Dennis J *et al*, 2016).

Metallo beta-lactamase (MBL) awalnya di temukan lebih dari empat puluh tahun yang lalu tetapi pada awalnya tidak dianggap sebagai masalah serius untuk terapi antibiotik karena MBL ditemukan pada kromosom organisme non-patogen. Namun, situasi ini berubah pada tahun 1990-an, dengan adanya penyebaran enzim IMP (Imipenemase) dan VIM (Verona Imipenemase) tipe Metallo beta-lactamase dalam patogen gram negatif, termasuk keluarga Enterobacteriaceae, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Acinetobacter baumannii* (Laraki N. et al, 1999; Lauretti L. et al, 1999).

Metallo beta-lactamase (MBL) adalah carbapenemase yang memberikan resistensi terhadap semua antibiotika beta-lactam kecuali monobactam. MBL tidak dihambat oleh asam clavulanate, tazobactam, atau sulbactam, karena kombinasi beta-lactam dengan inhibitor beta-lactamase yang tersedia saat ini tidak berguna. Terlepas dari spektrum aktivitas yang luas, faktor lain yang menyebabkan kekhawatiran adalah bahwa banyak gen-gen MBL dapat ditemukan pada plasmid dengan gen yang di kode faktor penentu resistensi antibiotik lainnya, yaitu gen resistensi amino glikosida. Strain MBL positif ini biasanya resistan terhadap beta-lactam, amino glikosida, dan fluoroquinolone (Jitendranath, 2017). Pada tahun 2012, hasil Kultur pasien rawat inap RS. M. Jamil Padang didapat *Klebsiella pneumoniae* yang resistan terhadap golongan carbapenem sebanyak 28 dari 274 isolat atau 10,22% dan yang

menghasilkan Enzim Metallo beta-lactamase sebanyak 1 isolat 3,57% (Roslaili S., 2012).

Beberapa metode deteksi MBL berupa Tes sinergi disk ganda (DDST) menggunakan imipenem (IPM) dan 0,5 M EDTA dan tes disk gabungan (CDT) menggunakan dua disk IPM atau dua disk meropenem, satu berisi 930 µg atau 750 µg dari EDTA, merupakan metode yang dapat diandalkan untuk mendeteksi MBL pada strain *Pseudomonas* dan *Acinetobacter* yang resistan terhadap carbapenem dengan tingkat sensitivitas berkisar 10% sampai 86%, dan sejauh ini belum ada metode yang menunjukkan sensitivitas dan specificities yang memadai untuk mendeteksi isolat positif MBL yang rentan dan tahan terhadap carbapenem (Franklin C *et al*, 2006).

Berdasarkan uraian latar belakang diatas, maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang deteksi fenotip Isolat bakteri *Klebsiella pneumoniae* resistan terhadap antibiotika golongan carbapenem penghasil enzim metallo beta-lactamase (MBL) pada pasien Infeksi di ruang perawatan RSUP DR. Wahidin Sudirohusodo Makassar. Peneliti menggunakan bakteri *Klebsiella pneumoniae* karena merupakan spesies dari *Enterobacteriaceae* yang banyak di temukan sebagai penyebab nosocomial di RSUP DR. Wahidin Sudirohusodo.

## B. Rumusan masalah

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, maka dirumuskan beberapa masalah penelitian sebagai berikut:

1. Bagaimana prevalensi kejadian *Klebsiella pneumoniae* yang resistan terhadap obat antibiotika golongan carbapenem pada pasien infeksi di Rumah Sakit Umum Pusat Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar?
2. Apakah kejadian *Klebsiella pneumoniae* resistensi antibiotika golongan carbapenem di Rumah Sakit Umum Pusat Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar, disebabkan oleh Adanya enzim Metallo beta-lactamase (MBL)?

## C. Tujuan penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka dirumuskan beberapa tujuan penelitian sebagai berikut:

1. Mendeteksi secara fenotip isolat bakteri *Klebsiella pneumoniae* penghasil enzim metallo beta-lactamase (MBL) penyebab resistensi terhadap antibiotika golongan carbapenem di Rumah Sakit Umum Pusat Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar
2. Mengetahui prevalensi kejadian *Klebsiella pneumoniae* penghasil enzim metallo beta-lactamase (MBL) yang resistan terhadap antibiotika golongan carbapenem pada pasien infeksi di Rumah Sakit Umum Pusat Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar.

#### **D. Manfaat penelitian**

1. Meningkatkan perkembangan ilmu pengetahuan terutama mengenai resistensi antibiotika pada *Klebsiella pneumoniae* yang sering diisolasi sebagai penyebab infeksi, agar dapat diketahui aspek pencegahannya.
2. Dapat menjadi bahan rujukan dalam penyusunan terapi empiris untuk pengobatan infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang sudah resistan terutama pada golongan carbapenem.

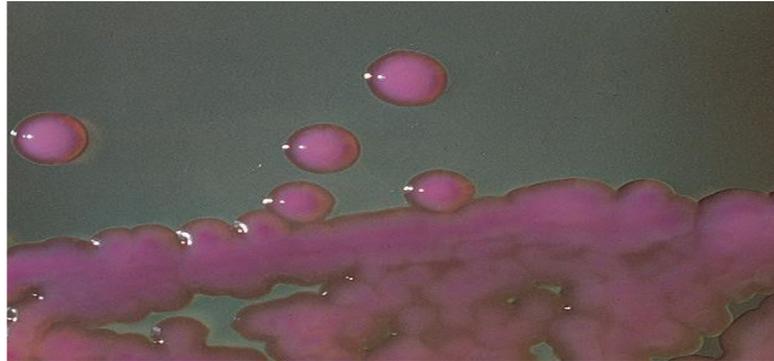
## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### **A. *Klebsiella pneumoniae***

*Klebsiella pneumoniae* adalah Bakteri Gram-negatif non-motil aerobik berbentuk batang penyebab berbagai infeksi yang terdapat di rumah sakit. Bakteri ini berkoloni di berbagai inang mulai dari tanaman hingga mamalia, tetapi juga dapat ditemukan di tanah dan permukaan air. Biasanya, individu membawa *Klebsiella pneumoniae* tanpa gejala pada kulit, hidung dan tenggorokan. Pada individu dengan gangguan imun, neonatus dan lansia, *Klebsiella pneumoniae* dapat menyebabkan infeksi berat di rumah sakit seperti pneumonia dan infeksi saluran kemih. Selain itu, strain *Klebsiella pneumoniae* hypervirulent tertentu dapat menyebabkan infeksi pada sebagian komunitas (Dennis J *et al*, 2016).

Bakteri ini memiliki kapsul, tetapi tidak membentuk spora, tidak mampu bergerak karena tidak memiliki flagela tetapi mampu di fermentasi karbohidrat membentuk asam dan gas. Sifat biakan atau Kultur dari *Klebsiella pneumoniae* pada media *Mac Conkey Agar* (MAC) menunjukkan pertumbuhan mucoid berwarna merah muda dalam waktu 24 jam (Mahon *et al*, 2015).



Gambar 5. Pertumbuhan Muroid pada *Mac Conkey Agar* (Mahon *et al*, 2015)

Infeksi lain yang umumnya dikaitkan dengan *Klebsiella pneumoniae* melibatkan host immunocompromised adalah infeksi luka, ISK, abses hati, dan bakteremia. Laporan menggambarkan wabah *Klebsiella pneumoniae* yang terdapat di rumah sakit yang kebal terhadap beberapa agen antimicrobial di kamar bayi baru lahir. Wabah ini telah dikaitkan dengan transfer resistensi antimicrobial plasmid. Meskipun resistensi antimicrobial telah meningkat di dalam keluarga Enterobacteriaceae, mungkin paling parah dengan *Klebsiella pneumoniae* karena kehadiran *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (Mahon *et al*, 2015).

Akuisisi gen resistensi antibiotika dan resistensi intrinsik untuk beberapa kelas antibiotika membatasi pilihan pengobatan untuk infeksi yang disebabkan oleh *Klebsiella pneumoniae*. Saat ini, strain *Klebsiella pneumoniae* yang memproduksi Extended Spectrum Beta-Lactamases (ESBLs) dan carbapenemase telah menyebar secara global (Hawkey, Jones, 2009). Enzim ini menonaktifkan Beta-lactam, kelas antibiotika yang membentuk dasar pengobatan yang efektif untuk pasien yang menderita infeksi dengan *Klebsiella pneumoniae*. Sebagai hasilnya, colistin

antimicrobial peptida (AMP) (juga dikenal sebagai polymyxin E) telah diperkenalkan kembali untuk mengobati infeksi dengan *Klebsiella pneumoniae* yang resistan terhadap beberapa obat. Namun, akuisisi resistensi colistin oleh mutasi kromosom dan gen terkait plasmid mcr-1 baru-baru ini telah dilaporkan (Liu *et al*, 2015; Olaitan *et al*, 2014).

## **B. Antibiotika**

Antibiotika pada awalnya didefinisikan sebagai suatu zat, yang diproduksi oleh satu mikroorganisme, yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme lainnya. Munculnya metode sintetik telah menghasilkan modifikasi definisi ini dan antibiotika sekarang mengacu pada zat yang dihasilkan oleh mikroorganisme, atau zat serupa (diproduksi seluruhnya atau sebagian oleh sintesis kimia), yang dalam konsentrasi rendah menghambat pertumbuhan mikroorganisme lainnya (Hugo W.B, 1998).

Antibiotika tidak terlihat seperti molekul yang dikenal dalam teks-teks biokimia awal; mereka biasanya bahkan tidak mirip satu Sama lain. Terlepas dari perbedaan-perbedaan yang tampak ini, antibiotika dibentuk dari jenis-jenis bahan penyusun yang Sama melalui reaksi-reaksi yang dikatalisis oleh enzim yang sangat mirip dengan yang digunakan dalam pembuatan protein, asam lemak, dan polisakarida. Sebagai contoh, penisilin diambil dari tripeptide dari tiga asam amino, dua di antaranya adalah proteinogenic (sustain dan Valin) dan salah satunya adalah perantara dalam metabolisme lisin ( $\alpha$ -aminoadipate). Dalam biosintesis polipeptida konvensional, tRNA membawa perbaikan Blok asam amino ke

tempat mRNA dan ikatan peptida dibentuk untuk menghasilkan rantai asam amino dengan sequins yang dikodekan RNA. Beberapa precursor peptida terhadap antibiotika di biosintesis dengan Cara ini, dan peptida yang dikodekan secara ribosom mengalami enzim yang dikatalisasi setelah modifikasi pasca-translasi untuk menghasilkan antibiotika akhir (Clardy *et al*, 2010).

Antibiotika turunan asam amino lebih sering diproduksi oleh jalur metabolik modular di mana fungsi temporal mRNA tertanam dalam urutan modul, dan protein pembawa khusus dalam setiap modul melakukan fungsi pemilihan tRNA. Modul pertama di jalur memilih asam amino terminal amino ( $\alpha$ -aminoadipate in penicillin), dan modul terakhir memilih asam amino terminal karboksil (Valin). Modul terakhir juga melepaskan rantai tripeptide, sehingga enzim tambahan di jalur dapat menjalankan fungsional yang setara dengan modifikasi post translational, yang biasanya cukup luas (Clardy *et al*, 2010).

### **C. Beta-lactam**

Antibiotika Beta-lactam adalah salah satu agen antimicrobial yang paling sering digunakan dan meningkatnya resistensi dari obat-obatan ini merupakan masalah kesehatan masyarakat. Derivat antibiotika Beta-lactam sebagai kelas memiliki spektrum aktivitas antibakteri yang luas, termasuk patogen Gram-positif dan Gram-negatif yang penting. Karena karakteristiknya yang menguntungkan, Beta-lactam adalah antibiotika yang paling banyak digunakan di seluruh dunia (Livermore, 2006;

Livermore, 2012). Antibiotika ini bekerja dengan menghambat sekumpulan enzim transpeptidase (juga disebut protein pengikat penisilin atau PBP) yang penting untuk sintesis lapisan peptidoglycan dinding sel bakteri (Sauvage, 2008). Penghambatan sintesis peptidoglycan menghasilkan kematian bakteri yang tumbuh dan bertanggung jawab atas efek antimicrobial dari antibiotika Beta-lactam. Sebagai tanggapan, bakteri telah mengembangkan mekanisme pertahanan untuk melawan efek mematikan dari obat ini (Bush *et al*, 2011).

Antibiotika Beta-lactam ditandai oleh cincin Beta-lactam beranggota empat yang berfungsi sebagai substrat untuk enzim target transpeptidase. Enzim transpeptidase bereaksi melalui residu serin situs aktif dengan terminal D-Ala-D-Ala dari pentapeptide yang melekat pada asam N-acetylmuramic dari polimer peptidoglycan untuk membentuk zat antara enzim asil (Lee *et al*, 2001). Karbon karbonil dari zat antara ini kemudian diserang oleh residu seperti lisin dari pentapeptide lain untuk menciptakan ikatan kovalen antara peptida yang berfungsi untuk menghubungkan silang peptidoglycan. Cincin empat anggota antibiotika Beta-lactam menyerupai struktur D-Ala-D-Ala dan mampu mengikat di situs aktif enzim transpeptidase di mana membentuk enzim asil dengan enzim situs serine aktif. Enzim asil ini, bagaimanapun, secara steril menyumbat serangan oleh residu lisin pentapeptide dan Beta-lactam yang terikat secara kovalen adalah penghambat lama transpeptidase, yang menghambat ikatan silang

peptidoglycan dan menyebabkan kematian sel (MBL) (Buynak JD, 2007; Shi Q et al, 2011).

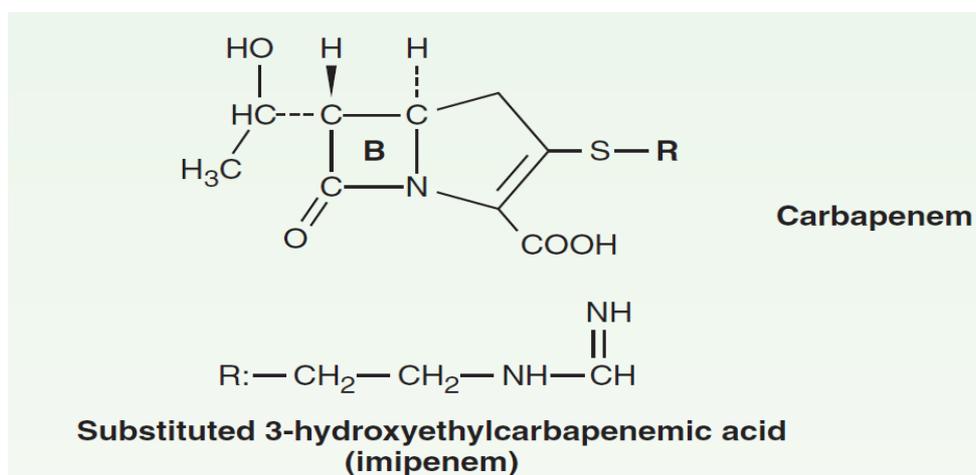
Ada ratusan derivat Beta-lactam yang berbeda, dan diklasifikasikan ke dalam kelompok-kelompok berdasarkan pada struktur (Bush K, 2010; Mahajan, 2012). Derivat Beta-lactam yang penting secara klinis termasuk penisilin, cephalosporin, carbapenem, dan monobactam. Penisilin dan cephalosporin mengandung cincin Beta-lactam yang menyatu dengan cincin beranggota Lima dan enam, yang masing-masing berisi gugus karboksil pada posisi C-3 dan C-4. Sebagai sebuah kelompok, antibiotika ini menunjukkan berbagai aktivitas melawan bakteri Gram-positif dan Gram-negatif. Sebaliknya, monobactam tidak mengandung sistem cincin berfusi dan terdiri dari cincin beta-lactam dengan gugus asam sulfonate terkait pada posisi analog dari gugus karboksilat yang ditemukan dalam penisilin dan cephalosporin (Neu HC, 1990; Sykes, 1985). Monobactam aktif melawan patogen Gram-negatif aerob. Akhirnya, carbapenem memiliki spektrum aktivitas yang kuat dan luas terhadap bakteri Gram-positif dan Gram-negatif dan merupakan kelompok antibiotika yang semakin esensial untuk pengobatan infeksi yang disebabkan oleh bakteri yang resistan banyak obat (Wallace p *et al*, 2011). Carbapenem terdiri dari cincin beta-lactam menyatu dengan cincin beranggota Lima seperti penisilin yang memiliki karbon menggantikan sulfur di C-1 dan juga mengandung ikatan rangkap antara C-2 dan C-3. Karakteristik penting lain dari carbapenem adalah resistensi terhadap inaktivasi oleh beta-

lactamase. Faktanya, carbapenem bertindak sebagai penghambat bagi banyak beta-lactamase dengan bereaksi dengan serin situs aktif dan membentuk intermediate enzim asil yang berumur panjang (Maveyraud *et al*, 1998; Tremblay *et al*, 2010). Namun, dalam dekade terakhir beta-lactamase yang mampu menghidrolisis carbapenem, termasuk carbapenemase kelas A dan metallo-beta-lactamase kelas B, telah menjadi sumber peningkatan resistensi (Wallace *et al*, 2011; Bush K, 2010).

#### **D. Carbapenem**

Carbapenem secara struktural terkait dengan antibiotika beta-lactam. Doripenem, ertapenem, imipenem, dan meropenem diizinkan untuk digunakan di AS. Imipenem, obat pertama dari kelas ini, memiliki spektrum yang luas dengan aktivitas yang baik terhadap banyak Bakteri gram negatif, termasuk *Pseudomonas aeruginosa*, organisme gram positif, dan anaerob. Ini tahan terhadap sebagian besar beta-lactamase tetapi tidak carbapenemase atau metallo beta-lactamase. Doripenem dan meropenem mirip dengan imipenem tetapi memiliki aktivitas yang sedikit lebih besar terhadap aerob gram negatif dan aktivitas sedikit lebih sedikit terhadap gram positif. Carbapenem tidak terdegradasi secara signifikan oleh dehidrat peptidase ginjal dan tidak memerlukan inhibitor. Ertapenem kurang aktif dibandingkan carbapenem lainnya terhadap spesies *Pseudomonas aeruginosa* dan *Acinetobacter*, dan tidak terdegradasi oleh dehidrat peptidase ginjal (Katzung, 2013).

Carbapenem direkomendasikan untuk infeksi yang disebabkan oleh mikroorganisme yang rentan yang resistan terhadap obat lain yang tersedia, misalnya *Pseudomonas aeruginosa*, dan untuk pengobatan infeksi campuran aerob dan anaerob. Carbapenem aktif terhadap banyak jenis *Pneumococcus* yang tidak rentan terhadap penisilin. Carbapenem sangat aktif dalam pengobatan infeksi Enterobacter karena resistan terhadap kerusakan oleh Beta-lactamase yang diproduksi oleh organisme ini. Pengalaman klinis menunjukkan bahwa carbapenem juga merupakan pengobatan pilihan untuk infeksi yang disebabkan oleh bakteri gram negatif Beta-lactamase spektrum luas. Ertapenem tidak cukup aktif melawan *Pseudomonas aeruginosa* dan tidak boleh digunakan untuk mengobati infeksi yang disebabkan oleh organisme ini. Imipenem, meropenem, atau doripenem, dengan atau tanpa aminoglycoside, dapat menjadi pengobatan yang efektif untuk pasien neutropenia yang demam (Katzung, 2013).



Gambar 6. Struktur golongan carbapenem (Katzung, 2013)

### **E. Mekanisme Resistensi Bakteri Terhadap Beta-lactam**

Ada beberapa mekanisme di mana bakteri memperoleh resistensi terhadap antibiotika Beta-lactam termasuk efflux, mengurangi permeabilitas, mengubah transpeptidase, dan inaktivasi oleh Beta-lactamase. Perubahan urutan target transpeptidase oleh mutasi atau recombinant untuk membuat enzim yang berikatan buruk dengan beta-lactam adalah sumber resistensi yang penting pada *Streptococcus pneumoniae*. Selain itu, perolehan transpeptidase baru (PBP2a) yang mengikat antibiotika beta-lactam secara perlahan merupakan dasar resistensi pada *S. aureus* (MRSA) yang resistan terhadap methicillin (MRSA). Namun, terlepas dari contoh-contoh penting ini, produksi enzim beta-lactamase adalah mekanisme resistensi bakteri yang paling umum terhadap antibiotika beta-lactam (Hakenbeck *et al*, 2012; Fuda C *et al*, 2004).

Beta-lactamase menghidrolisis ikatan amida dalam cincin beta-lactam untuk menghasilkan produk yang tidak efektif. Beta-lactamase sering menjadi penyebab resistensi uji bakteri Gram-negatif dan spesies Gram-positif tertentu. Gen yang di kode Beta-lactamase dapat ditemukan pada kromosom bakteri atau pada plasmid. Berdasarkan homologi urutan primer, Beta-lactamase telah dikelompokkan menjadi empat kelas (Ambler RP *et al*, 1991). Kelas A, C, dan D adalah enzim serin situs aktif yang di katalis melalui perantara asil yang terikat serin, hidrolisis beta-lactam (Ghuysen J-M, 1991). Dan kelas B yang membutuhkan seng untuk

aktivitas, dan katalis tidak dilanjutkan melalui perantara kovalen tetapi melalui ion hidroksida yang stabil oleh seng di situs aktif (Crowder MW *et al*, 2006; Wang Z *et al*, 1999). Serine beta-lactamase situs aktif yang di miliki keluarga besar enzim yang mengenali penisilin, yang mencakup transpeptidase yang mengikat silang dinding sel bakteri. Semua enzim ini mengandung serine situs aktif dan juga triad K (S/T) G yang ter konservasi antara serin situs aktif dan terminal-C (Fisher JF *et al*, 2005; Wilke MS, 2005). Struktur kristal dari banyak kelas A, C, dan D beta-lactamase serta transpeptidase menunjukkan enzim-enzim ini memiliki struktur tiga dimensi yang serupa, terutama di sekitar situs aktif, menunjukkan asal evolusi umum untuk enzim yang mengenali penisilin (Wilke MS, 2005). Beberapa struktur enzim kelas B mengonfirmasi kurangnya kesamaan dengan serin beta-lactamase dan transpeptidase dan menunjukkan asal evolusi independen untuk enzim ini. (Ullah JH *et al*, 1998; Concha NO *et al*, 1996).

#### **F. Carbapenemase**

Carbapenem adalah kelas antibiotika derivat beta-lactam yang berbeda dari penisilin. Ada substitusi atom karbon untuk atom sulfur. Ada penambahan ikatan rangkap pada cincin beranggota lima dari inti penisilin. Mereka mengikat protein pengikat penisilin bakteri, yang penting untuk perpanjangan dan menghubungkan silang peptidoglycan dari dinding sel bakteri. Ikatan ini merusak konstruksi dinding sel, menghambat pertumbuhan sel, dan mengakibatkan lisis dan kematian sel. Carbapenem

pertama kali diperkenalkan pada tahun 1980. Carbapenem biasanya digunakan sebagai pilihan terakhir dalam mengobati infeksi serius yang disebabkan oleh strain basil Gram-negatif yang resistan terhadap beberapa obat. Dan stabil untuk beta-lactamases termasuk ESBL dan AmpC yang diproduksi oleh basil Gram-negatif (Rodloff, 2006; Matsumoto *et al*, 1996).

Berdasarkan studi molekuler, enzim menghidrolisis carbapenem dapat diklasifikasikan menjadi dua kelompok. Enzim serin memiliki gugus serin di lokasi aktif dan MBL yang membutuhkan kation divalen, biasanya seng, sebagai kofaktor logam untuk aktivitas enzim. Serin carbapenemase merupakan milik enzim Kelas A atau Kelas D, biasanya menghasilkan resistensi carbapenem pada *Enterobacteriaceae* atau *Acinetobacter spp* (Walsh *et al*, 2005).

### 1. Class A Serin Carbapenemases

Carbapenemase serin kelas A adalah anggota grup 2f fungsional. Mereka dapat menghidrolisis berbagai beta-lactam, termasuk carbapenem, cephalosporin, penisilin, dan aztreonam. Namun, mereka semua dihambat oleh clavulanate dan tazobactam. Enzim nya ditandai dari *Enterobacteriaceae* termasuk non metalloenzyme carbapenemase-A (NMC-A), enzim *Serratia marcescens* (SME) 1-3, "imipenem-hydrolyzing beta-lactamase" (IMI-1), *K. pneumoniae* carbapenemases 1-3 (KPC), dan spektrum luas Guyana (GES-2) (Queenan *et al*, 2007; Walsh *et al*, 2005).

## 2. Class B MBLs

Kelas beta-lactamase ini dapat menghidrolisis carbapenem dan dikenal dengan ketahanan nya terhadap inhibitor beta-lactamase yang tersedia secara komersial, tetapi rentan terhadap penghambatan oleh chelator ion logam. Spektrum substrat cukup luas; selain carbapenem, sebagian besar enzim ini dapat menghidrolisis cephalosporin dan penisilin. Namun, Kelas ini tidak memiliki kemampuan untuk menghidrolisis aztreonam. Hidrolisis ini didasarkan pada interaksi beta-lactam dengan ion seng di lokasi situs aktif enzim. Hal ini menghasilkan sifat khas dari penghambatan oleh asam etilena diamine tetra asetat (EDTA), chelator dari  $Zn^{2+}$  dan kation divalen lainnya. Sejumlah besar pekerjaan sequencing telah menggambarkan variabilitas tinggi dalam sequins primer dan struktur molekul MBL. MBL pertama yang menentukan urutan asam amino adalah metallo-beta-lactamase dari *Bacillus cereus*, prototipe metallo-beta-lactamase selama bertahun-tahun (Queenan *et al*, 2005).

Kehadiran MBL kromosom berkorelasi langsung dengan prevalensi spesies penghasil. Namun, ada peningkatan dramatis dalam pendeteksian dan penyebaran keluarga yang diperoleh atau dipindah tangankan metalloenzyme ini. Keluarga MBL yang paling umum termasuk MBL yang dikodekan integrand Verona (VIM), "aktif pada imipenem" (IMP), "Jerman imipenemase" (GIM), dan

"Seoul imipenemase" (SIM) enzim. Ini dimasukkan sebagai kaset gen hadir dalam berbagai struktur integrand. Pemindahan antar bakteri dengan mudah fasilitas ketika integrand ini menjadi terkait dengan plasmid atau transposon (Queenan *et al*, 2007).

### 3. Class D Serin Karbapenemases

Beta-lactamase ini dapat menghidrolisis cloxacillin atau oxacillin pada tingkat > 50% dibandingkan dengan benzyl penisilin dan karenanya dikenal sebagai enzim OXA. Mereka dengan mudah menghidrolisis carbenicillin. Enzim yang berhubungan dengan OXA sekarang terdiri dari keluarga beta-lactamase terbesar kedua. Enzim OXA sulit untuk dimurnikan karena hasil yang rendah dan sulit untuk di karakterisasi secara biokimia karena tingkat hidrolisis yang rendah dan kinetika biphasic untuk beberapa substrat. Carbapenemase OXA yang di karakterisasi secara biokimia memiliki aktivitas hidrolitik yang terukur terhadap penisilin, beberapa Cephalosporin, dan imipenem (Bush *et al*, 2010; Walther *et al*, 2006).

### G. Metallo Beta-lactamase (MBL)

MBL dianggap lebih penting daripada mekanisme resistensi lainnya karena MBL hampir dapat menghidrolisis semua antibiotik beta-lactam. Tidak ada inhibitor MBL yang disetujui secara klinis, membuat enzim ini ancaman serius bagi kesehatan manusia. Gen pengkode MBL dapat dengan mudah disebarluaskan dari satu bakteri ke bakteri lain melalui

mekanisme transfer gen horizontal (Noori M *et al*, 2014; King D and Strynadka N, 2011).

Di India 70-90% populasi dapat membawa produsen MBL sedangkan di Pakistan 27,1% populasi dapat membawa produsen MBL dan penyebaran spesies MBL antar benua telah sampai di Eropa, Australia, dan Afrika. MBL sekarang diketahui di ekspresi oleh setidaknya 20 spesies termasuk sebagian besar anggota keluarga Enterobacteriaceae terutama *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *A. baumannii*, *Bacteroides fragilis*, *Aeromonas hydrophilia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Serratia marcescens*, dan *Pseudomonas aeruginosa* (Perry J. D *et al*, 2011; D'Andrea M. M *et al*, 2011).

Kelas B metallo beta-lactamase (MBL) selanjutnya dibagi menjadi tiga subclass yang didefinisikan terutama oleh perbedaan dalam kerangka koordinasi seng primer (Palzkill T, 2013). Subkelas B1 mengikat satu ion seng (Zn1) dengan tiga residu-Nya (H116, H118, H196) dan ion seng kedua (Zn2) dengan tiga residu berbeda, terutama termasuk Cis (D120, C221, H263). B1  $\beta$ -lactamase mengandung jumlah terbesar anggota yang relevan secara klinis, termasuk VIM (Verona integrin-encoded MBL), IMPs (imipenemase) dan NDM (New Delhi MBL). Subkelas B2  $\beta$ -lactamase memiliki situs pengikatan Zn1 dengan satu residu yang diubah (N116, H118, H196), tetapi mempertahankan situs Zn2 yang serupa (D120, C221, H263). Subkelas ini memiliki anggota paling sedikit dan termasuk enzim yang diproduksi oleh spesies *Aeromonas* yang berbeda, seperti *A.*

*hydrophilia* CphA (*Aeromonas* carbapenem-hydrolyzing  $\beta$ -lactamase) (Massidda O *et al* 1991), *A. veronii* ImiS (imipenem hydrolyzing metallo- $\beta$ -lactamase dari *A. veronni* bv. Sobria) (Walsh TR *et al*, 1996), dan *Serratia fonticola* Sfh-I (MBL hidrolase dari *Serratia fonticola*) (Saavedra MJ *et al*, 2003). Akhirnya, subkelas B3  $\beta$ -laktamase memiliki situs pengikatan Zn1 yang bervariasi (H / Q116, H118, H196) dan situs pengikatan Zn2 yang berbeda yang tidak memiliki residu Cys (D120, H121, H263). Subkelas ini termasuk *Stenotrophomonas maltophilia* L1 ( $\beta$ -lactamase 1) dan *Elizabethkingia meningosepticum* (*Chryseobacterium meningosepticum*) GOB-1 (kelas B  $\beta$ -laktamase dari *E. meningosepticum*) MBLs (Walsh TR *et al*, 1994; Bellais S. *et al*, 2000).

#### H. Vitec 2 Compact

Vitec 2 adalah sistem mikrobiologi otomatis yang memanfaatkan teknologi berbasis pertumbuhan. Sistem ini tersedia dalam tiga format (Vitec 2 compact, Vitec 2, dan Vitec 2 XL) yang berbeda dalam peningkatan level kapasitas dan otomatisasi. Ketiga sistem mengakomodasi kartu regen kolorimetri yang sama yang di inkubasi dan di interpretasi secara otomatis (Pincus, 2013).

Kartu regen memiliki 64 sumur yang masing-masing dapat berisi media uji individual. Substrat mengukur berbagai aktivitas metabolisme seperti pengasaman, alkalinitas, hidrolisis enzim, dan pertumbuhan dengan adanya zat penghambat. Sebuah film yang bening secara optical

hadir pada kedua sisi kartu memungkinkan untuk tingkat transmisi oksigen yang tepat sambil mempertahankan wadah tertutup yang mencegah kontak dengan campuran organisme-substrat. Setiap kartu memiliki tabung transfer yang dimasukkan sebelum digunakan untuk di inokulasi (dijelaskan di bawah). Kartu memiliki kode batang yang berisi informasi tentang jenis produk, nomor lot, tanggal kedaluwarsa, dan pengidentifikasian unik yang dapat ditautkan ke sampel sebelum atau setelah memuat kartu ke sistem. Saat ini ada empat kartu regen yang tersedia untuk mengidentifikasi berbagai kelas organisme sebagai berikut (Pincus, 2013):

1. GN - Fermentasi Gram negatif dan basil non-fermentasi
2. GP - cocci Gram-positif dan basil non-spora
3. YST - ragi dan organisme seperti ragi
4. BCL - basil pembentuk spora Gram-positif.

Kartu identifikasi di inokulasi dengan suspensi mikroorganisme menggunakan peralatan vakum terintegrasi. Tabung reaksi yang berisi suspensi mikroorganisme ditempatkan ke dalam rak khusus (cassette) dan kartu identifikasi ditempatkan di slot sebelah sambil memasukkan tabung transfer ke dalam tabung suspensi yang sesuai. Rak khusus (cassette) dapat menampung hingga 10 tes (Vitec 2 Compact) atau hingga 15 tes (Vitec 2 dan Vitec 2 XL). Kaset yang diisi ditempatkan baik secara manual (Vitec 2 compact) atau diangkut secara otomatis (Vitec 2 dan Vitec 2 XL) ke stasiun ruang vakum. Setelah vakum diterapkan dan

chamber dimasukkan kembali ke stasiun, suspensi organisme akan melalui tabung transfer ke saluran mikro yang mengisi semua sumur uji (Pincus, 2013).

Kartu yang di inokulasi sesuai mekanisme, yang memotong tabung transfer dan menyegel kartu sebelum memuat ke dalam inkubator korsel. Inkubator korsel dapat menampung hingga 30 atau hingga 60 kartu. Semua jenis kartu di inkubasi secara otomatis pada 35, 5 + 1, 0 °C. Setiap kartu dikeluarkan dari inkubator korsel setiap 15 menit sekali, diangkut ke sistem optik untuk pembacaan reaksi, dan kemudian dikembalikan ke inkubator hingga waktu pembacaan berikutnya. Data dikumpulkan pada interval 15 menit selama seluruh periode inkubasi (Pincus, 2013).

Perhitungan dilakukan pada data mentah dan dibandingkan dengan ambang batas untuk menentukan reaksi untuk setiap tes. Pada VITEK 2 Compact, hasil reaksi uji muncul sebagai "+", "-", "(-)" atau "(+)". Reaksi yang muncul dalam tanda kurung adalah indikasi reaksi lemah yang terlalu dekat dengan ambang uji (Pincus, 2013).

Dalam studi multisite baru-baru ini, kinerja VITEK 2 GN adalah dievaluasi menggunakan 562 isolat dari spesies basil Gram-negatif yang umum dan jarang diamati, termasuk 153 strain non-fermentasi. Identifikasi referensi ditentukan dengan kit identifikasi api® 20 E dan api 20 NE. Secara keseluruhan, VITEK 2 GN mengidentifikasi 96,8% isolat dengan benar, termasuk 6,4% diskriminasi rendah dengan spesies yang benar

terdaftar. Kesalahan identifikasi terjadi pada 3,0% dan tidak ada identifikasi yang terjadi pada 0,2% (Pincus, 2013).

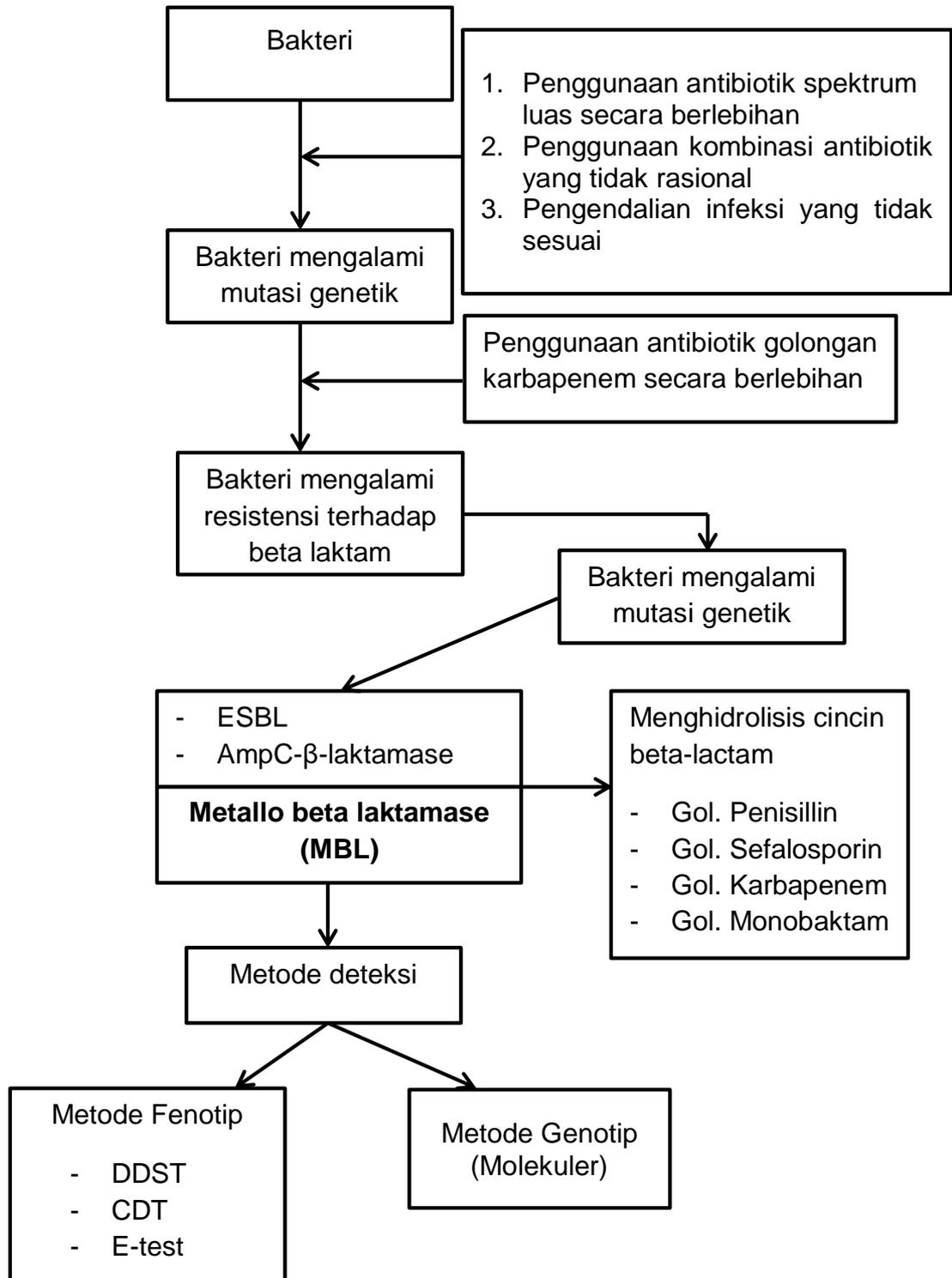
### I. Metode deteksi MBL

Saat ini, tidak ada metode standar untuk deteksi MBL yang telah diusulkan, dan meskipun PCR sangat akurat dan dapat diandalkan, aksesibilitasnya sering terbatas pada beberapa laboratorium. Beberapa teknik non-molekuler telah dipelajari, mengambil keuntungan dari ketergantungan enzim dengan menggunakan agen pengelat, seperti EDTA atau asam 2-mercaptopropionic, untuk menghambat aktivitasnya. MBL E-test yang tersedia secara komersial (AB Bio disk, Solna, Swedia), yang menggabungkan strip imipenem di satu ujung dan strip imipenem dengan EDTA pada model lainnya, mudah dilakukan tetapi sangat tidak sensitif dalam mendeteksi organisme pembawa MBL yang rentan terhadap carbapenem ( $MIC \leq 4$ )  $\mu\text{g} / \text{ml}$ ) dan mahal. Juga, specificities yang buruk telah dijelaskan dengan *Acinetobacter baumannii* yang resistan terhadap carbapenem yang membawa blaOXA-23 (Franklin C *et al*, 2006).

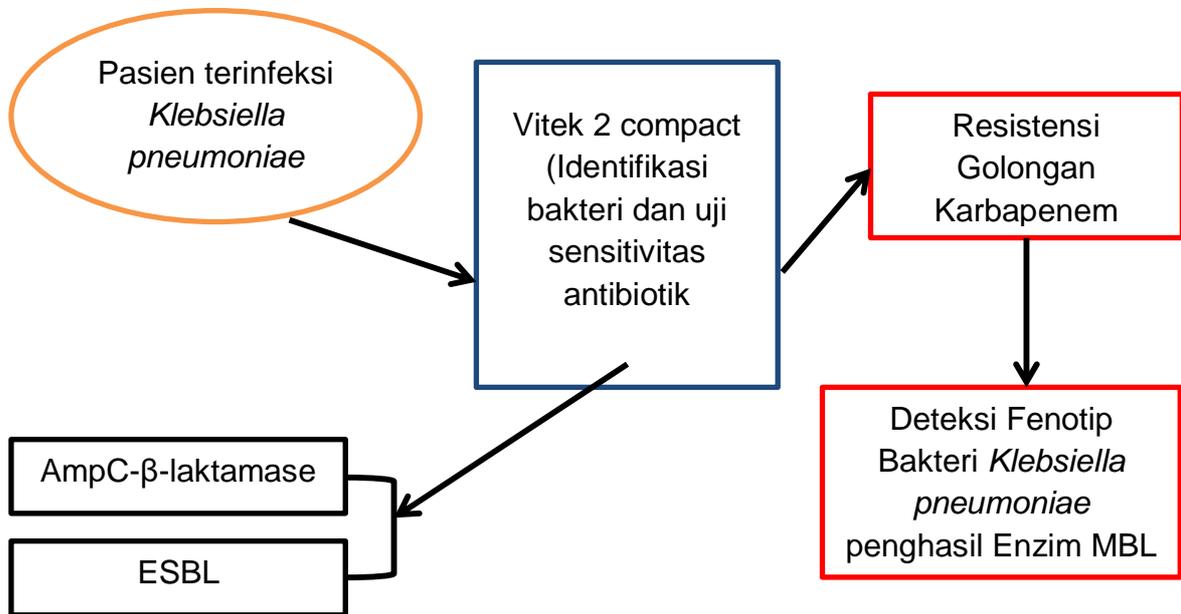
Tes sinergi disk ganda (DDST) menggunakan imipenem (IPM) dan 0,5 M EDTA dan tes disk gabungan menggunakan dua disk IPM atau dua disk meropenem, satu berisi 930  $\mu\text{g}$  atau 750  $\mu\text{g}$  dari EDTA, keduanya telah dilaporkan sebagai metode yang dapat diandalkan untuk mendeteksi MBL dalam strain *Pseudomonas* dan *Acinetobacter* yang resistan terhadap carbapenem. Ketika metode yang terakhir dipelajari

menggunakan isolat yang rentan terhadap carbapenem, sensitivitas nya buruk, berkisar antara 10% hingga 86%. Sejauh ini, tidak ada metode yang telah dilaporkan untuk menunjukkan sensitivitas dan specificities yang memadai untuk mendeteksi kedua isolat MBL-positif yang rentan terhadap carbapenem dan tahan carbapenem (Franklin C *et al*, 2006).

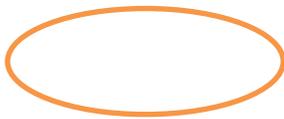
## J. Kerangka Teori



### K. Kerangka Konsep



Keterangan:



= Variabel Bebas



= Variabel Antara



= Variabel Tergantung



= Variabel Perancu