

**ANALISIS MOLEKULER GEN blaIMP DAN OXA-51
SEBAGAI PENANDA RESISTENSI KARBAPENEM PADA
ISOLAT *Acinetobacter baumannii* DARI RSUP WAHIDIN
SUDIROHUSODO**

MOLECULAR ANALYSIS OF blaIMP AND OXA-51 GENS AS A MARKER
OF THE RESISTANCE OF CARBAPENEM IN ISOLATE *Acinetobacter
baumannii* FROM RSUP WAHIDIN SUDIROHUSODO

MUKHTASYAM ZUHRULLAH



**PROGRAM PASCA SARJANA
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2019**

**ANALISIS MOLEKULER GEN blaIMP DAN OXA-51 SEBAGAI
PENANDA RESISTENSI KARBAPENEM PADA ISOLAT *Acinetobacter
baumannii* DARI RSUP WAHIDIN SUDIROHUSODO**

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi

Magister Ilmu Farmasi

Disusun dan diajukan oleh

MUKHTASYAM ZUHRULLAH

kepada

SEKOLAH PASCASARJANA

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2019

TESIS

**ANALISIS MOLEKULER GEN blaIMP DAN OXA-51 SEBAGAI PENANDA
RESISTENSI KARBAPENEM PADA ISOLAT *Acinetobacter baumannii*
DARI RSUP WAHIDIN SUDIROHUSODO**

Disusun dan diajukan oleh

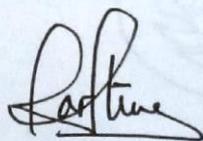
MUKHTASYAM ZUHRULLAH

Nomor Pokok N012171009

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis
pada tanggal 2 Agustus 2019
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui

Komisi Penasihat,



Dr. Sartini, M.Si., Apt.

Ketua

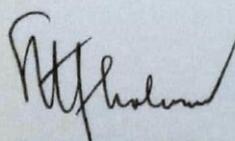


dr. Rizalinda Sjahril, M.Sc., Ph.D.

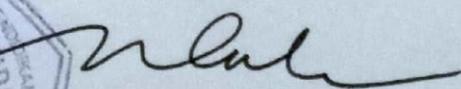
Anggota

Ketua Program Studi
Magister Ilmu Farmasi

Dekan Fakultas Farmasi
Universitas Hasanuddin



Dr. Latifah Rahman, D.E.S.S., Apt.



Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt.



PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan dibawah ini

Nama : Mukhtasyam Zuchrullah

Nomor mahasiswa : N012171009

Program Studi : Farmasi

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar 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, Juli 2019

Yang menyatakan

Mukhtasyam Zuchrullah

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT karena atas berkat nikmat ihsan, iman dan islam sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis dengan judul “Analisis molekuler gen blaIMP-1 dan OXA-51 sebagai penanda resistensi karbapenem pada isolat *Acinetobacter baumannii* dari RSUP Wahidin Sudirohusodo”. Tesis ini disusun dalam rangka menyelesaikan tugas akhir untuk menyelesaikan studi di Program Magister Ilmu Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin Makassar.

Dalam penyusunan tesis ini, penulis banyak mendapatkan arahan, bimbingan dan dukungan dari berbagai pihak. Terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Komisi penasehat pertama Dr. Sartini, M.Si., Apt., dan Komisi penasehat kedua dr. Rizalinda Sjahril, M.Sc., Ph.D. tidak lupa penulis juga ingin mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Dr. Aliyah M.S.,Apt., Dr. Risfah Yulianty, M.Si., Apt., dan Prof. dr. Muh. Nasrum Massi,Ph.D., sebagai Komisi Penguji yang juga telah banyak memberikan masukan, arahan dan bimbingan kepada penulis dalam penyusunan tesis ini.
2. Seluruh dosen dan staf Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin Makassar.
3. Kedua Orang Tua tercinta Sujiono dan Rukiaturun yang senantiasa memberikan sebetuk kasih sayang yang tak ternilai dan selalu menghadirkan ananda dalam setiap do'anya.

4. Isteri tercinta, Erpi Nurdin, S.Si., M.Kes., yang telah memberikan motivasi, doa dukungan dan ilmunya dalam mendampingi penulis selama melakukan penelitian.
5. Seluruh rekan - rekan Program Pascasarjana Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin Makassar Angkatan 2017 yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang selalu memberikan bantuan, dorongan serta kritikan yang sangat membangun kepada penulis.

Penulis menyadari bahwa penyusunan tesis ini jauh dari sempurna, Oleh karena itu penulis mengharapkan masukan berupa kritik dan saran yang sifatnya membangun demi kesempurnaan tesis ini.

Semoga Allah Swt memberikan balasan atas semua kebaikan yang telah Bapak/Ibu/Saudara berikan dan semoga tesis ini bermanfaat untuk ilmu pengetahuan terkhusus dalam bidang farmasi sains. Terimakasih.

Makassar, Juli 2019

Mukhtasyam Zuchrullah

ABSTRAK

MUKHTASYAM ZUHRULLAH. Analisis molekuler gen blaIMP dan OXA-51 sebagai penanda resistensi karbapenem pada isolat *Acinetobacter baumannii* dari RSUP Wahidin Sudirohusodo (dibimbing oleh Sartini dan Rizalinda Sjahril).

Penelitian ini bertujuan untuk (1) mengetahui data distribusi resistensi bakteri *Acinetobacter baumannii* terhadap golongan karbapenem dan (2) Ditemukannya gen penentu resistensi pada isolat *A. baumannii* secara genotip.

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium HUM-RC RSPTN Universitas Hasanuddin. Pengambilan sampel isolat dari RSUP Wahidin Sudirohusodo Makassar secara total sampling dan dikumpulkan sebanyak 50 isolat *Acinetobacter baumannii*. Data resistensi terhadap karbapenem diambil dari hasil pemeriksaan sensitivitas dengan menggunakan Vitek-2. Deteksi genotip dengan menggunakan mesin PCR (*Polymerase Chain Reaction*) dan ditampilkan dengan elektroforesis. Analisis dengan menggunakan analisis statistik deskriptif ditampilkan sebagai data distribusi frekuensi.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa distribusi *Acinetobacter baumannii* yang resisten terhadap Imipenem 9 (28%), Meropenem 14 (28%), Doripenem 9 (37,5%). Secara genotip *Acinetobacter baumannii* ditemukan gen penanda resistensi positif blaIMP 1 (2%) dan positif gen OXA-51 50 (100%).

ABSTRACT

MUKHTASYAM ZUHRULLAH. Molecular analysis of blaIMP and OXA-51 genes as markers of carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii* isolates from RSUP Wahidin Sudirohusodo (Supervised by Sartini and Rizalinda Sjahril).

This study aims to (1) find out data on the distribution of resistance of *Acinetobacter baumannii* bacteria to carbapenem groups and (2) the discovery of genes that determine resistance in genotype A. *baumannii* isolates.

This research was conducted at the Laboratory of HUM-RC RSPTN Hasanuddin University. Sampling of isolates from Wahidin Sudirohusodo General Hospital Makassar in total sampling and collecting 50 isolates of *Acinetobacter baumannii*. Data on resistance to carbapenem were taken from the results of sensitivity tests using Vitek-2. Genotype detection using PCR machine (Polymerase Chain Reaction) and displayed by electrophoresis. Analysis using descriptive statistical analysis is displayed as frequency distribution data.

The results shows that the distribution of *Acinetobacter baumannii* are resistant to Imipenem 9 (28%), Meropenem 14 (28%), Doripenem 9 (37.5%) and genotypically *Acinetobacter baumannii* gene found as a marker of positive resistance blaIMP 1 (2%) and the OXA-51 gene are positive 50 (100%).

DAFTAR ISI

	Halaman
PRAKATA	iv
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
A. Tinjauan Umum <i>Acinetobacter baumannii</i>	5
B. Tinjauan Umum Resistensi Antibiotika Terhadap Karbapenem	8
C. Tinjauan Umum Karbapenem	16
D. Deteksi Laboratorium Organisme Resisten Karbapenem	23

E. Tinjauan Umum PCR	26
F. Tinjauan Umum Vitek 2 Compact	28
G. Kerangka Teori	32
BAB III METODE PENELITIAN	
A. Rancangan Penelitian	33
B. Lokasi dan Waktu Penelitian	33
C. Populasi, Sampel, Teknik Sampling dan Besar Sampel	33
D. Alat dan Bahan	35
E. Prosedur Kerja	36
F. Analisis Data	43
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	44
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	54
LAMPIRAN	55
DAFTAR PUSTAKA	58

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Terapi kombinasi Karbapenem yang diuji secara in vitro	22
2. Nilai breakpoint konsentrasi hambat minimum/MIC	25
3. Persentase pasien terinfeksi <i>A. baumannii</i> Berdasarkan Jenis Kelamin	45
4. Persentase pasien terinfeksi <i>A. baumannii</i> Berdasarkan Usia	46
5. Persentase <i>A. baumannii</i> Berdasarkan Asal Spesimen	46
6. Hasil test sensitifitas golongan karbapenem dari isolate <i>A. baumannii</i> dengan menggunakan VITEK 2	48
7. Persentase Temuan gen penanda resistensi terhadap <i>A. baumannii</i> dari Isolat Klinis	48
8. Pola kepekaan Antibiotika Golongan Karbapenem	50

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Bentuk kompleks <i>Acinetobacter baumannii</i>	6
2. Struktur kimia karbapenem	18
3. Skema enzimatik untuk penghambatan β -laktam dari PBP	20
4. Gambar alat Vitek 2 compact	30
5. Kartu untuk identifikasi Vitek 2 compact	30
6. Kerangka Teori	32
7. Hasil elektroforesis produk PCR untuk Gen blaIMP	49
8. Hasil elektroforesis produk PCR untuk Gen OXA-51	49
9. Alur Penelitian	55
10. Hasil elektroforesis produk PCR <i>A.baumannii</i> primer IMP solat 18-34	56
11. Hasil elektroforesis produk PCR <i>A.baumannii</i> primer IMP Isolat 35-50	56
12. Hasil elektroforesis produk PCR <i>A.baumannii</i> primer OXA-51 Isolat 18-36	57
13. Hasil elektroforesis produk PCR <i>A.baumannii</i> primer OXA-51 Isolat 37-50	57

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Alur penelitian	55
2. Gambar Hasil Elektroforesis Produk PCR <i>A.baumannii</i> .	56

DAFTAR SINGKATAN

CRAB	: <i>Carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii</i>
CRE	: Carbapenem resistant Enterobacteriaceae
CRPA	: <i>Carbapenem resistant Pseudomonas aeruginosa</i>
ESBL	: <i>Extended Spectrum Beta-Lactamase</i>
MDR	: <i>multidrug resistant</i>
MRSA	: <i>methicillin resistant Staphylococcus aureus</i>
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction/Reaksi berantai polimerase</i>

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Prevalensi meningkatnya bakteri yang resisten terhadap antibiotika adalah masalah kritis pada kesehatan masyarakat. Infeksi yang disebabkan oleh bakteri resisten antibiotika berhubungan signifikan dengan morbiditas dan mortalitas di seluruh dunia (Chen *et.al*, 2019).

A.baumannii merupakan salah satu bakteri penyebab infeksi yang didapatkan di rumah sakit yang berat (Howard *et al*, 2012). Infeksi bakteri ini sering terjadi pada pasien dengan penyakit yang parah, dan pasien yang menjalani prosedur invasif serta penggunaan antibiotik spektrum luas. Oleh karena itu *A. baumannii* sering menginfeksi pasien yang dirawat di ICU dan menyebabkan penyakit seperti *ventilator associated pneumonia (VAP)*, bakteremia, infeksi luka operasi, infeksi saluran kencing, infeksi kulit dan jaringan sekitarnya, serta meningitis (Perez *et al*, 2007).

Banyak laporan menunjukkan bahwa *A. baumannii* dengan cepat dapat menyebabkan resistensi terhadap antimikroba (Mc Connell *et al.*, 2013). WHO menyatakan bahwa *A. baumannii* adalah salah satu organisme paling serius yang rentan terhadap efek obat antibakteri (Boucher *et al.*, 2009). Sejumlah mekanisme resistensi *A. baumannii* diketahui, termasuk degradasi obat secara enzimatik, modifikasi target,

pompa efluen *multidrug*, dan cacat permeabilitas (Gordon dan Wareham, 2010; Kim *et al.*, 2012; Lin dan Lan, 2014).

Penggunaan suatu antibakteri yang tidak bertanggung jawab secara luas, berulang, dan dalam jangka waktu yang panjang dapat menyebabkan munculnya resistensi terhadap antibakteri. Peningkatan resistensi terhadap antibiotika golongan karbapenem merupakan salah satu fenomena yang harus diwaspadai saat ini. Fenomena tersebut telah dibuktikan oleh penelitian tunggal di suatu rumah sakit maupun oleh analisis dengan menggunakan *database* berskala nasional. *European Centre for Disease Prevention and Control* (ECDC) mengungkapkan, resistensi dari *A. baumannii* terhadap *carbapenem* merupakan masalah yang menjadi perhatian khusus di Eropa karena terjadi peningkatan resistensi hingga mencapai di atas 25,00% pada 18 negara di Eropa (Halim, Yulia dan Setiawan, 2017).

Karbapenem adalah salah satu jenis antibakteri golongan β -laktam yang memiliki spektrum aktivitas antibakteri yang luas. Golongan ini seringkali digunakan sebagai antibakteri "*last line*" yang merupakan antibakteri pilihan terakhir ketika tidak terdapat antibakteri lain yang mampu mengobati infeksi yang terjadi. Salah satu perbedaan *carbapenem* dengan antibakteri lain, seperti dari golongan *penicillin* dan *cephalosporins*, adalah aktivitas karbapenem terhadap bakteri *P. aeruginosa* dan *A. baumannii* yang tidak dimiliki oleh setiap jenis penisilin dan sefalosporin (Halim, Yulia dan Setiawan, 2017).

Mekanisme resistensi karbapenem di *A. baumannii* yaitu produksi metallo- β -laktamase dan penghidrolisis karbapenem yang paling umum seperti oksasilinase, *OXA- β -lactamase* (OXA), tersebar luas di *A.baumannii* dan merupakan salah satu kelas enzim yang muncul dengan sejumlah besar varian yang diidentifikasi sejak 2005 (Landrie *et al.*, 2019).

Dengan demikian, penelitian ini dimaksudkan untuk menganalisis molekuler gen blaIMP Dan OXA-51 sebagai penanda resistensi karbapenem pada isolat *Acinetobacter Baumannii* Di RSUP Wahidin Sudirohusodo menggunakan metode PCR (*Polimerase chain reaction*).

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan pada latar belakang yang telah diuraikan sebelumnya, maka dapat dirumuskan masalahnya sebagai berikut :

1. Bagaimana distribusi *A. baumannii* yang telah resisten terhadap obat golongan karbapenem?
2. Apakah gen penentu resistensi ditemukan pada Isolat *A.baumannii*?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui distribusi resistensi bakteri *A.baumannii* terhadap obat golongan karbapenem.
2. Ditemukannya gen penentu resistensi pada isolat *A. baumannii* secara genotip

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat :

1. Memberikan data prevalensi resistensi bakteri *A. baumannii* terhadap obat golongan karbapenem
2. Memberikan gambaran secara fenotip dan genotip penentu resistensi pada bakteri *A. baumannii*

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

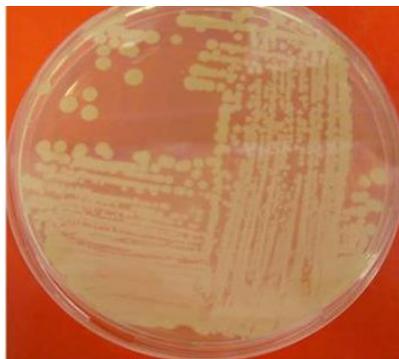
A. Tinjauan Umum *Acinetobacter baumannii*

Acinetobacter merupakan salah satu genus dalam family *Moraxellaceae*, Order *Pseudomonadales*, Kelas *Gammaproteobacteria*, dan Phylum *Proteobacteria*. Di dalam genus *Acinetobacter* terdapat 16 spesies yang berbeda, yaitu *A.calcoaceticus*, *A.baumannii*, *A.baylyi*, *A.baouvetii*, *A.gernerii*, *A.grimontii*, *A.haemolyticus*, *A.johnsonii*, *A.junii*, *A.lwoffii*, *A.radioresistens*, *A.schindleri*, *A.tandoii*, *A.tjernbergiae*, *A.towneri*, dan *A.ursingii* (Versalovic, 2011).

Acinetobacter baumannii (*A.baumannii*) adalah basil Gram-negatif yang bersifat aerob, pleomorfik dan non-motil dan patogen oportunistik, *A.baumannii* memiliki insidensi tinggi di antara individu yang mengalami gangguan kekebalan, terutama mereka yang telah di rawat di rumah sakit dalam waktu lama(> 90 hari) .Umumnya terkait dengan lingkungan air, telah terbukti berkoloni pada kulit serta mudah diisolasi dalam jumlah besar dari sekresi pernapasan dan orofaring individu yang terinfeksi (Howard *et.al*, 2012).

Acinetobacter dapat diidentifikasi ke tingkat genus sebagai Gram-negatif, katalase-positif, oksidase-negatif, non-motil, non-fermentasi coccobacilli. Namun, organisme sering sulit untuk menghilangkan noda dan, dengan demikian, sering salah diidentifikasi sebagai Gram-positif

(Gambar 1). Tidak ada tes metabolisme definitif yang dapat membedakan karakter *Acinetobacter* dari bakteri non-fermentasi Gram-negatif lainnya. Metode yang sering digunakan untuk mengidentifikasi tingkat genus bergantung pada kemampuan mutan *A. baylyi* strain BD413 trpE27 untuk ditransformasi oleh DNA kasar dari semua spesies *Acinetobacter* menjadi fenotip tipe liar (yaitu, uji transformasi). Sementara untuk identifikasi tingkat spesies, 28 tes fenotipik yang tersedia telah terbukti menjadi 95,6% efektif dalam mengidentifikasi *Acinetobacter* yang didapatkan dari kulit manusia. Namun, tes fenotipik sendiri telah terbukti tidak efektif dalam mengidentifikasi strain genomik *Acinetobacter* yang baru ditemukan (Howard *et.al*, 2012).



Gambar 1. Bentuk kompleks *Acinetobacter baumannii* (Howard *et.al*, 2012).

A. baumannii merupakan bakteri yang paling umum menjadi penyebab infeksi yang didapat di rumah sakit (*hospital acquired infection*). Bakteri ini mampu hidup pada hampir semua permukaan objek dan sangat rentan untuk menjadi multiresisten terhadap antibiotik. Kedua hal ini

merupakan hal yang sangat berperan terhadap terjadinya *hospital acquired infection*. Selain itu, bakteri ini juga sering ditemukan mengkolonisasi saluran cerna penderita yang dirawat di ruang rawat intensif (ICU) dan menjadi reservoir infeksi *A.baumannii* multiresisten yang penting dalam kejadian wabah dirumah sakit. Infeksi yang paling umum terjadi berkaitan dengan *Acinetobacter baumannii* adalah infeksi saluran nafas (berkaitan dengan pemasangan ETT atau trakeostomi), infeksi saluran kemih, dan infeksi luka, yang semuanya dapat bersifat progresif dan berujung pada sepsis. Faktor risiko terjadinya *hospital acquired infection* oleh karena *Acinetobacter baumannii* diantaranya adalah terapi antibiotik dan/atau pembedahan, instrumentasi, ventilasi mekanik, dan perawatan di ICU. Walaupun demikian, terisolasinya *A. baumannii* dari spesimen klinik lebih sering bersifat kolonisasi daripada infeksi (Versalovic, 2011).

Sebagai patogen, *A. baumannii* secara khusus menargetkan jaringan lembab seperti selaput lendir atau area kulit yang terpapar, baik melalui kecelakaan atau cedera. Kulit dan jaringan lunak yang terinfeksi *A. baumannii* awalnya hadir dengan penampilan "*peau d'orange*" (mirip dengan kulit jeruk) diikuti oleh presentasi seperti amblas yang pada akhirnya memberi jalan untuk membersihkan vesikel pada kulit. Di daerah gangguan kulit bula hemoragik dapat dilihat, dengan proses nekrotikans yang terlihat diikuti oleh bakteremia. Jika tidak diobati, infeksi ini dapat menyebabkan sepsis dan kematian. Meskipun kemungkinan

A.baumannii bertanggung jawab atas fitur-fitur yang dapat dikenali ini, co-pathogens, seperti *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans* dan *Enterococcus faecalis*, dianggap sebagai faktor yang berkontribusi. Co-patogen ini dapat menyebabkan infeksi nekrotikans dan dapat membuat nodus masuk ke dalam aliran darah untuk *A. Baumannii* (Howard *et.al*, 2012).

B. Tinjauan Umum Resistensi Antibiotika terhadap *A.baumannii*

Sejak 1980 survei berturut-turut telah menunjukkan peningkatan resistensi pada isolat klinis *A. baumannii*. Proporsi strain yang tinggi sekarang resisten terhadap obat antibakteri yang paling umum digunakan, termasuk aminopenisilin, ureidopenisillin, sefalosporin yang pertama (sefalotin) dan generasi kedua (sefamandole), sefamisin, seperti sefoksitin, kloramfenikol dan tetrasiklin, dan resistensi terhadap semua antibiotik yang dikenal. (yaitu resistensi pandrug) telah dilaporkan. Selain itu, dengan laporan resistensi terhadap polimiksin dan tigesiklin saat ini tidak ada agen antimikroba yang *A. baumannii* dapat dianggap rentan secara seragam (Gordon, 2014).

Terapi infeksi *A. baumannii* yang serius harus didasarkan pada hasil uji kepekaan antimikroba yang dilakukan dengan memadai, dan terapi empiris harus mempertimbangkan data kerentanan tingkat institusional terkini. Hingga saat ini, karbapenem tetap menjadi kelompok pilihan untuk infeksi *A. baumannii* yang serius, tetapi meningkatnya

resistensi (hingga 70%) telah dilaporkan dari beberapa negara, termasuk Portugal, Spanyol, Prancis dan Amerika Serikat. Meningkatnya prevalensi isolat *A. baumannii* (CRAB) yang resisten terhadap karbapenem sangat bermasalah karena ada beberapa pilihan terapi dan penelitian. telah mengindikasikan bahwa pasien dengan infeksi CRAB mungkin memiliki prognosis yang lebih buruk (Gordon, 2014).

Dalam kasus strain multi-atau pandrug-resisten, terapi kombinasi atau penggunaan agen seperti colistin dapat dipertimbangkan. Meskipun polimiksin tetap sangat aktif dalam studi in vitro baru-baru ini, ada laporan yang meningkat dari strain yang resisten dan data klinis menunjukkan bahwa terapi kombinasi mungkin bermanfaat. (Gordon, 2014).

Tigesiklin tetap kontroversial, meskipun aktif secara in vitro terhadap sebagian besar strain termasuk CRAB, karena beberapa studi melaporkan perkembangan resistensi atau munculnya infeksi *A. baumannii* meskipun terapi tigesiklin serta mortalitas yang lebih tinggi terkait dengan MIC tigesiklin ≥ 2 mg / L. Beberapa penelitian baru-baru ini merangkum agen antimikroba yang tersedia saat ini dan potensi penggunaannya dalam terapi infeksi *A. baumannii*, meskipun tidak ada data dari uji coba prospektif dan sebagian besar rekomendasi didasarkan pada data in vitro dan seri kasus kecil (Gordon, 2014).

A. baumannii telah menjadi salah satu patogen yang paling sukses dalam perawatan kesehatan modern karena kemampuan luar biasa untuk memperoleh resistensi antimikroba (Harding, et al. 2018). Beberapa strain

A. baumannii sangat resisten terhadap sebagian besar antibiotik yang tersedia secara klinis (Lin dan Lan, 2014). *A. baumannii* memiliki sejumlah mekanisme resistensi, termasuk β -laktamase, enzim pengubah aminoglikosida, pompa eflux, cacat permeabilitas, dan modifikasi situs target. Akumulasi dari beberapa mekanisme resistensi pada *A. baumannii* secara bertahap menurunkan jumlah kelas antibiotik yang tersedia untuk diobati (Lin dan Lan, 2014).

Mekanisme resistensi β -laktam terdiri dari beberapa mekanisme diantaranya :

1. β -Laktamase

Inaktivasi β -laktam oleh β -laktamase adalah mekanisme resistensi antibiotika utama pada *A. baumannii*. Berdasarkan urutan homologi , β -laktamase dikelompokkan ke dalam kelas molekul, A, B, C, dan D (Jeon *et al.*, 2015)(Bush dan Patricia, 2019). Semua empat kelas β -laktamase diidentifikasi dalam *A. baumannii*. Studi terbaru menunjukkan bahwa *A. baumannii* memiliki kemampuan alami untuk bergabung dengan DNA eksogen dan genomnya memiliki frekuensi DNA asing paling tinggi, sering menyiratkan transfer gen horizontal dalam hal ini patogen. Selain itu, albumin, protein utama dalam darah, meningkatkan kemampuan alami *A. baumannii* (Traglia *et al.*, 2016). Oleh karena itu, kemampuan alami *A. baumannii* dapat berkontribusi pada identifikasi sejumlah besar β -laktamase di patogen manusia yang mengancam ini (Jeon *et al.*, 2015).

Kelas A β -laktamase yang dihambat oleh klavulanat menghidrolisis penisilin dan sefalosporin lebih efisien daripada karbapenem, kecuali beberapa jenis enzim KPC (Jeon *et al.*, 2015). Sejumlah kelas A β -laktamase, termasuk TEM, SHV, GES, CTX-M, SCO, PER, VEB, KPC, dan CARB, telah diidentifikasi dalam *A. baumannii*. Beberapa enzim ini, seperti TEM-1, CARB-4, dan SCO-1, adalah spektrum sempit β -laktamase, sedangkan enzim lain (misalnya, PER-1, TEM-92, CARB-10, SHV-5, PER-2, CTX-M-2, CTX-M-15, VEB-1, GES-14, dan PER-7) adalah ESBL. Beberapa karbapenemase, seperti GES-14 dan KPC-2, telah terdeteksi di *A. baumannii* (Moubareck *et al.*, 2009; Bogaerts *et al.*, 2006).

Berbeda dengan β -laktamase yang bergantung pada serin (kelas A, C, dan D), kelas B β -laktamase adalah metallo- β -laktamase (MBL) yang membutuhkan seng atau logam berat lain untuk katalisis (Jeon *et al.*, 2015). Karena spektrum substrat yang luas, MBL mengkatalisis hidrolisis dari hampir semua antibiotik β -laktam termasuk karbapenem, tetapi bukan monobaktam (Jeon *et al.*, 2015).

β -laktamase kelas C menimbulkan masalah terapeutik karena dapat memberikan resistensi terhadap sefamisin (sefoksitin dan sefotetan), penisilin, sefalosporin, dan kombinasi inhibitor β -laktamase, tetapi tidak secara signifikan dihambat. Secara klinis digunakan inhibitor β -laktamase, seperti asam klavulanat (Jeon *et al.*, 2015). *A.baumannii* memiliki sefalosporinase AmpC intrinsik (Gordon dan Wareham, 2010).

Kelas D β -laktamase disebut OXA (oksasilin), karena pada umumnya menghidrolisis isoksazolipenisilin. Oksasilin lebih banyak dari benzilpenisilin (Jeon *et al.*, 2015). Lebih dari 400 enzim tipe OXA telah diidentifikasi dan banyak varian memiliki aktivitas karbapenemase. Munculnya kelas D β -laktamase atau MBL adalah salah satu mekanisme resistensi karbapenem utama dalam *A. baumannii* (Lin dan Lan, 2014). Subkelompok karbapenem menghidrolisis OXA, seperti OXA-23, OXA-24, OXA-51, dan subkelompok OXA-58, lazim di *A. baumannii*. OXA-23 enzim pertama kali diidentifikasi dalam isolat *A. baumannii* di Inggris pada tahun 1985 (Perez *et al.*, 2007). Gen blaOXA-23 telah menyebar ke seluruh dunia, dan frekuensi strain *A. baumannii* yang memproduksi OXA-23 sangat tinggi (Mugnier *et al.*, 2010; Al-Agamy *et al.*, 2016). Satu laporan terbaru dari Lebanon menunjukkan 76,5% dari 119 isolat *A. baumannii* resisten terhadap karbapenem, dan OXA-23 β -laktamase telah ditemukan pada 82 isolat (Al Atrouni *et al.*, 2016).

2. Pompa Efflux

Pompa Efflux dikaitkan dengan resistensi terhadap berbagai kelas antibiotik, seperti imipenem (Hu *et al.*, 2007) dan tigesiklin (Peleg *et al.*, 2007; Ruzin *et al.*, 2007), dalam *A. baumannii*. Pembalikan resistensi antibiotik oleh inhibitor pompa efluks, seperti *1-(1-naphthylmethyl)-piperazine* dan *carbonyl cyanide 3-chlorophenyl-hydrazone*, mendukung pentingnya pompa efflux pada resistensi antibiotika *A. baumannii*. Empat kategori pompa efluks, seperti superfamili pembagian-nodulasi-resistensi,

kelompok ekstrusi multi-obat dan racun, superfamili fasilitator utama, dan transporter kelompok resistensi multi-obat kecil, terkait dengan resistensi antimikroba di *A. baumannii* (Lin dan Lan, 2014).

Isolat klinis *A.baumannii* memiliki kemampuan yang kuat untuk membentuk biofilm (Rodriguez-Bano *et al.*, 2008). Terutama, konsentrasi antibiotika sub inhibitor yang ditemui oleh terapi dosis rendah tampaknya sangat menginduksi pembentukan biofilm (Kaplan, 2011). Hasil terbaru mengungkapkan mekanismenya. Ekspresi berlebihan dari pompa eflux AdeFGH dengan terapi antimikroba dosis rendah meningkatkan sintesis dan transportasi molekul autoinducer, yang menginduksi pembentukan biofilm. Hasil ini menunjukkan hubungan antara terapi antimikroba dosis rendah dan risiko tinggi untuk infeksi biofilm yang disebabkan oleh *A. baumannii*.

3. Kerusakan Permeabilitas

Perubahan permeabilitas amplop dapat memengaruhi resistensi antibiotik. Sebagai contoh, porin membentuk saluran yang memungkinkan transportasi molekul melintasi membran luar dan memainkan peran penting dalam virulensi *A. baumannii*. Karena porin mempengaruhi permeabilitas membran, juga memainkan peran penting dalam mekanisme resistensi. Mengurangi ekspresi beberapa porins, termasuk CarO), Omp22-33, Omp33-36, Omp37, Omp43 , Omp44 dan Omp47 , dikaitkan dengan resistensi karbapenem pada *A. baumannii*. Hilangnya Omp29 pada *A. baumannii* yang memproduksi karbapenemase seperti

OXA-51 atau OXA-23 menghasilkan peningkatan resistensi imipenem (Jeong *et al.*, 2009; Fonseca *et al.*, 2013). OmpA juga terkait dengan resistensi terhadap aztreonam, kloramfenicol, dan asam nalidiksat (Smani *et al.*, 2014). Satu studi menunjukkan bahwa OmpA dan CarO berinteraksi secara fisik dengan OXA-23 karbapenemase, dan interaksi ini terkait dengan resistensi antibiotik (Wu *et al.*, 2016). Hasil ini memberikan pandangan baru untuk meningkatkan pemahaman tentang mekanisme resistensi antibiotik bakteri. Selain protein membran luar, komponen seperti LPS dan peptidoglikan, juga memengaruhi resistensi antibiotika *A. baumannii*. Kehilangan atau modifikasi LPS mengurangi membrane integritas dan meningkatkan resistensi colistin di *A. baumannii* (Adams *et al.*, 2009; Moffatt *et al.*, 2010).

4. Modifikasi Enzim Aminoglikosida

Enzim pengubah aminoglikosida adalah mekanisme utama dimana *A. baumannii* memberikan resistensi terhadap aminoglikosida. Enzim pemodifikasi aminoglikosida dapat digolongkan ke dalam asetilasi transferase, adeniltransferase, dan fosfotransferase. Enzim ini biasanya hadir pada elemen transposable dan ditransfer di antara bakteri patogen (Lin dan Lan, 2014). Beberapa laporan menunjukkan bahwa banyak isolat MDR *A. baumannii* menghasilkan kombinasi enzim pemodifikasi aminoglikosida. Sebuah studi dari Cina mengidentifikasi strain MDR *A. baumannii* yang membawa empat enzim pengubah aminoglikosida (Zhu *et al.*, 2009). Studi lain dari Yunani melaporkan bahwa semua strain *A.*

baumannii mengandung enzim pengubah aminoglikosida menunjukkan tingginya prevalensi enzim ini pada *A. baumannii*.

5. Perubahan Situs Target

Modifikasi pada situs target antibiotik untuk antibiotik dapat menginduksi resistensi antibiotik pada *A. baumannii*. Dengan tidak adanya mekanisme resistensi yang dikenal lainnya, hanya overekspresi perubahan PBP dengan afinitas rendah untuk imipenem menginduksi resistensi imipenem. Resistensi kuinolon dikaitkan dengan modifikasi dalam GyrA (satu subunit DNA *gyrase*) dan ParC (satu subunit topoisomerase IV) pada isolat *A. baumannii* yang tidak terkait secara epidemiologis. *A. baumannii* TetM, yang memiliki 100% homologi dengan *S.aureus* TetM, telah diusulkan untuk dikaitkan dengan resistensi tetrasiklin melalui ribosom perlindungan. Mirip dengan bakteri patogen lainnya, reduktase dihydrofolate (DHFR dan Fola) bertanggung jawab untuk resistensi trimetoprim telah ditemukan pada isolat nosokomial MDR *A. baumannii*. The 16S rRNAmethylase ArmA yang bertanggung jawab untuk resistensi aminoglikosida juga ditemukan di banyak strain *A. baumannii* dan selalu hidup berdampingan dengan karbapenemase tipe OXA seperti OXA-23 (Yu *et al.*, 2007; Cho *et al.*, 2009) Seperti dijelaskan di atas, banyak penelitian telah menunjukkan bahwa modifikasi atau kehilangan LPS menurunkan kerentanan *A. baumannii* terhadap banyak antibiotika penting, seperti kolistin.

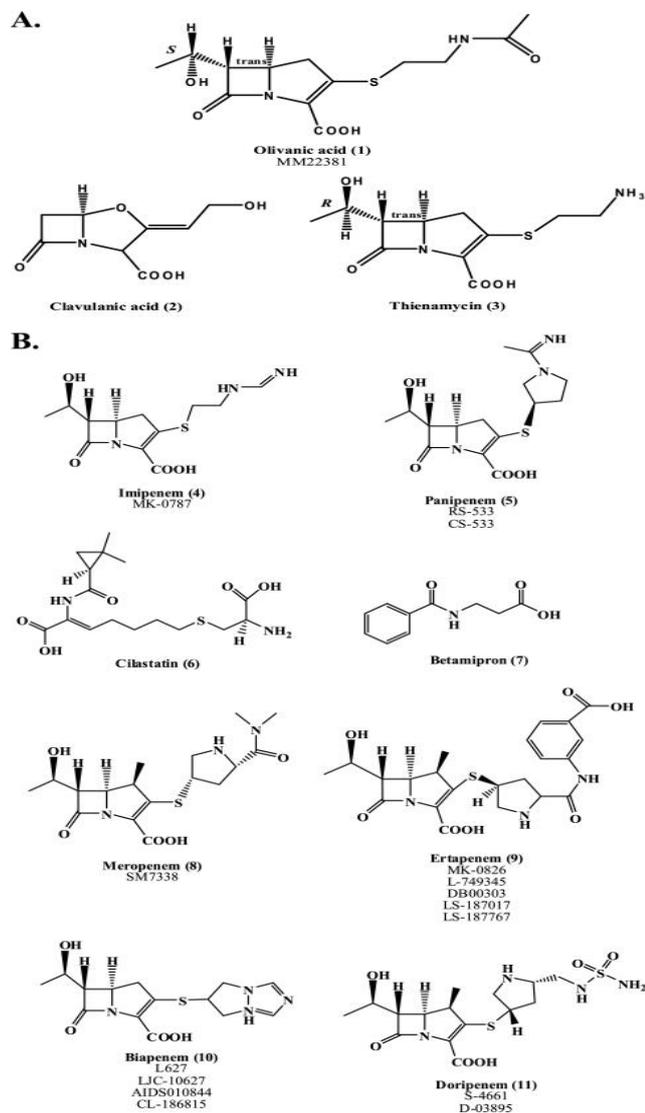
C. Tinjauan umum Karbapenem

Karbapenem adalah antimikroba β -laktam bakterisidal dengan indikasi pada infeksi parah yang disebabkan oleh bakteri penghasil β -laktamase. Ada beberapa contoh, yaitu imipenem, meropenem, doripenem, ertapenem, panipenem dan biapenem, yang digunakan di seluruh dunia sebagai akibat dari meningkatnya resistensi terhadap antimikroba sefalosporin dalam kelompok *Enterobacteriaceae*. Mekanisme resistensi yang muncul baru-baru ini terakumulasi melalui penyebaran β -laktamase yang menghancurkan karbapenem meninggalkan pilihan terapi yang sempit. Pencarian agen karbapenem awalnya dari berbagai sumber. Di antara golongan karbapenem ini, pemilihan untuk perawatan tergantung pada patogen yang ada (Codjoe dan Donkor, 2018).

Asam olivan adalah produk alami yang diproduksi oleh bakteri *Streptomyces clavuligerus* Gram-positif. Asam Olivanic memiliki "tulang punggung karbapenem" (karbon pada posisi 1, substituen pada C-2, etoksi C-6, dan C-3 hibridisasi sp^2) dan bertindak sebagai spektrum luas β -laktam. Karena ketidakstabilan kimiawi dan penetrasi yang buruk ke dalam sel bakteri, asam-asam olivan tidak diusahakan lebih lanjut. Tak lama kemudian, dua inhibitor β -laktamase superior ditemukan: (i) asam klavulanat (senyawa 2) dari *S. clavuligerus*, inhibitor β -laktamase pertama yang tersedia secara klinis, dan (ii) thienamycin (senyawa 3) dari *Streptomyces cattleya*. Thienamycin adalah "karbapenem" pertama dan akhirnya akan berfungsi sebagai senyawa induk atau model untuk semua

karbapenem. Serangkaian karbapenem lainnya juga diidentifikasi, Namun, penemuan thienamycin adalah yang terpenting (Papp-wallace *et.al*, 2011).

Istilah karbapenem didefinisikan sebagai cincin laktam penisilin 4: 5 dari penisilin dengan ikatan rangkap antara C-2 dan C-3 tetapi dengan substitusi karbon untuk sulfur pada C-1. Rantai samping hidroksietil thienamycin adalah perubahan radikal dari struktur penisilin dan sefalosporin konvensional, yang semuanya memiliki substituen asilamino pada cincin β -laktam; stereokimia rantai samping hidroksietil ini adalah atribut utama karbapenem dan penting untuk aktivitas. Hebatnya, thienamycin menunjukkan aktivitas antibakteri spektrum luas dan aktivitas penghambatan β -laktamase. Meskipun thienamycin adalah produk alami dan jalur biosintesis ditentukan, hasil dari proses pemurnian rendah. Dengan berlalunya waktu, sediaan sintesis thienamycin dianggap lebih penting, terutama sebagai turunan utama, imipenem (senyawa 4), ditemukan (Papp-wallace *et.al.*, 2011).



Gambar 2. Struktur Kimia Karbapenem. (Papp-wallace *et.al.*, 2011).

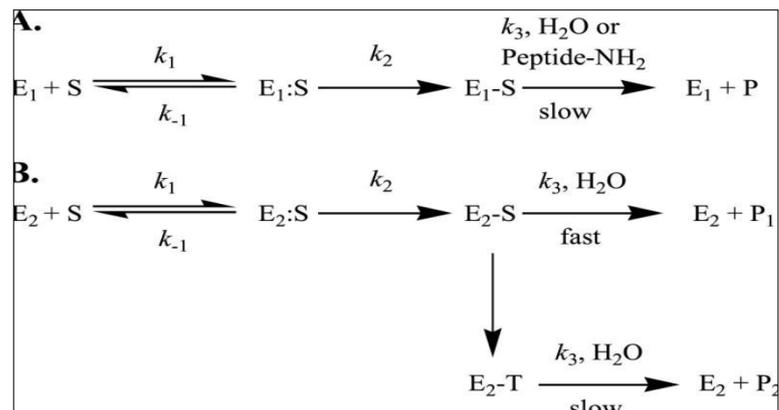
Seperti β -laktam lainnya, thienamycin terikat pada protein pengikat penisilin (PBPs). Seiring waktu, antusiasme untuk senyawa ini tumbuh dengan cepat, karena thienamycin menunjukkan aktivitas mikrobiologis penghambatan terhadap bakteri Gram-negatif, termasuk isolat *Pseudomonas aeruginosa*, serta anaerob, seperti *Bacteroides fragilis*, dan bakteri Gram-positif, seperti methicillin atau oxacillin- *Staphylococcus aureus* dan streptokokus yang sensitif (Papp-wallace *et.al.*, 2011).

Sayangnya, thienamycin ditemukan tidak stabil dalam larutan air, sensitif terhadap hidrolisis basa ringan (di atas pH 8,0), dan sangat reaktif terhadap nukleofil, seperti hidroksilamin, sistein, dan bahkan amina primer thienamycin sendiri. Ketidakstabilan kimiawi thienamycin menstimulasi pencarian turunan analog dengan peningkatan stabilitas. Karena evolusi berkelanjutan patogen Gram-negatif dan Gram-sefalosporin yang resisten, senyawa yang berasal dari thienamycin diperkirakan memiliki nilai yang lebih besar seiring berjalannya waktu (Papp-wallace *et.al.*, 2011).

1. Mekanisme kerja

Sebagai kelas β -laktam, karbapenem tidak mudah berdifusi melalui dinding sel bakteri. Secara umum, karbapenem memasuki bakteri Gram-negatif melalui protein membran luar (OMPs), juga dikenal sebagai porins. Setelah *transversing* ruang periplasmik, karbapenem secara permanen mengasetilasi PBP (untuk mekanismenya, lihat Gambar 3). PBP adalah enzim (misalnya *Transglikolase*, *transpeptidase*, dan *karboksipeptidase*) yang mengkatalisis pembentukan peptidoglikan di dinding sel bakteri. Informasi terkini dalam proses ini menunjukkan bahwa tulang punggung *glycan* membentuk heliks tangan kanan dengan periodisitas tiga per putaran heliks. Karbapenem bertindak sebagai inhibitor berbasis mekanisme dari domain peptidase PBP dan dapat menghambat peptida *cross-linking* serta reaksi peptidase lainnya. Faktor kunci dari kemanjuran karbapenem adalah kemampuannya untuk mengikat beberapa PBP yang berbeda. Karena pembentukan dinding sel adalah "proses tiga dimensi"

yang dinamis dengan pembentukan dan autolisis terjadi pada saat yang sama, ketika PBP dihambat, autolisis berlanjut. Akhirnya peptidoglikan melemah, dan sel meledak karena tekanan osmotik (Papp-wallace *et.al.*, 2011).



Gambar 3. Skema enzimatik untuk penghambatan β -laktam dari PBP (Papp-wallace *et.al.*, 2011).

2. Aktivitas mikrobiologi

Karbapenem menunjukkan spektrum antimikroba yang lebih luas secara keseluruhan secara *in vitro* dibandingkan dengan penisilin, sefalosporin, dan kombinasi inhibitor β -laktam / β -laktamase yang tersedia secara keseluruhan. Secara umum, imipenem, panipenem, dan doripenem adalah antibiotika yang ampuh melawan bakteri Gram-positif. Meropenem, biapenem, ertapenem, dan doripenem sedikit lebih efektif melawan organisme Gram-negatif. Pertimbangan penting di sini adalah sebagai berikut: (i) ertapenem memiliki spektrum yang lebih terbatas, karena tidak seaktif imipenem atau meropenem terhadap *P. aeruginosa*; (ii) meropenem tidak sekuat imipenem atau doripenem terhadap *Acinetobacter baumannii*; (iii) doripenem memiliki MIC yang lebih rendah

daripada imipenem dan meropenem dibandingkan *P. aeruginosa* dan *A. baumannii*. Selain itu, doripenem adalah karbapenem yang paling tidak rentan terhadap hidrolisis oleh karbapenemase; hidrolisis doripenem 2 - 150 kali lipat lebih lambat dari pada imipenem; (iv) aplikasi unik dari meropenem adalah bahwa ketika dikombinasikan dengan asam klavulanat, ia ampuh membunuh MDR *Mycobacterium tuberculosis*, bakteri yang biasanya tidak rentan terhadap β -laktam karena β -laktamase yang diekspresikan secara kromosom. Kemampuan untuk menghambat atau membunuh *M. tuberculosis* ini kemungkinan merupakan sifat dari karbapenem lain ketika penelitian di bidang ini berkembang (Papp-wallace *et.al.*, 2011).

Karbapenem juga dapat dikombinasikan dengan antimikroba lain untuk mengobati infeksi serius. Terapi kombinasi adalah subjek yang sangat menarik, karena munculnya patogen MDR sering mengharuskan kita untuk merawat pasien dengan lebih dari satu antibiotika. Daftar kombinasi antibiotika yang telah diuji in vitro terhadap organisme MDR umum dan efeknya ditampilkn pada Tabel 1. Beberapa kombinasi menunjukkan efek positif, seperti memperluas spektrum atau bekerja secara aditif atau sinergis. Efek samping termasuk peningkatan resistensi terhadap salah satu obat yang digunakan dalam kombinasi, serta kurangnya sinergi atau aditivitas dan ketergantungan regangan. Debat lengkap tentang manfaat dan kelemahan terapi kombinasi dengan karbapenem berada di luar cakupan ulasan ini (Papp-wallace *et.al.*, 2011).

Tabel 1. Terapi kombinasi Karbapenem yang diuji secara in vitro (Papp-wallace *et.al.*, 2011).

Obat 1	Obat 2	Bakteri	Hasil
Doripenem atau imipenem	Vancomycin	MRSA	+
Doripenem	Teicoplanin	MRSA	+
Imipenem	Linezolid	MRSA	+
Imipenem	Teicoplanin	VRSA	+
Meropenem	Levofloxacin	<i>S. pneumonia</i>	+
Meropenem	Rifampin	<i>S. pneumonia</i>	-
Imipenem atau meropenem	Clavulanic acid	<i>Nocardia brasiliensi</i>	-
Meropenem	Clavulanic acid	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	+
Meropenem	Ciprofloxacin	<i>A. baumannii</i>	+
Imipenem atau meropenem	Colistin (and sulbactam)	<i>A. baumannii</i>	+
Meropenem	Sulbactam	<i>A. baumannii</i>	+
Imipenem	Azithromycin	<i>A. baumannii</i>	+
Imipenem	Rifampin	<i>A. baumannii</i>	+
Imipenem	Polymyxin B	<i>A. baumannii</i>	-
Imipenem	Amikacin	<i>A. baumannii</i>	-
Karbapenem	Fluoroquinolone	<i>P. aeruginosa</i>	+
Imipenem	Tachyplesin	<i>P. aeruginosa</i>	+
Meropenem atau imipenem	Colistin	<i>P. aeruginosa</i>	+/-
Karbapenem	Aminoglycoside	<i>P. aeruginosa</i>	-
Meropenem	Polymyxin B	<i>P. aeruginosa</i>	-
Imipenem atau meropenem	Tobramycin-rifampin	<i>B. cepacia</i>	+
Imipenem atau meropenem	Ciprofloxacin	<i>B. cepacia</i>	+
Imipenem	Colistin	MBL <i>K. pneumoniae</i>	+
Imipenem	Tigecycline	ESBL <i>K. pneumoniae</i> and <i>E. coli</i>	-
Imipenem	Gentamicin	ESBL <i>K. pneumoniae</i> and <i>E. coli</i>	-

3. Farmakologi dan penggunaan klinis

Secara singkat, semua karbapenem yang tersedia secara klinis memiliki bioavailabilitas oral yang rendah dan karenanya tidak mudah melintasi membran gastrointestinal dan harus diberikan secara intravena; imipenem-cilastatin dan ertapenem juga dapat diberikan secara intramuskuler. Seperti halnya β -laktam lainnya, semua karbapenem ini sebagian besar dieliminasi dengan ekskresi ginjal. karbapenem menunjukkan sifat farmakologis yang unik dan biasanya digunakan untuk mengobati infeksi bakteri yang rumit. Karbapenem sering dikombinasikan dengan antibiotika yang menargetkan bakteri Gram-positif bila digunakan untuk pengobatan empiris pasien dengan infeksi nosokomial serius yang tidak diketahui asalnya (Papp-wallace *et.al.*, 2011).

D. Deteksi Laboratorium Organisme resisten Karbapenem

a. Metode Berbasis Fenotip

Tes dasar yang pertama kali memprediksi produksi enzim karbapenemase adalah difusi cakram atau penggunaan sistem otomatis. Sebelum pengujian kerentanan ini, diperlukan identifikasi spesies bakteri yang memakan waktu sekitar dua hari untuk patogen bakteri umum, dan meskipun sangat akurat, ada masalah yang melekat dalam diferensiasi antara diperoleh dan resistensi intrinsik (Codjoe dan Donkor, 2018).

Untuk difusi cakram, cakram diresapi yang mengandung jumlah standar agen antibiotika ditempatkan di atas agar agar diunggulkan

dengan bakteri untuk diuji. Saat organisme tumbuh selama inkubasi semalaman, agen antibiotika berdifusi ke dalam media agar. Kerentanan organisme uji sebanding dengan zona hambatan yang dihasilkan oleh antibiotika yang digunakan. Dengan sistem otomatis, instrumen digunakan untuk menganalisis pengujian kerentanan antibiotika dengan inokulum standar untuk jenis uji dan diencerkan dalam kaldu khusus dengan ditambahkan satu tetes indikator uji kerentanan antimikroba. Kekeruhan inokulum akhir disesuaikan dengan 0,5 McFarland Standard. Inokulum dituangkan ke dalam panel, ditutup di tempat yang aman dan panel yang diinokulasi kemudian ditempatkan ke, misalnya, instrumen untuk sistem otomatis VITEK atau VITEK-2. Panel kemudian dibaca secara otomatis oleh instrumen, data yang dihasilkan dianalisis dengan algoritma pendahuluan dan dibandingkan dengan hasil terkontrol yang sesuai. Salah satu atau kedua metode telah menunjukkan variabilitas dalam kemampuannya terkait dengan mekanisme yang mendasari resistensi karbapenem. Beberapa laporan deteksi karbapenemase menggunakan metode berbasis fenotip pada spesies *Acinetobacter*, *Pseudomonas* dan *Enterobacteriaceae* telah didokumentasikan. Referensi Level MIC lebih sensitif dalam menentukan *breakpoint* resisten untuk kerentanan karbapenem oleh mikrodilusi kaldu dan pengenceran agar, menurut Patel *et al.*, selain E-test, difusi disk dan banyak sistem otomatis. Misalnya, sejumlah sistem otomatis yang dipelajari oleh Queenan dan Bush mengidentifikasi hingga 87% isolat studi *Klebsiella pneumoniae* yang

memproduksi KPC rentan terhadap imipenem atau meropenem (Codjoe & Donkor, 2018).

Tabel 2. Nilai breakpoint konsentrasi hambat minimum/MIC (mg / L) untuk karbapenem menurut pedoman di Eropa (EUCAST) dan Amerika Serikat (CLSI) (Codjoe & Donkor, 2018).

	EUCAST						CLSI					
	<i>Enterobacteriaceae</i>		<i>Acinetobacter</i>		<i>Pseudomonas</i>		<i>Enterobacteriaceae</i>		<i>Acinetobacter</i>		<i>Pseudomonas</i>	
Karbapenem	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R
Doripenem	≤1	≥4	≤1	≥2	≤1	≥2	≤1	≥4	≤2	≥8	≤1	≥8
Ertapenem	≤0,5	≥1	-	-	-	-	≤0,5	≥2	-	-	-	-
Imipenem	≤2	≥8	≤2	≥8	≤4	≥8	≤1	≥4	≤2	≥8	≤2	≥8
Meropenem	≤2	≥8	≤2	≥8	≤2	≥8	≤1	≥4	≤2	≥8	≤2	≥8

Keterangan, EUCAST: *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (www.eucast.org/clinical_breakpoints), version 7.1, 2017; CLSI: *Clinical and Laboratory Standards Institute*, 27th ed. CLSI document M100S 27, 2017; S: sensitive; R: resistant.

b. Teknik Berbasis Genotip

Teknik molekuler telah menjadi alat yang efisien untuk deteksi karbapenemase. *Polymerase chain reaction* (PCR) yang dilakukan pada koloni dapat memberikan hasil dalam waktu 4 hingga 6 jam dengan sensitivitas dan spesifisitas yang sangat baik dan ini dapat mengurangi kemungkinan penyebaran organisme di rumah sakit. Wang *et al.* melaporkan uji real-time PCR dengan spesifisitas dan sensitivitas pada 100% dibandingkan dengan 90% aktivitas KPC fenotipik ketika dinilai dengan tes Hodge (MHT) yang dimodifikasi dan pengurutan. Baru-baru ini, multiplex PCR dan teknik microarray untuk mendeteksi beberapa gen karbapenemase dalam satu tes telah dihasilkan. Ini sebagian besar terfokus pada deteksi gen pada *Enterobacteriaceae* termasuk subkelompok dari karbapenemase. Batas alat modern ini tidak memiliki

urutan kesamaan dengan gen yang telah dijelaskan. Studi sebelumnya sebagian besar memfokuskan energi mereka pada deteksi KPC. Dengan kemunculan gen yang sama pentingnya juga menyebar luas pada plasmid, NDM, VIM dan IMP dalam kelompok Kelas B dan serine Karbapenemase Kelas D OXA-48 yang baru-baru ini terdeteksi lemah oleh metode fenotipik telah merevolusi teknik molekuler yang berbeda. Ini adalah untuk meningkatkan deteksi gen resistensi dominan yang tidak diketahui dan variannya untuk mengendalikan penyebaran sporadis ke fasilitas layanan kesehatan dan pengaturan masyarakat . Terlepas dari kontribusi yang sangat besar dari uji berbasis molekuler, mereka memiliki kelemahan dan frustrasi sendiri untuk pengguna akhir terutama karena kurangnya personel yang terlatih untuk mengelola peralatan, memakan waktu dan biaya semua bahan habis pakai dan reagen. Seperti yang dilaporkan dalam dua penelitian sebelumnya oleh Naas *et al.* dan Nordmann *et al.* , uji molekuler yang digunakan harus dibuat semurah mungkin, spesifik, sensitif mungkin untuk deteksi gen yang diinginkan dan cepat untuk mendeteksi gen resistansi laktamase untuk menghindari ambiguitas hasil untuk meningkatkan kualitas perawatan (Codjoe & Donkor, 2018).

E. Tinjauan Umum PCR

Polymerase chain reaction (PCR), ditemukan oleh ilmuwan Kary Mullis diawal 1980-an, dan untuk itu ia memenangkan Hadiah Nobel pada tahun 1993, memungkinkan peneliti untuk memperkuat potongan-

potongan DNA dengan beberapa urutan besarnya. Teknik ini telah merevolusi banyak aspek penelitian saat ini, termasuk kloning dan sekuensing DNA, analisis fungsional gen, diagnosis penyakit turunan atau infeksi, identifikasi sidik jari genetik, dan sebagainya. Komponen dasar dari reaksi PCR meliputi templat DNA, primer, nukleotida, DNA polimerase, dan buffer (DeLong, 2015).

Template DNA biasanya adalah DNA sampel, yang berisi tempat DNA yang akan diamplifikasi. Itu bisa berupa DNA plasmid, DNA genomik, atau bahkan sejumlah kecil jaringan (DeLong, 2015).

PCR menggunakan sejumlah kecil templat DNA, dua primer itu mengikat urutan target, nukleotida, dan DNA termotabil polimerase untuk memperkuat wilayah DNA tertentu, sehingga menciptakan DNA dalam jumlah besar dari sampel yang sangat kecil (Clark, 2013). DNA templat biasanya diberikan pada konsentrasi yang sangat rendah dalam reaksi PCR, 1 pg-1 ng plasmid atau templat virus, 1 ng – 1 µg templat genomik (DeLong, 2015)

Primer adalah oligonukleotida DNA yang pendek (biasanya 15-25 nukleotida) dengan urutan spesifik yang disintesis khusus pada Synthesizer DNA otomatis (DeLong, 2015).

PCR sangat sensitif karena hanya sejumlah jejak DNA templat yang merupakan urutan yang akan diamplifikasi diperlukan dalam reaksi (Caetano, 2013).

Komponen- komponen yang diperlukan pada proses PCR adalah templat DNA; sepasang primer, yaitu suatu oligonukleotida pendek yang mempunyai urutan nukleotida yang komplementer dengan urutan nukleotida DNA templat; dNTPs (Deoxynucleotide triphosphates); buffer PCR; magnesium klorida ($MgCl_2$) dan enzim polimerase DNA. Proses PCR melibatkan beberapa tahap yaitu: (1) pra-denaturasi DNA templat; (2) denaturasi DNA templat; (3) penempelan primer pada templat (annealing); (4) pemanjangan primer (extension) dan (5) pemantapan (postextension). Tahap (2) sampai dengan (4) merupakan tahapan berulang (siklus), di mana pada setiap siklus terjadi duplikasi jumlah DNA (Handoyo, 2000).

F. Tinjauan Umum VITEK-2

Teknologi terbaru menggunakan *Vitek-2 compact* ini memudahkan pemakaiannya, yaitu hanya dengan 3 tahap pemeriksaan yang akan mudah diperoleh hasil pengenalian (identifikasi) dan kepekaan (sensitivitas) antibiotik yang sudah diabsahkan (validasi) dan ditafsirkan (interpretasikan) sesuai dengan bakuan(standar) internasional (*CLSI* =*Clinical laboratory Standard International*) (Prihatini, et. al. 2007).

Vitek 2 compact adalah sistem identifikasi mikroba otomatis yang memberikan hasil yang sangat cepat, akurat dan berbasis komputer. Vitek 2 compact menawarkan platform teknologi canggih untuk metode identifikasi fenotipik. Vitek 2 memberikan teknik identifikasi spesies yang otomatis, bergantung pada teknologi kolorimetri, pengukuran pelemahan

cahaya yang terkait dengan setiap reaksi biokimiawi dalam kartu Vitek (*gram negative fermenting and non-fermenting bacilli* (GN), *gram-positive cocci and nonspore-forming bacilli* (GP), *yeasts and yeastlike organisms* (YST), *gram-positive sporeforming bacilli* (BCL)). Sistem Vitek-2 compact menggabungkan beberapa keunggulan seperti identifikasi cepat, metodologi sederhana, otomatisasi tingkat tinggi, dan basis data yang diperbarui secara taksonomis (Sony dan Potty, 2017).

1. Kartu VITEK-2

Kartu *Vitek-2* terdiri atas 2 jenis kartu, kartu ID untuk pengenalan (identifikasi) dan kartu AST untuk uji kepekaan (sensitivitas) antibiotik. Setiap kartu dilengkapi dengan angka sandi batang (*barcode*). Kartu *Vitek-2* memiliki asas (konsep) among (yang unik) dengan gabungan (kombinasi) 600 jenis substrat uji kolorimetrik yang sangat khas (spesifik) untuk membedakan antar spesies, sehingga 98% isolat klinik dapat ditemukan (deteksi) dengan sistem tunggal ini secara cepat. Menu kartu *Vitek-2* sangat lengkap, berikut ini tabel jenis kartu, ketepatan pengenalan (identifikasi) dan waktu menemukan (deteksi) (Prihatini, *et. al.* 2007).



Gambar 4. Alat *VITEK-2* untuk pengenalan (identifikasi), uji kepekaan antibiotika bakteri dan jamur



Gambar 5. Kartu untuk pengenalan (identifikasi) satu koloni tanaman (inokulum) *VITEK-2 compact*

Dalam setiap kartu kepekaan (sensitivitas) antimikroba (AST) terdapat 16–20 jenis antimikroba dalam berbagai kepekatan (konsentrasi), pemilihan kartu AST disesuaikan dengan jenis bakterinya, sedangkan untuk antifungal, di satu kartu terdapat 4 jenis antifungal dalam berbagai kepekatan (konsentrasi).

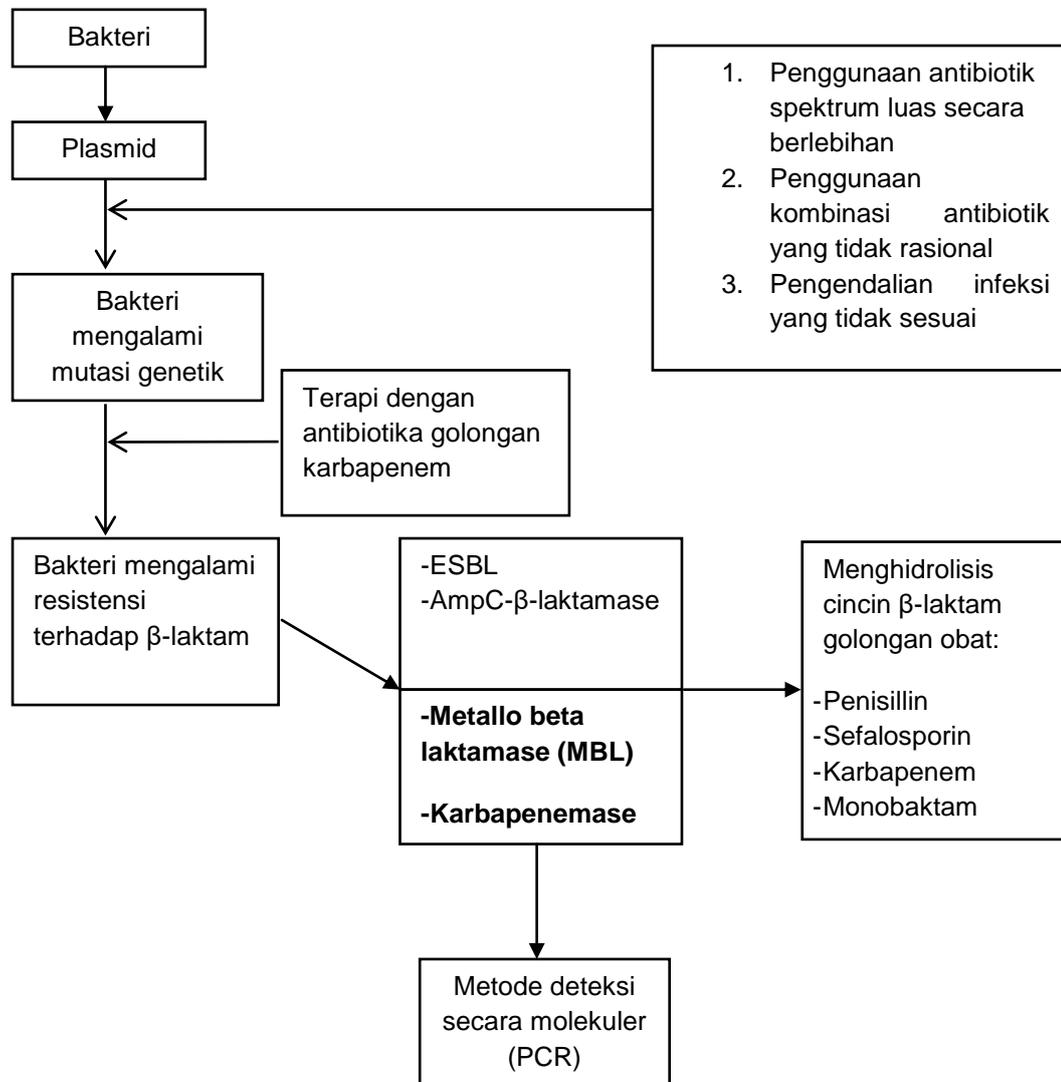
2. Keuntungan *software*

Kartu ID atau AST sangat ringan (16 g) dan kecil kemungkinan menimbulkan penyakit. Sistem zat pereaksi (reagen) tertutup, sehingga kecil kemungkinan terjadi cemaran, selain itu kecil kemungkinan kesalahan yang disebabkan kartu biru untuk ID dan abu-abu untuk AST. Kartu ID masing-masing bersandi batang (*barcode*) dengan kerahasiaan maksimal (*maximixed security*) (Prihatini, *et. al.* 2007).

3. Keuntungan hasil cepat dan tepat (akurat)

Dengan hasil pemeriksaan yang cepat dan tepat (akurat) tentunya akan memberikan dampak positif bagi penderita, laboratorium dan peklinik. Bagi penderita, biaya akan lebih kecil karena masa perawatan berkurang dari biasanya. Bagi laboratorium, terdapat penghematan waktu dan tenaga, selain itu terdapat kepercayaan diri dalam mengeluarkan hasil pemeriksaan. Bagi peklinik, diagnosis yang benar memberikan ketepatan terapi antibiotik, sehingga dapat mengurangi pemakaian antibiotik yang tidak tepat yang pada akhirnya akan mengurangi MDRO (*Multi Drug Resistant Organisme*). Dibandingkan dengan cara menggunakan pedoman/manual (konvensional) memerlukan waktu > 12 jam tetapi dengan VITEK-2 hanya memerlukan waktu 1,5 jam (Prihatini, *et. al.* 2007).

G. Kerangka Teori



Gambar 6. Kerangka Teori

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Rancangan penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen Laboratorium dengan menganalisis isolat *A. baumannii* secara Fenotip dan Genotip pasien dari Rumah Sakit Umum Pusat Dr. Wahidin Sudirohusodo. Analisis resistensi menggunakan data uji sensitivitas antibiotika dan deteksi gen *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

Pengambilan sampel berupa isolat stok dan Uji Fenotip dilakukan di Rumah Sakit Umum Pendidikan DR Wahidin Sudirohusodo dan untuk Uji Genotip dilakukan di Laboratorium HUM-RC RS Pendidikan Universitas Hasanuddin Makassar. Penelitian ini dilakukan pada periode Mei - Juli 2019.

C. Populasi, Subjek Penelitian, Sampel, Teknik Sampling dan Besar Sampel

1. Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah semua isolat stok yang berasal dari Rumah Sakit Wahidin Sudirohusodo Kota Makassar yang diidentifikasi sebagai *A.baumannii*.

2. Subjek dan Sampel Penelitian

a. Subjek Penelitian

Subjek pada penelitian ini adalah semua populasi dalam hal ini isolat yang memenuhi kriteria sebagai berikut

1. Kriteria inklusi :

Isolat berasal dari pasien dari RSUP DR. Wahidin Sudirohusodo, yang ciri biokimianya sesuai dengan bakteri *A.baumannii* secara konvensional dan otomatisasi, yang dikumpulkan dalam periode Januari-Juni 2019

2. Kriteria eksklusi :

Isolat yang tidak dapat di tumbuhkan ulang (*reculture*)

b. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini berupa isolat yang berasal dari sampel berupa darah, bilasan bronkus, sputum, urine, pus, *Endotracheal tube* (ETT), cairan pleura dari pasien yang dirawat di RSUP Wahidin Sudirohusodo Makassar.

c. Teknik Sampling

Teknik pengambilan sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *total sampling*

d. Besar Sampel

Besar sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sebanyak 50 isolat.

D. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: Mesin PCR (Biorad®), Gel DOC, Mesin Elektroforesis, Sentrifus, penangas, *Laminar Air Flow*, BSC Tipe-II, Mikropipet, Cetakan Agarosa, tabung PCR, alat-alat gelas dan lain-lain.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat *A.baumannii*, primer spesifik (IMP(macrogen®) dengan sekuensi primer *Forward* 5'-TTGACACTCCATTTACTGCTA-3', *Reverse* 5'-TCATTTGTTAATTCAGATGCATA-3', target panjang fragmen 172 *base pair*), OXA-51(macrogen®) dengan sekuensi primer *Forward* 5'-TAATGCTTTGATCGGCCTTG-3', *Reverse* 5'-TGGATTGCACTTCATCTTGG-3' target panjang fragmen 353 *base pair*), Media biakan selektif *Mac Conkey Agar* (MCA), Media Blood agar, Media pengayaan *Brain Heart Infusion* (BHI), aquadest, reagen Kristal violet, lugol, alkohol, safranin, Enzim PCR (*Kappa Hot Star Taq DNA polymerase*), Kit ekstraksi, *Nuclease Free water*, *Agarosa*, *Ethidium Bromida* dan lain-lain.

E. Prosedur Kerja

1. Pengambilan data identitas pasien di Rekam Medik

Pengambilan data berupa nama pasien (inisial), tanggal lahir, jenis kelamin, ruang rawat inap.

2. Pembuatan Medium

Pembuatan medium terdiri dari pembuatan medium *Brain Heart Infusion* (BHI), Triple Sugar Iron Agar (*TSIA*) dan *MacConkey Agar* (MCA).

- a. Medium BHI dibuat dengan cara dilarutkan sebanyak 37 gram serbuk BHI dalam 1000 mL aquades murni secara perlahan-lahan. Campuran tersebut dipanaskan hingga larut kemudian disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit kemudian campuran dibiarkan hingga temperatur turun hingga 45°C. Tahap terakhir adalah campuran dituangkan ke dalam tabung Broth sesuai dengan kebutuhan pemeriksaan.
- b. Medium TSIA dibuat dengan cara dilarutkan sebanyak 65 gram serbuk TSIA dalam 1000 ml aquades murni secara perlahan-lahan. Campuran tersebut dipanaskan hingga larut kemudian dituang ke tabung sebanyak kurang lebih 2 mL selanjutnya disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit kemudian campuran dibiarkan hingga temperatur turun hingga 45°C. Tahap terakhir adalah tabung dimiringkan agar terdapat *butt* dan *slant* kemudian dibiarkan hingga agar memadat.

- c. Medium MCA dibuat dengan cara dilarutkan sebanyak 5 gram serbuk MCA ke dalam Erlenmeyer dan ditambahkan 1000 mL aquades. Campuran tersebut dipanaskan hingga larut kemudian disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Campuran dibiarkan dingin kira-kira hingga suhu 45°C kemudian dituangkan ke dalam cawan Petri yang steril.

3. Kultur pada media BHI

Isolat stok yang berasal dari Laboratorium mikrobiologi Rumah Sakit Wahidin Sudirohusodo di reculture pada media *Brain Heart Infusion* (BHI) dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Terjadinya kekeruhan pada media ini menandakan adanya pertumbuhan bakteri.

4. Kultur Pada *Phosfat Buffer Saline* (PBS)

Isolat stok yang berasal dari Laboratorium mikrobiologi Rumah Sakit Wahidin Sudirohusodo diinokulasi pada larutan PBS dengan cara mengambil 1 mata oase koloni dari isolat stok kemudian dilarutkan pada PBS diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Terjadinya kekeruhan pada media ini menandakan adanya pertumbuhan bakteri.

5. Kultur pada media *Mac Conkey*

Hasil pertumbuhan pada media *Brain Heart Infusion* (BHI) kemudian langsung digores pada media *Macconkey* Agar. Selanjutnya media diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. *A. baumannii* Tidak memfermentasikan laktosa.

6. Ekstraksi DNA

a. Preparasi Sampel

Isolat yang telah ditanam pada PBS dan terjadi kekeruhan setelah diinkubasi selama 24 jam dipipet sebanyak 200 μL . Kemudian ditambahkan 20 μL *Proteinase K*, dilarutkan (*shaking*) menggunakan *vortex*, lalu diinkubasi pada suhu 60°C selama 5 menit.

b. *Cell Lysis* (lisis sel)

Ditambahkan 200 μL *GSB Buffer* kemudian *shaking* menggunakan *vortex*. Untuk sampel sel koloni, diinkubasi pada suhu 60°C selama 5 menit, setiap 2 menit dilakukan *shaking*. Selama inkubasi, dipanaskan *Elution Buffer* pada suhu 60°C hingga akan digunakan.

c. *DNA Binding*

Ditambahkan 200 μL etanol absolut ke dalam sampel *lysate* lalu *shaking* sekitar 10 detik menggunakan *vortex*. Dipindahkan semua sampel ke dalam *GS Column* dengan 2 mL *collection tube* menggunakan mikropipet. Disentrifus pada 14.000 – 16.000 g (gravitasi) selama 1 menit. Setelah sentrifugasi cairan pada *collection tube* di buang, DNA akan terikat pada membran yang terdapat pada *GS column*.

d. *Wash* (Pencucian)

Ditambahkan 400 μL *W1 Buffer* ke dalam *GS Column*. Kemudian sentrifus pada 14.000 – 16.000 g (gravitasi) selama 1 menit, lalu cairan sisa pada *collection tube* dibuang. Ditambahkan 600 μL *Wash Buffer* ke dalam *GS column*, dan disentrifus selama 1 menit pada 14.000 – 16.000 g

(gravitasi). Setelah itu, dibuang *collection tube* dan diganti dengan *collection tube* yang baru, lalu dilakukan sentrifus kembali untuk dibuang cairan sisa yang terdapat pada *GS column* agar *column matrix* menjadi kering, pada kecepatan 14.000 – 16.000 g (gravitasi) selama 3 menit.

e. *Elution* (elusi)

Dipindahkan *GS Column* yang kering pada tabung mikrosentrifus 1,5 mL. Kemudian ditambahkan 100 μ L *Elution Buffer* yang telah dipanaskan sebelumnya (setidaknya mendinginkan selama 3 menit sebelum digunakan). Selanjutnya sentrifus selama 1 menit pada 14.000–16.000 g (gravitasi) untuk mengelusi DNA yang terpurifikasi.

7. Identifikasi Genotip *Acinetobacter baumannii* dengan Metode PCR

a. *Mix PCR*

1) IMP-1

<i>Go Taq Master Mix</i>	: 12,5 μ L
Primer <i>Forward IMP</i>	: 0,5 μ L
Primer <i>Reverse IMP</i>	: 0,5 μ L
<i>Nuclease Free Water</i>	: 6,5 μ L
DNA sampel	: 5,0 μ L
Total	: 25 μ L

2) OXA-51

<i>Go Taq Master Mix</i>	: 12,5 μ L
Primer <i>Forward</i> OXA-51	: 1 μ L
Primer <i>Reverse</i> OXA-51	: 1 μ L
<i>Nuclease Free Water</i>	: 5,5 μ L
DNA sampel	: 5 μ L
Total	: 25 μ L

b. Running PCR

a) IMP-1

Step 1 → inisiasi denaturasi : 1 siklus, suhu 95 °C selama 5 Menit

Step 2 → sebanyak 35 siklus, meliputi :

- *Denaturation* : Suhu 94 °C selama 60 detik
- *Annealing* : Suhu 50 °C selama 60 detik
- *Extension* : Suhu 72 °C selama 60 detik

Step 3 → *Final Extension* : 1 siklus, suhu 72 °C selama 10 menit

b) OXA-51

Step 1 → inisiasi denaturasi : 1 siklus, suhu 94 °C selama 5 Menit

Step 2 → sebanyak 30 siklus, meliputi :

- *Denaturation* : Suhu 94 °C selama 25 detik
- *Annealing* : Suhu 57 °C selama 40 detik
- *Extension* : Suhu 72 °C selama 50 detik

Step 3 → *Final Extension* : 1 siklus, suhu 72 °C selama 5 menit

c. Gel Elektroforesis

1) Dibuat *Gel Agarose*

Ditimbang 2 gram *agarose* kemudian dilarutkan hingga 100 mL *TBE Buffer* 0,5x untuk mendapatkan larutan *agarose* 2 %. Campuran *agarose* dan *TBE Buffer* 0,5x dipanaskan hingga larut kemudian menunggu hingga agak dingin kemudian ditambahkan 10 μ L *Ethidium Bromida*. Larutan *agarose* dituang ke dalam cetakan dan ditunggu hingga memadat.

1) Pembuatan DNA *Marker*

Sebanyak 25 μ L DNA 100 bp *ladder* dimasukkan kedalam tube berisi 1 ml *Blue Juice Loading Dye*, dan dicampur untuk marker. *Laber tube* dibuka dan diganti menjadi marker.

2) Persiapan *Running* Elektroforesis

Gel yang telah memadat dimasukkan kedalam elektroforesis dan direndam dalam larutan *TBE* 0,5x. Sebanyak 8 μ L amplicon hasil PCR (Kontrol Positif, Kontrol negatif, sampel) ditambah dengan 2 μ L *Blue Juice Loading Dye* (tanpa marker), dicampur dan dimasukkan kedalam sumur-sumur gel sebanyak 10 μ L. Pada lubang pertama ditambahkan 10 μ L DNA *leader* 100 bp dimasukkan kedalam sumur di dekat kontrol positif.

3) *Running* Elektroforesis

Elektroforesis dinyalakan dan dijalankan dari muatan negatif (katode) ke muatan positif (anode) pada 100 A dengan waktu 60 menit.

Setelah elektroforesis dilihat pita yang terbentuk. Apabila pita sejajar dengan kontrol positif berarti hasil positif.

4) Prosedur Kerja *Gel Doc*

Cara menggunakan alat *Gel Doc* dibagi menjadi 4 tahap, yaitu :

a) Dinyalakan Alat *Gel Doc*

Dinyalakan *Gel Doc* dengan menekan tombol *ON* pada bagian belakang sebelah kiri alat, kemudian dinyalakan computer, dan dibuka *software Quantity One* dengan cara Double Klik pada ikon *Quantity One*, lalu memilih *Gel Doc XR* dari menu File.

b) Posisi gel

Dibuka pintu alat *Gel Doc*, menekan tombol *Epi White (On)* jika diperlukan/optional. Kemudian meletakkan Gel pada bagian tengah dan pintu alat *Gel Doc* ditutup. Iris, *zoom*, dan *focus* diatur dengan melihat ke layar monitor pada *software Quantity One*. Pintu alat dibuka kembali dan posisi gel diatur kembali jika diperlukan.

c) Gambar

Setelah pengaturan gel selesai, ditekan tombol *Trans UV (On)*. Pada kondisi ini, lampu UV akan mati secara otomatis apabila pintu dibuka kecuali tombol Hold ditekan. Pilih *Auto Expose* apabila ingin diambil gambar secara otomatis atau pilih *Manual expose* apabila ingin mengambil gambar manual dengan menaikkan atau menurunkan waktu exposure (*Exposure Time*). Apabila gambar yang diinginkan sudah terlihat

dengan baik dan jelas, Klik *Freeze*. Untuk diberikan tulisan pada gambar, pilih *Annotate*.

d) *Save* dan *Print* gambar

Setelah gambar di edit, gambar dapat disave dan kemudian diklik *Print* untuk mendapatkan hasil dalam bentuk foto gel.

F. Analisis Data

Data yang telah dikumpulkan, kemudian akan diolah menggunakan perangkat lunak statistik sesuai skala ukur dan tujuan khusus penelitian. Adapun uji yang digunakan untuk mengetahui sensitivitas bakteri *Acinetobacter baumannii* pada isolat pasien adalah analisa statistik deskriptif berupa distribusi frekuensi.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan selama periode Mei-Juli 2019 di laboratorium HUM-RC RSPTN Universitas Hasanuddin. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu isolat yang diperoleh dari laboratorium mikrobiologi RSUP DR. Wahidin sudirohusodo yang dikumpulkan selama periode Januari-Juni 2019, diperoleh total 50 sampel yang memenuhi kriteria peneliti dengan teknik pengambilan sampel yang digunakan yaitu total sampling dan diperoleh data sebagai berikut :

A. Persentase Karakteristik isolat berdasarkan jenis kelamin, usia dan asal spesimen

Tabel 3. Persentase karakteristik isolat berdasarkan jenis kelamin, usia dan asal spesimen

Karakteritik		Total	
		Jumlah	Persentase (%)
Jenis Kelamin	Laki-laki	29	58
	Perempuan	21	42
Umur (tahun)	0-17	10	20
	17-65	31	62
	>65	9	18
Spesimen Klinik	ETT	4	8
	Darah	1	2
	Bilasan bronkus	1	2
	Cairan pleura	1	2
	Pus	8	16
	Urine	5	10
	Sputum	30	60
	Total	50	100

Tabel 3 menunjukkan karakteristik isolat yang dideteksi berdasarkan jenis kelamin dan memperlihatkan bahwa jenis kelamin terbanyak ditemukan pada laki-laki dengan persentase 58% (29 isolat) dan perempuan dengan persentase 42% (21 isolat). Data yang sama diperlihatkan pada penelitian yang dilakukan oleh Kevin M. Raible *et al* 2017 yang memperlihatkan 62% isolat *A. baumannii* ditemukan pada laki-laki, dan Mayasari dan Cherry Siregar 2014 yang melaporkan jumlah yang sama. Meskipun terdapat perbedaan jumlah pada laki-laki dan perempuan, tetapi tidak ada hubungan dengan prognosis penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri ini. (Kevin M Rible *et al*, 2017, Mayasari, Cherry Siregar, 2014, Gustawan *et al* 2014).

Tabel 3 juga memperlihatkan karakteristik isolat pasien berdasarkan umur dimana kategori pengelompokan umur ini berdasarkan kategori umur terbaru dari WHO, dimana umur 17-65 tahun dengan persentase 62% (31 isolat), kemudian pada umur 0-17 tahun dengan persentase 20% (10 isolat), dan pada umur >65 dengan jumlah persentase 18% (9 isolat). Jumlah terbanyak pada umur 17-65 tahun juga diperlihatkan oleh penelitian yang dilakukan oleh Nirwati *et al* (2018) dengan jumlah terinfeksi sebanyak 63,8% (51 isolat). Kategori umur 17-65 merupakan kategori dengan jumlah rentang yang lebih panjang dibandingkan kategori umur yang lain, hal ini menyebabkan jumlah pasien terinfeksi *A. baumannii* memiliki jumlah yang lebih banyak dibandingkan kategori umur yang lain (Nirwati *et al*, 2018).

Kemudian, tabel 3 memperlihatkan karakteristik isolat berdasarkan spesimen klinik. Spesimen klinik terbanyak ditemukan pada sputum dengan persentase 60% (30 isolat), diikuti oleh pus dengan 16% (8 isolat), Urine 10% (5 isolat), ETT (*Endotracheal Tube*) 8% (4 isolat) dan darah, bilasan bronkus, cairan pleura masing-masing dengan 2% (1 isolat). Hasil yang dilakukan oleh Evita Mayasari 2014, Nirwati 2018, Kevin M Rible 2019 memperlihatkan hasil yang sama dimana isolat *A. baumannii* banyak ditemukan pada sputum. Banyaknya ditemukan *A. baumannii* pada sputum disebabkan oleh banyaknya infeksi pneumonia (CAP, HAP, VAP, NVHAP) yang disebabkan oleh bakteri ini sehingga spesimen yang tepat digunakan untuk mengidentifikasi adalah sputum. (Yang *et al* 2013, Chaari *et al*, 2019, Huang *et al*, 2019, Tan *et al*, 2019, Begum, 2013).

B. Hasil test sensitifitas golongan karbapenem dari isolat *A. baumannii*

Tabel 4. Hasil test sensitifitas golongan karbapenem dari isolat *A. baumannii* dengan menggunakan VITEK 2

Antibiotika	Sensitif		Intermediet		Resisten	
	Total	%	Total	%	Total	%
Imipenem	21	70	0	0	9	30
Meropenem	36	72	0	0	14	28
Doripenem	15	47,8	0	0	9	37,5

Pada tabel 4 memperlihatkan *A.baumannii* memiliki sensitifitas pada Meropenem 72% (36 isolat), Imipenem 70% (21 isolat), Doripenem 47,8% (15 isolat) dan resistensi Imipenem 30% (9 isolat), Meropenem 28% (14 isolat), dan Doripenem 37% (9 isolat), hal ini menunjukkan

bahwa obat golongan karbapenem masih baik digunakan sebagai terapi infeksi yang disebabkan oleh bakteri gram negatif di RSUP Wahidin Sudirohusodo, Makassar. Hasil berbeda ditunjukkan oleh Gustawan *et al* (2014), Nirwati *et.al* (2018) dan Tarashi *et.al* (2015) dimana mayoritas antibiotika golongan β -laktam sudah resisten terhadap *A.baumannii*.

C. Temuan gen penanda resistensi dan pola kepekaan Antibiotika golongan kabapenem terhadap *A.baumannii*

Tabel 5. Persentase Temuan gen penanda resistensi isolat *A. baumannii*

<i>A. Baumannii</i>	blaIMP Total (%)	blaOXA-51 Total (%)
Positif	1 (2 %)	41 (82 %)
Negatif	49 (98 %)	9 (18 %)
Total	50 (100 %)	50 (100 %)

Tabel 5 menunjukkan persentase temuan gen blaIMP dan OXA-51. Dari 50 isolat klinis hanya diperoleh 2% (1 isolat) isolat *A. baumannii* yang memiliki gen resisten blaIMP dan diperoleh 100% (50 isolat) *A. baumannii* yang memiliki gen resisten OXA-51 (sebagai gen intrinsik) .

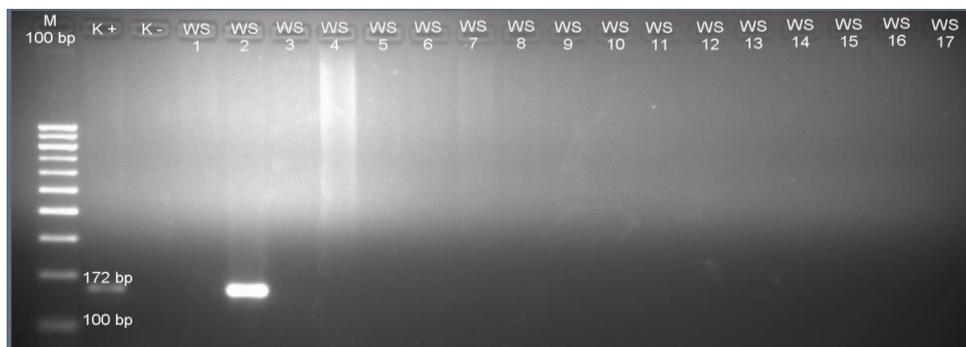
Tabel 6. Pola kepekaan Antibiotika Golongan Karbapenem terhadap gen blaIMP dan blaOXA-51

Karbapenem	blaIMP		Total	blaOXA-51		Total
	positif	negatif		positif	negatif	
Meropenem						
Resisten	1	13	14	14	0	14
Sensitif	0	36	36	36	0	36
NA	0	0	0	0	0	0
Total	1	49	50	50	0	50
Imipenem						
Resisten	1	8	9	9	0	9
Sensitif	0	21	21	21	0	21
NA	0	20	20	20	0	20
Total	1	49	50	50	0	50
Doripenem						
Resisten	1	8	9	9	0	9
Sensitif	0	15	15	15	0	15
NA	0	26	26	26	0	26
Total	1	49	50	50	0	50

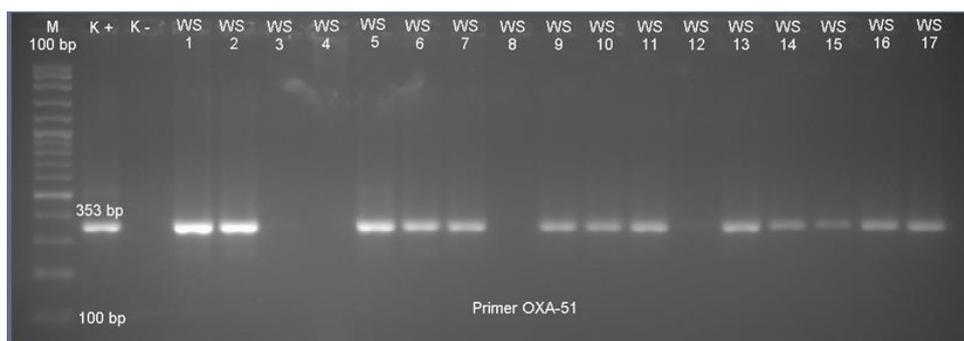
Keterangan : N = *Not Available*

Berdasarkan tabel 6 menunjukkan bahwa gen blaIMP hanya 1 (2%) yang positif. blaIMP ditemukan pada isolat *A.baumannii* yang resisten terhadap Meropenem, Imipenem dan Doripenem. Tabel 6 juga menunjukkan terdapat 14 (28%) isolat yang resisten terhadap antibiotika meropenem dan 36 (72%) isolat yang sensitif terhadap meropenem dan positif terdapat gen resistensi OXA-51. Untuk antibiotika imipenem terdapat 9 (18%) isolat resisten dan 21 (42%) isolat yang sensitif dan untuk antibiotika doripenem terdapat 9 (18) isolat yang resisten dan 15

(30%) isolat yang sensitif. Gambaran dari hasil di atas diperlihatkan pada gambar 7 dan 8.



Gambar 7. Hasil elektroforesis produk PCR untuk Gen blaIMP



Gambar 8. Hasil elektroforesis produk PCR untuk Gen OXA-51

Untuk Deteksi gen blaIMP pada kolom 1 (M) adalah marker, kolom 2 (K+) kontrol positif, kolom 3 kontrol negative (K-) dan untuk kolom 1-17 untuk sampel. Terdapat hanya 1 gambaran pita spesifik sesuai kontrol positif pada panjang basa 172 bp dengan kode WS2. Hal ini menunjukkan bahwa isolat tersebut positif terdapat gen resisten blaIMP. Sedangkan 49 sampel tidak tampak adanya pita spesifik sehingga dapat disimpulkan bahwa isolat tersebut negatif atau tidak terdapat gen resisten blaIMP. Dalam penelitian ini Isolat yang resisten terhadap imipenem sebanyak

32.1 %. Hal ini tidak sejalan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan di Iran pada 2013, dimana PCR dilakukan pada 93 isolat *A.baumannii*, 85% diantaranya resisten terhadap imipenem.

Pada gambar 8 tampak hasil PCR gen OXA-51, pada kolom 1 (M) adalah marker, kolom 2 (K+) kontrol positif, kolom 3 (K-) kontrol negatif dan untuk kolom 4-20 merupakan sampel dari pasien. Terdapat 17 sampel (18-50 terlampir) yang menunjukkan gambaran pita spesifik sesuai kontrol positif pada panjang basa 353 bp dengan kode sampel WS1-WS17. Hal ini menunjukkan bahwa isolat tersebut positif terdapat gen resisten OXA-51. Hasil PCR diatas sejalan dengan hasil penelitian sebelumnya oleh (Nirwati *et al* 2018, Alkasaby *et.al* 2017) dimana dalam penelitian tersebut gen OXA-51 ditemukan disemua isolat *A. baumannii*. Visualisasi hasil elektroforesis untuk sampel 18-50 pada PCR ditampilkan dalam lampiran.

Genus *Acinetobacter* memiliki kecenderungan memperoleh gen resistensi yang cepat karena antimikroba selektif dan ada mekanisme resistensi intrinsik yang khas untuk genus ini, yang keduanya mengarah pada tingkat resistensi yang tinggi terhadap beberapa gen antimikroba (Zheng, Yuan dan Li ,2013).

Metallo- β -laktamase (MBL) adalah kelompok B β -Laktam yang ditandai dengan adanya Zn^{2+} pada sisi aktif. MBL menghidrolisis hampir seluruh β -laktam, termasuk karbapenem, tetapi tidak dapat menghidrolisis monobaktam (Bush dan Bradford, 2019). Untuk mendeteksi gen metallo- β -laktamase, dimana IMP merupakan salah satu gen penentunya. Dari

hasil penelitian ini hanya ditemukan 1 isolat yang positif blaIMP (2%), jumlah ini sejalan dengan latifah, *et al* penelitian dilakukan di ICU RSUP Cipto mangunkusumo tahun 2011 dimana hanya ditemukan 1 (5%) gen blaIMP pada isolat *A.baumannii*, hasil ini menunjukkan sebaran blaIMP sebagai penanda resistensi ditemukan masih sedikit (latifah *et.al*, 2011). Data berbeda diperlihatkan pada beberapa negara jumlah gen blaIMP yang didapatkan dari isolat *A.baumannii* diantaranya Rezaei, *et.al* 2018 di Isfahan Iran, dari 100 isolat klinik ditemukan blaIMP 21%, studi lain di negara yang sama menurut Jabalameli *et.al* 2018, menurut metode meta analisis dari tahun 2000-2016 dari total 869 isolat terdeteksi blaIMP-1 13,1% positif. Angka yang cukup tinggi juga pada studi yang dilakukan Aghamiri *et.al* 2015 blaIMP 40% positif pada *A. baumannii*. Walau dalam studi lain di Iran, gen blaVIM memiliki prevalensi lebih tinggi daripada gen blaIMP dimana frekuensi blaVIM 13,88% dan blaIMP 2,7%. Selain blaIMP, blaNDM adalah gen MBL lain, dimana bakteri yang mengandung blaNDM mengalami resistensi pada hampir semua antibiotika.

Dari penelitian ini teridentifikasi sebanyak 50 positif isolat memiliki gen intrinsik OXA-51. Hasil yang sama diperlihatkan oleh penelitian yang dilakukan di Klaten, Indonesia dimana gen OXA-51 ditemukan pada semua isolat *A. baumannii* (Nirwati *et al*, 2018). OXA-51 β -laktamase adalah enzim intrinsic yang ditemukan pada kromosom *A. baumannii* yang muncul sebagai subkelompok menunjukkan peningkatan aktivitas karbapenemase ketika *ISAb1* berada di hulu dari wilayah promotor.

Sebuah studi genomik komparatif menunjukkan bahwa galur *A. baumannii* yang diteliti, termasuk galur tipe liar dan isolat klinis MDRAB, semuanya memiliki gen yang termasuk dalam kelompok OXA-51 (Adam *et. al*, 2009). Kelompok β -laktamase OXA-51 yang diidentifikasi terdiri dari kluster baru di antara karbapenemase tipe OXA, dan kluster tersebut mencakup banyak varian. (Evans, A. Benjamin Sebastian G. B. Amyes, 2014).

Saat ini, Karbapenemase OXA terdiri atas enam subklas dari *Carbapenem-hydrolyzing class D β -lactamases* (CHDLs) yang berhubungan dengan *A. baumannii* diantaranya enzim intrinsik kromosom OXA-51-like dan memperoleh OXA-23, OXA-24, OXA-58, OXA-143 dan OXA-235 like. CHDLs menunjukkan hidrolisis yang lemah terhadap karbapenem. Namun, dapat memberikan resistensi yang dimediasi oleh kombinasi permeabilitas rendah alami elemen ISAba1 yang terletak di bagian hulu gen. Gen blaOXA dapat ditempatkan baik pada kromosom atau plasmid dan kadang-kadang dapat ditemukan dalam integron. Di antara empat kelas β -laktamase, MBL dan CHDLs adalah dua kelompok utama karbapenemase yang ditemukan pada *A. baumannii*. CHDLs bertanggung jawab pada jenis resistensi karbapenem yang paling umum melalui degradasi enzimatik. Saat ini, sembilan subkelompok utama OXA karbapenemase telah diidentifikasi berdasarkan homologi asam amino (Evans, A. Benjamin Sebastian G. B. Amyes, 2014). Meskipun secara klinis resistensi terhadap karbapenem yang dimediasi oleh blaOXA-51

hanya diamati pada isolat dengan urutan penyisipan ISAb_a1 yang terletak tepat di hulu gen, namun, plasmid yang menyimpan ISAb_a1 - blaOXA-51-*like* juga terdeteksi pada *A. baumannii*, *A. nosocomialis* dan *A. pittii*. (Rodriguez *et al*, 2017). Selain OXA, kelompok utama karbapenamase adalah MBL diataranya yang umum adalah IM, VIM dan NDM (Bush dan Bradford, 2019).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

Isolat *A. baumannii* memiliki resistensi terhadap Imipenem 9 (30%), Meropenem 14 (28%), dan Doripenem 9 (37,5%) secara umum karbapenem masih memiliki sensitifitas yang baik terhadap golongan karbapenem. blaOXA-51 sebagai gen intrinsik ditemukan pada semua isolat bakteri tersebut. blaIMP sebagai penanda gen metallo- β -laktamase (MBL) hanya positif pada satu isolat yang resisten terhadap karbapenem.

B. SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan jumlah yang lebih besar terhadap gen penentu resistensi lain yang termasuk golongan β -laktamase untuk melihat variasi resistensi secara genotip.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdi-Ali, A., Hendiani, S., Mohammadi, P., & Gharavi, S. (2014). Assessment of biofilm formation and resistance to imipenem and ciprofloxacin among clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* in Tehran. *Jundishapur journal of microbiology*, 7(1).
- Adams, M. D., Nickel, G. C., Bajaksouzian, S., Lavender, H., Murthy, A. R., Jacobs, M. R., & Bonomo, R. A. 2009. Resistance to colistin in *Acinetobacter baumannii* associated with mutations in the PmrAB two-component system. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 53(9), 3628-3634.
- Aghamiri, S., Amirmozafari, N., Mehrabadi, J. F., Fouladatan, B., & Abdar, M. H. 2016. Antibiotic Resistance Patterns and a Survey of Metallo- β -Lactamase Genes Including bla-IMP and bla-VIM Types in *Acinetobacter baumannii* Isolated from Hospital Patients in Tehran. *Chemotherapy*, 61(5), 275-280
- Al Atrouni, A., Joly-Guillou, M. L., Hamze, M., & Kempf, M. 2016. Reservoirs of non-baumannii *Acinetobacter* species. *Frontiers in microbiology*, 7, 49.
- Alkasaby, N. M., & El Sayed Zaki, M. 2017. Molecular Study of *Acinetobacter baumannii* Isolates for Metallo- β -Lactamases and Extended-Spectrum- β -Lactamases Genes in Intensive Care Unit, Mansoura University Hospital, Egypt . *International Journal of Microbiology*, 2017, 1–6.
- Begum, S., Hasan, F., Hussain, S., & Shah, A. A. 2013. Prevalence of multi drug resistant *Acinetobacter baumannii* in the clinical samples from Tertiary Care Hospital in Islamabad, Pakistan. *Pakistan journal of medical sciences*, 29(5), 1253.
- Bogaerts, P., T. Naas, I. Wybo, C. Bauraing, O. Soetens, D. Pierard, P. Nordmann, and Y. Glupczynski. 2006. Outbreak of infection by carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing the carbapenemase OXA-58 in Belgium. *J. Clin. Microbiol.* 44:4189–4192.
- Bush, K., & Bradford, P. A. 2019. Interplay between β -lactamases and new β -lactamase inhibitors. *Nature Reviews Microbiology*, 1.

- Caetano-Anollés, D. 2013. Polymerase Chain Reaction. *Brenner's Encyclopedia of Genetics: Second Edition*, 392–395.
- Chang, Y., Luan, G., Xu, Y., Wang, Y., Shen, M., Zhang, C., Ling, B. 2015. Characterization of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates in a Chinese teaching hospital. *Frontiers in Microbiology*, 6(SEP), 1–9.
- Chaari, A., Mnif, B., Bahloul, M., Mahjoubi, F., Chtara, K., Turki, O., ... & Bouaziz, M. 2013. *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia: epidemiology, clinical characteristics, and prognosis factors. *International Journal of Infectious Diseases*, 17(12), e1225-e1228.
- Chen, Y.-H., Sheu, C.-C., Lin, S.-Y., Chang, Y.-T., & Hsueh, P.-R. 2019. Infections Caused by Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae: An Update on Therapeutic Options. *Frontiers in Microbiology*, 10(January).
- Cho, Y. J., Moon, D. C., Jin, J. S., Choi, C. H., Lee, Y. C., & Lee, J. C. 2009. Genetic basis of resistance to aminoglycosides in *Acinetobacter* spp. and spread of *armA* in *Acinetobacter baumannii* sequence group 1 in Korean hospitals. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 64(2), 185-190.
- Codjoe, F. S., & Donkor, E. S. 2018. *medical sciences Carbapenem Resistance : A Review*. 1–28.
- Evans, A. Benjamin Sebastian G. B. Amyes. 2014. OXA β -Lactamase. Journal.ASM.org
- Fonseca, E. L., Scheidegger, E., Freitas, F. S., Cipriano, R., & Vicente, A. C. P. 2013. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* from Brazil: role of *carO* alleles expression and *bla* OXA-23 gene. *BMC microbiology*, 13(1), 245.
- Garnacho-Montero, J., & Timsit, J. F. 2019. Managing *Acinetobacter baumannii* infections. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 32(1), 69–76.
- Gordon, N. C., & Wareham, D. W. 2010. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: mechanisms of virulence and resistance. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 35(3), 219–226.

- Gustawan, I. W., Satari, H. I., Amir, I., & Astrawinata, D. A. 2016. Gambaran Infeksi *Acinetobacter baumannii* dan Pola Sensitifitasnya terhadap Antibiotik. *Sari pediatri*, 16(1), 35-40.
- Halim, S. V., Yulia, R., & Setiawan, E. .2017. Penggunaan antibakteri golongan Carbapenem pada pasien dewasa rawat inap sebuah rumah sakit swasta di Surabaya. *Jurnal Farmasi Klinik Indonesia*, 6(4), 267-281.
- Handoyo, D., & Rudiretna, A. 2000. Prinsip umum dan pelaksanaan polymerase chain reaction (PCR)[general principles and implementation of polymerase chain reaction]. *Unitas*, 9(1), 17-29.
- Harding, C. M., Hennon, S. W., & Feldman, M. F. 2018. Uncovering the mechanisms of *Acinetobacter baumannii* virulence. *Nature Reviews Microbiology*, 16(2), 91–102.
- Huang, Y., Zhou, Q., Wang, W., Huang, Q., Liao, J., Li, J., ... & Xu, H. (2019). *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia: clinical efficacy of combined antimicrobial therapy and in vitro drug sensitivity test results. *Frontiers in pharmacology*, 10.
- Howard, A., O'Donoghue, M., Feeney, A., & Sleator, R. D. 2012. *Acinetobacter baumannii*: an emerging opportunistic pathogen. *Virulence*, 3(3), 243–250.
- Jabalameli, F., Taki, E., Emaneini, M., & Beigverdi, R. 2018. Prevalence of metallo- β -lactamase-encoding genes among carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from burn patients in Iran. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 51(3), 270-276.
- Jeon, B. C., S. H. Jeong, I. K. Bae, S. B. Kwon, K. Lee, D. Young, J. H. Lee, J. S. Song, and S. H. Lee. 2015. Investigation of a nosocomial outbreak of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing the OXA-23 betalactamase in Korea. *J. Clin. Microbiol.* 43:2241–2245
- Kim, U. J., Kim, H. K., An, J. H., Cho, S. K., Park, K.-H., & Jang, H.-C. 2014. Update on the Epidemiology, Treatment, and Outcomes of Carbapenem-resistant *Acinetobacter* infections . *Chonnam Medical Journal*, 50(2), 37.

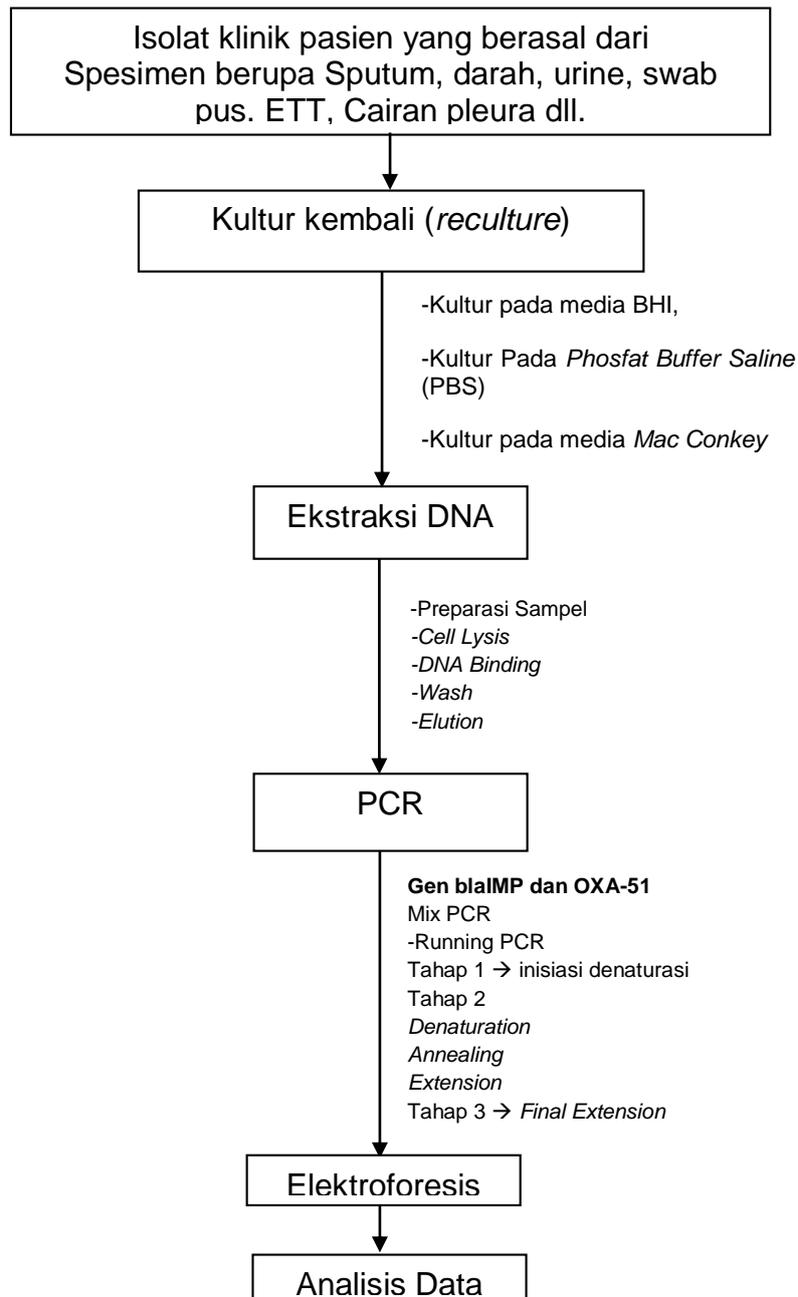
- Landrie, P., Tchuinte, S., Alain, M., Rabenandrasana, N., Kowalewicz, C., Andrianoelina, V. H., Collard, J. 2019. Phenotypic and molecular characterisations of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* strains isolated in Madagascar. *9*, 1–9.
- Lee, C.-R., Lee, J. H., Park, M., Park, K. S., Bae, I. K., Kim, Y. B., Lee, S. H. 2017. Biology of *Acinetobacter baumannii*: Pathogenesis, Antibiotic Resistance Mechanisms, and Prospective Treatment Options. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, *7*(March).
- Lin, M. F., and Lan, C. Y. 2014. Antimicrobial resistance in *Acinetobacter baumannii*: from bench to bedside. *World J. Clin. Cases*. *2*, 787-814.
- Moffatt, J. H., Harper, M., Harrison, P., Hale, J. D., Vinogradov, E., Seemann, T., & Adler, B. 2010. Colistin resistance in *Acinetobacter baumannii* is mediated by complete loss of lipopolysaccharide production. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *54*(12), 4971-4977.
- Moubareck, C., Brémont, S., Conroy, M. C., Courvalin, P., & Lambert, T. 2009. GES-11, a novel integron-associated GES variant in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *53*(8), 3579-3581.
- McConnell, M. J., Actis, L., & Pachón, J. 2013. *Acinetobacter baumannii*: Human infections, factors contributing to pathogenesis and animal models. *FEMS Microbiology Reviews*, *37*(2), 130–155.
- Nirwati, H., Hakim, M. S., Darma, S., Mustafa, M., & Nuryastuti, T. 2018. Detection of bla_{oxa} genes and identification of biofilm-producing capacity of *Acinetobacter baumannii* in a tertiary teaching hospital, Klaten, Indonesia. *Medical Journal of Malaysia*, *73*(5), 291–296.
- Perez F, Hujer AM, Hujer KM, Decker BK, Rather PN, Bonomo RA. 2007. *Global Challenge of MDR A.baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*; *51* (10) : 3471-84
- Papp-wallace, K. M., Endimiani, A., Taracila, M. A., & Bonomo, R. A. 2011. *MINIREVIEW Carbapenems: Past , Present , and Future*. *55*(11), 4943–4960.
- Prihatini., Aryati dan Hetty. (2007). Identifikasi Cepat Mikroorganisme Menggunakan Alat Vitek-2. *Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory*. Vol. 13, No. 3 : 129-132.

- Queenan, A. M., & Bush, K. 2007. Carbapenemases: The versatile β -lactamases. *Clinical Microbiology Reviews*, 20(3), 440–458.
- Raible, K. M., Sen, B., Law, N., Bias, T. E., Emery, C. L., Ehrlich, G. D., & Joshi, S. G. 2017. Molecular characterization of β -lactamase genes in clinical isolates of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, 16(1), 75.
- Rezaei, A., Fazeli, H., Moghadampour, M., Halaji, M., & Faghri, J. 2018. Determination of antibiotic resistance pattern and prevalence of OXA-type carbapenemases among *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from inpatients in Isfahan, central Iran. *Infez Med*, 26, 61-66.
- Rodriguez-Bano, J., Marti, S., Soto, S., Fernandez-Cuenca, F., Cisneros, J. M., Pachon, J., et al. 2008. Biofilm formation in *Acinetobacter baumannii*: associated features and clinical implications. *Clin. Microbiol. Infect.* 14, 276–278.
- Sony dan Potty. (2017). Biochemical Identification of Protease Producing Bacterial Isolates from Food Industries by Vitek 2 Compact System. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. ISSN: 2319-7706 Volume 6 Number 2. pp. 840-851.
- Tarashi, S., Goudarzi, H., Erfanimanesh, S., Pormohammad, A., & Hashemi, A. (2016). Phenotypic and molecular detection of metallo-beta-lactamase genes among imipenem resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* strains isolated from patients with burn injuries. *Archives of Clinical Infectious Diseases*, 11(4).
- Versalovic, J, Carroll KC, Funke, G, Jorgensen, J, Landry ML, Warnock, DW., *Manual of clinical microbiology*. 2011. Manual of Clinical Microbiology 10th ed. Washington, DC ASM Press
- Wu, X., Chavez, J. D., Schweppe, D. K., Zheng, C., Weisbrod, C. R., Eng, J. K., & Kulasekara, H. D. 2016. In vivo protein interaction network analysis reveals porin-localized antibiotic inactivation in *Acinetobacter baumannii* strain AB5075. *Nature communications*, 7, 13414.
- Yang, Y. S., Lee, Y. T., Huang, T. W., Sun, J. R., Kuo, S. C., Yang, C. H., ... & Chang, F. Y. (2013). *Acinetobacter baumannii* nosocomial pneumonia: is the outcome more favorable in non-ventilated than ventilated patients?. *BMC infectious diseases*, 13(1), 142.

- Yu, Y. S., Zhou, H., Yang, Q., Chen, Y. G., & Li, L. J. 2007. Widespread occurrence of aminoglycoside resistance due to ArmA methylase in imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates in China. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 60(2), 454-455.
- Zheng, W., Yuan, S and Li, L. 2013. Analysis of Hospital Departmental Distribution and Antibiotic Susceptibility of *Acinetobacter* isolated From Sputum Samples. *American Journal of Infection Control*, 41, pp.73-36.
- Zhu, J. M., Chu, X. L., Jiang, R. J., Wu, K. L., Kong, H. S., & MI, J. R. 2009. tnp513 Transposase Gene in Multi-drug Resistant *Acinetobacter baumannii*[J]. *Chinese Journal of Nosocomiology*, 20.

LAMPIRAN

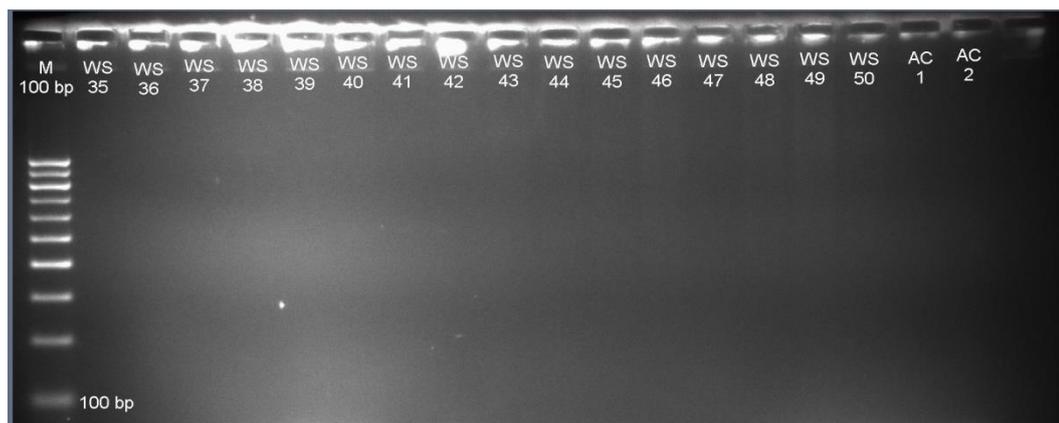
Lampiran 1. Alur Penelitian



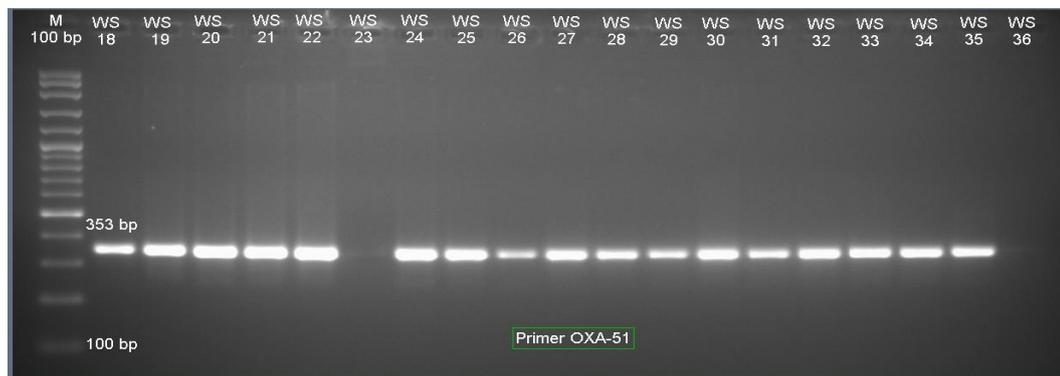
Gambar 9. Alur Penelitian

Lampiran 2. Gambar Hasil Elektroforesis Produk PCR *A.baumannii*.

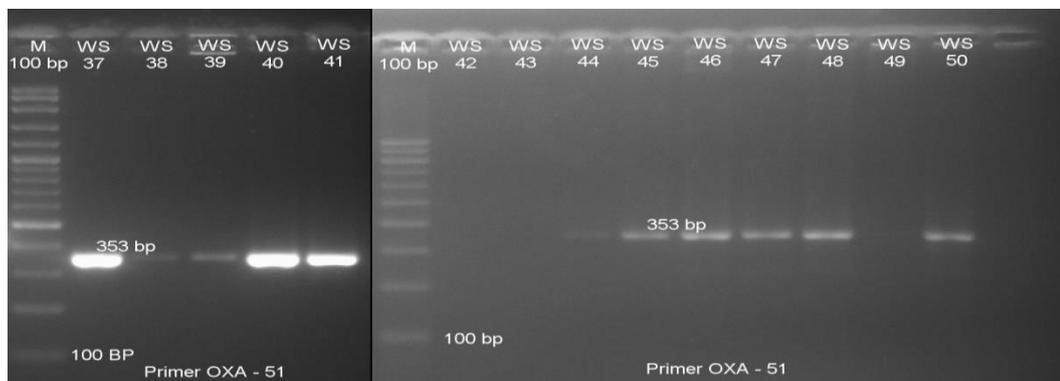
Gambar 10. Hasil elektroforesis produk PCR *A.baumannii*. primer IMP isolat 18-34 (Keterangan : M=Marker 100bp, WS18-WS34 =Kode sampel)



Gambar 11. Hasil elektroforesis produk PCR *A.baumannii*. primer IMP isolat 35-50 (Keterangan : M=Marker 100bp, WS35-WS50 =Kode sampel)



Gambar 12. Hasil elektroforesis produk PCR *A.baumannii*. primer OXA-51 isolat 18-36 (Keterangan : M=Marker 100bp, WS18-WS36 =Kode sampel)



Gambar 13. Hasil elektroforesis produk PCR *A.baumannii*. primer OXA-51 isolat 37-50 (Keterangan : M=Marker 100bp, WS37-WS50 =Kode sampel)