

SKRIPSI
NOVEMBER 2017

**DETEKSI GEN *TEMONEIRA* (TEM) PADA GOLONGAN
ENTEROBACTERIACEAE PENGHASIL *EXTENDED SPECTRUM BETA*
LACTAMASE (ESBL) MENGGUNAKAN METODE *POLYMERASE CHAIN*
REACTION (PCR) DARI SAMPEL FESES ANAK SEKOLAH DASAR DI
KOTA MAKASSAR, SULAWESI SELATAN**



OLEH:

Priady Wira Prasetya

C111 14 092

PEMBIMBING :

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

**DISUSUN SEBAGAI SALAH SATU SYARAT UNTUK
MENYELESAIKAN STUDI PADA PROGRAM STUDI
PENDIDIKAN DOKTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN**

2017



**DETEKSI GEN *TEMONEIRA* (TEM) PADA GOLONGAN
ENTEROBACTERIACEAE PENGHASIL *EXTENDED SPECTRUM BETA*
LACTAMASE (ESBL) MENGGUNAKAN METODE *POLYMERASE CHAIN*
REACTION (PCR) DARI SAMPEL FESES ANAK SEKOLAH DASAR DI
KOTA MAKASSAR, SULAWESI SELATAN**

**Diajukan Kepada Universitas Hasanuddin
Untuk Melengkapi Salah Satu Syarat
Mencapai Gelar Sarjana Kedokteran**

Priady Wira Prasetya

C111 14 092

Pembimbing :

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

UNIVERSITAS HASANUDDIN

FAKULTAS KEDOKTERAN

MAKASSAR

2017



HALAMAN PENGESAHAN

Telah disetujui untuk dibacakan pada seminar akhir di Departemen Mikrobiologi
Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dengan judul:

**“Deteksi Gen Temoneira (TEM) Pada Golongan *Enterobacteriaceae*
Penghasil *Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL) Menggunakan Metode
Polymerase Chain Reaction (PCR) dari Sampel Feses Anak Sekolah Dasar di
Kota Makassar Sulawesi Selatan”**

Hari/Tanggal : Senin, 20 November 2017
Waktu : 13.00 wita – selesai
Tempat : Bagian Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran
Universitas Hasanuddin

Makassar, 20 November 2017

Pembimbing,



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



HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :

Nama : Priady Wira Prasetya

NIM : C111 14 092

Fakultas/Program Studi : Kedokteran/Pendidikan Dokter

Judul Skripsi : Deteksi Gen *Temoneira* (TEM) Pada Golongan *Enterobacteriaceae* Penghasil *Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL) Menggunakan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dari Sampel Feses Anak Sekolah Dasar di Kota Makassar Sulawesi Selatan

Telah berhasil dipertahankan di hadapan dewan penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar sarjana kedokteran pada Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin

DEWAN PENGUJI

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



(.....)

Penguji 1 : dr. Firdaus Hamid, Ph.D



(.....)

Penguji 2 : dr. Lisa Tenriesa, M.Med.Sc.



(.....)

Dibuat di : Makassar

Tanggal : 20 November 2017

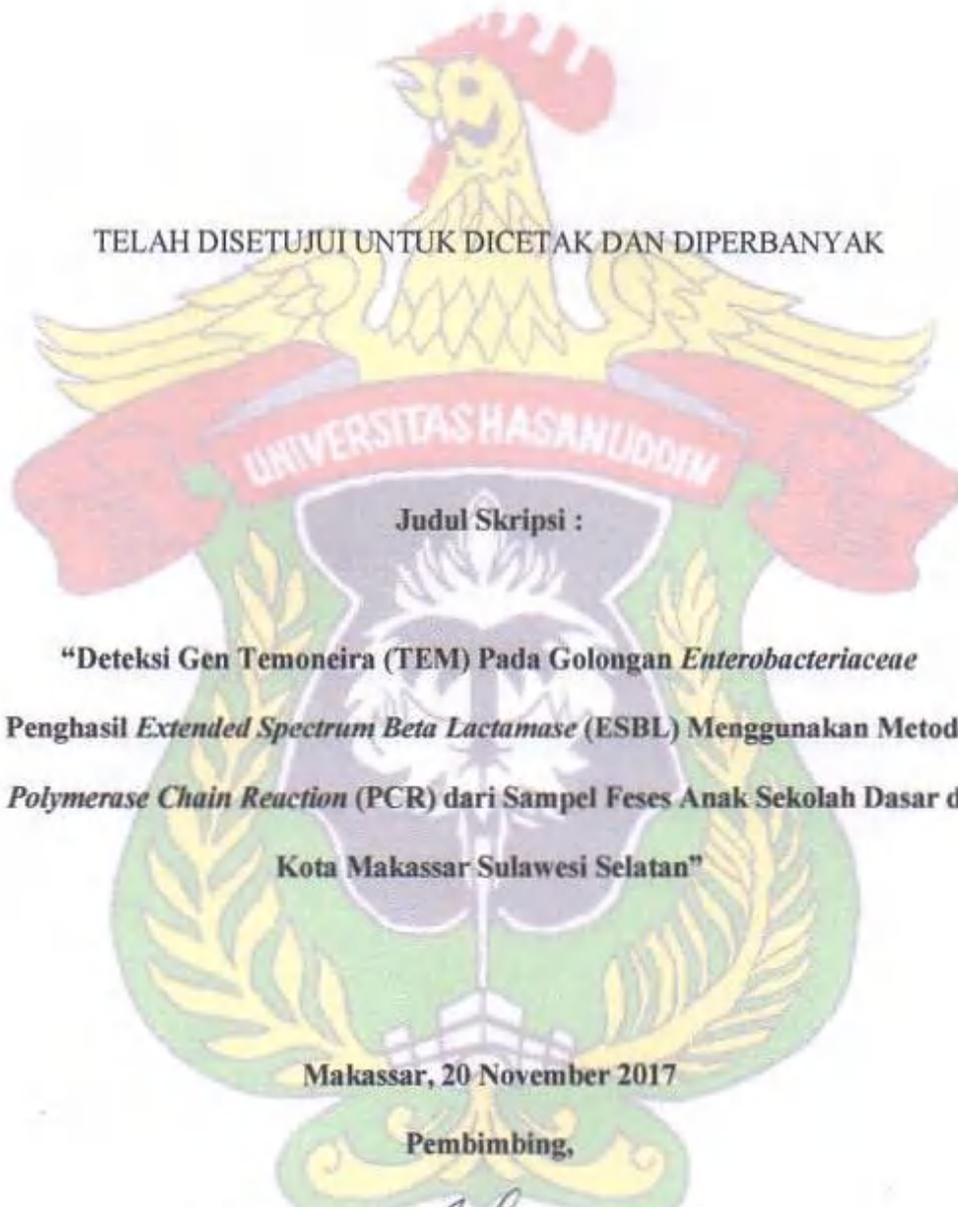


DEPARTEMEN MIKROBIOLOGI FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

TELAH DISETUJUI UNTUK DICETAK DAN DIPERBANYAK



Judul Skripsi :

“Deteksi Gen Temoneira (TEM) Pada Golongan *Enterobacteriaceae*
Penghasil *Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL) Menggunakan Metode
Polymerase Chain Reaction (PCR) dari Sampel Feses Anak Sekolah Dasar di
Kota Makassar Sulawesi Selatan”

Makassar, 20 November 2017

Pembimbing,

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



LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS KARYA

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : Priady Wira Prasetia
NIM : C111 14 092
Tempat & tanggal lahir : Ujung Pandang, 3 Agustus 1997
Alamat Tempat Tinggal : Jl. Barukang no. 44 Makassar
Alamat email : priady.wira03@gmail.com
HP : 082192377880

Dengan ini menyatakan bahwa Skripsi dengan judul: “Deteksi Gen *Temoneira* (TEM) Pada Golongan *Enterobacteriaceae* Penghasil *Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL) Menggunakan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dari Sampel Feses Anak Sekolah Dasar di Kota Makassar, Sulawesi Selatan” adalah hasil karya saya. Apabila ada kutipan atau pemakaian dari hasil karya orang lain baik berupa tulisan, data, gambar atau ilustrasi baik yang telah dipublikasi atau belum dipublikasi, telah direferensi sesuai dengan ketentuan akademis.

Saya menyadari plagiarisme adalah kejahatan akademik, dan melakukannya akan menyebabkan sanksi yang berat berupa pembatalan skripsi dan sanksi akademik lainnya. Pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Makassar, 20 November 2017

Yang Menyatakan,



Priady Wira Prasetia



KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa karena atas segala berkat dan rahmat-NYA, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Deteksi Gen *Temoneira* (TEM) Pada Golongan *Enterobacteriaceae* Penghasil *Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL) Menggunakan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dari Sampel Feses Anak Sekolah Dasar di Kota Makassar, Sulawesi Selatan”**. Skripsi ini dibuat sebagai salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Kedokteran.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini tidak dapat terselesaikan dengan baik tanpa adanya bantuan, dorongan, dan motivasi dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, para Pembantu Dekan, para dosen dan staf yang telah memberikan bantuan dan bimbingan kepada penulis.
2. dr. Rizalinda Sjahril, M.Sc., Ph.D selaku pembimbing skripsi atas kesediaan, keikhlasan, dan kesabaran meluangkan waktunya memberikan bimbingan dan arahan kepada penulis mulai dari penyusunan proposal sampai pada penyusunan skripsi ini.
3. dr. Firdaus Hamid, Ph.D dan dr. Lisa Tenriesa, M.Med.Sc. selaku penguji yang telah meluangkan waktu serta memberikan banyak masukan kepada

penulis.



4. Kepala Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin serta staf bagian penelitian atas bantuan dan kesediaan waktunya membantu penulis.
5. Staf Laboratorium Mikrobiologi HUM-RC Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin atas bantuan, arahan, kritikan, dan saran dalam penyusunan skripsi ini.
6. Para Kepala Sekolah dan Guru SDN Kompleks Mangkura Makassar dan SDN Kompleks Cambayya Makassar.
7. Teman-teman sejawat yang telah memberi semangat dan membantu dalam setiap proses penyusunan skripsi ini.
8. Seluruh pihak yang tidak sempat disebutkan satu persatu yang telah membantu penulis selama penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, oleh karena dengan kerendahan hati penulis senantiasa menerima kritik dan saran yang diberikan oleh pembaca. Akhir kata, penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak dan bagi perkembangan ilmu kesehatan kedepannya.

Makassar, 20 November 2017

Penulis



Priady Wira Prasetya

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

Deteksi Gen *Temoneira* (TEM) Pada Golongan *Enterobacteriaceae* Penghasil *Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL) Menggunakan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dari Sampel Feses Anak Sekolah Dasar di Kota Makassar, Sulawesi Selatan

ABSTRAK

Latar Belakang: Penyakit infeksi merupakan penyebab utama tingginya *morbidity* dan *mortality* pada negara-negara berkembang seperti Indonesia. Perkembangan resistensi kuman terhadap antibiotika sangat dipengaruhi oleh intensitas pemaparan antibiotika, salah satu faktor timbulnya resistensi adalah *Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL). *Enterobacteriaceae* yang berkoloni di saluran pencernaan dianggap sebagai bakteri sumber penyebaran ESBL. Salah satu dari beberapa *genotype* yang terdeteksi mengkode bakteri penghasil ESBL adalah TEM, yang dapat dideteksi menggunakan metode *polymerase chain reaction* (PCR). Data prevalensi ESBL di Indonesia, khususnya di Kota Makassar masih minim, khususnya data di komunitas. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendeteksi gen TEM pada golongan *Enterobacteriaceae* penghasil ESBL dari sampel feses siswa sekolah dasar di Kota Makassar, Sulawesi Selatan.

Metode: Penelitian ini akan dilaksanakan selama tujuh bulan dengan menggunakan metode *cross sectional study*. Penelitian dilaksanakan di dua Sekolah Dasar di Kota Makassar. Pengumpulan data dilakukan mulai pengumpulan sampel feses, ekstraksi sampel, lalu deteksi gen TEM dengan metode PCR dan elektroforesis. Kemudian data akan dianalisis dan disimpulkan pada hasil penelitian.

Hasil: Diperoleh 100 sampel yang telah dikumpulkan dari SDN Kompleks Mangkura dan SDN Kompleks Cambayya Makassar yang terdiri dari 50 sampel jenis kelamin laki-laki dan 50 sampel jenis kelamin perempuan dengan rentang usia antara 8 – 12 tahun, ditemukan adanya gen ESBL spesifik TEM pada 70 sampel feses yang diuji dan diantaranya terdapat juga sampel yang memiliki lebih dari 1 gen ESBL selain TEM.

Kesimpulan: Ditemukan gen TEM pada golongan *Enterobacteriaceae* penghasil ESBL pada sampel feses dari siswa Sekolah Dasar di Kota Makassar, Sulawesi Selatan. Dan menunjukkan prevalensi ESBL secara *genotype* cukup signifikan di Kota Makassar khususnya pada kelompok komunitas.

Kata Kunci: *Enterobacteriaceae*, ESBL, PCR, Sekolah Dasar, TEM



Priady Wira Prasetya

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

Detection of Temoneira (TEM) Genotype in Extended Spectrum Beta-Lactamases (ESBLs) – producing Enterobacteriaceae using Polymerase Chain Reaction (PCR) Method from Stool Sample of Elementary School Students in Makassar City, South Sulawesi

ABSTRACT

Background: Infectious diseases are a major cause of high morbidity and mortality in developing countries such as Indonesia. The development of resistant bacteria against antibiotics was influenced by the intensity of antibiotic exposure, one of the factors of resistance is Extended Spectrum Beta Lactamase (ESBL). One of several genotypes that are detected coding ESBL-producing bacteria is TEM, which can be detected using the polymerase chain reaction (PCR) method. ESBL prevalence data in Indonesia, especially in Makassar is still minimal, especially data in the community. The aim of this study is to detect the TEM genotype in ESBLs – producing Enterobacteriaceae from the stool sample of elementary school students in Makassar City.

Method: This research will be conducted for seven months using cross sectional study method. The study was conducted in two Elementary School in Makassar City. Data collection was done from collecting stool samples, samples extraction, then detection of TEM genotype using PCR method and electrophoresis. Then the data will be analyzed and concluded on the research results.

Result: Obtained 100 samples collected from SDN Kompleks Mangkura and SDN Kompleks Cambayya Makassar consisting of 50 samples of male gender and 50 female gender samples with age range between 8-12 years, found a specific ESBL genotypes of TEM in 70 stool samples were tested and there were also samples with more than one ESBL genotypes except TEM.

Conclusion: TEM genotype in ESBLs – producing Enterobacteriaceae has been found on stool samples from elementary school students in Makassar City, South Sulawesi. And showed the genotype in ESBL prevalence significantly in Makassar City especially in community group.

Keywords: Elementary School, Enterobacteriaceae, ESBL, PCR, TEM



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PENGESAHAN USULAN PENELITIAN	ii
LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS	v
KATA PENGANTAR	vi
ABSTRAK	viii
DAFTAR ISI	x
HALAMAN TABEL	xiii
HALAMAN DIAGRAM	xiv
HALAMAN GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 <i>Enterobacteriaceae</i>	6
2.2 <i>Extended Spectrum Beta-Lactamase (ESBL)</i>	7
<i>Extended Spectrum Beta-Lactamase (ESBL) Tipe TEM</i>	8
<i>Polymerase Chain Reaction (PCR)</i>	9



BAB 3. KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN ...	11
3.1 Dasar Pemikiran Variabel yang Diteliti.....	11
3.2 Kerangka Teori	12
3.3 Kerangka Konsep.....	13
3.4 Definisi Operasional	13
3.5 Kriteria Objektif.....	14
3.6 Hipotesis Penelitian	14
BAB 4. METODE PENELITIAN.....	15
4.1 Jenis Penelitian	15
4.2 Lokasi dan Waktu Penelitian	15
4.3 Variabel.....	15
4.4 Populasi dan Sampel.....	16
4.5 Kriteria Sampel.....	17
4.6 Instrumen Penelitian	18
4.7 Prosedur Penelitian	18
4.8 Alur Penelitian.....	22
4.9 Etika Penelitian.....	23
BAB 5. HASIL DAN ANALISIS	24
5.1 Karakteristik Sampel	24
5.2 Analisis Hasil Pemeriksaan <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	26
BAB 6. PEMBAHASAN	34
Karakteristik Sampel	34



6.2 Distribusi Gen <i>Temoneira</i> (TEM) pada golongan <i>Enterobacteriaceae</i> Penghasil <i>Extended Spectrum Beta Lactamase</i> (ESBL) Menggunakan Metode <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR).....	35
BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN	39
7.1 Kesimpulan.....	39
7.2 Saran.....	39
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN	44



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 5.1 Distribusi karakteristik sampel berdasarkan jenis kelamin	24
Tabel 5.2 Distribusi karakteristik sampel berdasarkan umur	25
Tabel 5.3 Distribusi Gen TEM pada sampel feses <i>Enterobacteriaceae</i>	30
Tabel 5.4 Distribusi Gen ESBL pada sampel feses <i>Enterobacteriaceae</i>	31
Tabel 5.5 Distribusi masing-masing Gen spesifik ESBL pada sampel feses <i>Enterobacteriaceae</i>	33



DAFTAR DIAGRAM

	Halaman
Diagram 5.1 Distribusi karakteristik sampel berdasarkan jenis kelamin.....	25
Diagram 5.2 Distribusi karakteristik sampel berdasarkan umur.....	26
Diagram 5.3 Distribusi Gen TEM pada sampel feses <i>Enterobacteriaceae</i>	30
Diagram 5.4 Distribusi Gen ESBL pada sampel feses <i>Enterobacteriaceae</i>	31
Diagram 5.5 Distribusi Gen ESBL pada sampel feses <i>Enterobacteriaceae</i> (Diagram Venn)	32
Diagram 5.6 Distribusi masing-masing Gen spesifik ESBL pada sampel feses <i>Enterobacteriaceae</i>	33



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 5.1 Hasil Visualisasi Gen TEM Pada Gel Agarosa 2 %	27
Gambar 5.2 Hasil Visualisasi Gen TEM Pada Gel Agarosa 2 %	27
Gambar 5.3 Hasil Visualisasi Gen TEM Pada Gel Agarosa 2 %	27
Gambar 5.4 Hasil Visualisasi Gen TEM Pada Gel Agarosa 2 %	28
Gambar 5.5 Hasil Visualisasi Gen TEM Pada Gel Agarosa 2 %	28
Gambar 5.6 Hasil Visualisasi Gen TEM Pada Gel Agarosa 2 %	28
Gambar 5.7 Hasil Visualisasi Gen TEM Pada Gel Agarosa 2 %	29



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Biodata Peneliti.....	44
Lampiran 2 Etik Penelitian.....	48
Lampiran 3 <i>Timeline</i> Kegiatan Penelitians	49
Lampiran 4 Data distribusi Gen ESBL <i>Enterobacteriaceae</i> pada Sampel Penelitian.....	50
Lampiran 5 Hasil elektroforesis gen TEM pada Sampel Feses	52



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Penyakit infeksi merupakan penyebab paling utama tingginya angka kesakitan (*morbidity*) dan angka kematian (*mortality*) terutama pada negara-negara berkembang seperti Indonesia. Penyakit infeksi merupakan suatu penyakit yang disebabkan karena adanya mikroba patogen (Darmadi, 2008). Salah satu penyebab penyakit infeksi adalah bakteri (Radji, 2011). Bakteri golongan *Enterobacteriaceae* sering ditemukan menghasilkan ESBL. *Enterobacteriaceae* adalah kelompok bakteri basil gram negatif yang besar dan heterogen, dengan habitat alaminya di saluran cerna manusia dan hewan, seperti *Escherichia* dan *Klebsiella* (Brooks et al, 2008).

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Usman *et al.* pada tahun 2013, telah dibuktikan bahwa dari *Escherichia coli* yang telah diisolasi dari 781 pasien yang masuk Rumah Sakit, 81% dari pasien tersebut merupakan *carrier* dari *Escherichia coli* yang resisten terhadap satu atau lebih antibiotika. Dari penelitian tersebut, ditemukan bahwa 73% dari pasien tersebut diatas, terinfeksi oleh *Escherichia coli* yang resisten terhadap *ampicillin* (570 /781 pasien) dan kebanyakan bakteri yang resisten ini merupakan bakteri penghasil ESBL.

Salah satu prosedur tatalaksana kasus infeksi *Escherichia coli* adalah pemberian antibiotika. Namun, berdasarkan *Antimicrobial Resistance in Indonesia:*

Prevalence and prevention study (AMRIN-study) pada tahun 2002-2005, kualitas penggunaan antibiotika di Indonesia dinilai kurang baik, dimana 60% dari obat yang



diresepkan oleh dokter dianggap kurang sesuai (Hadi *et al.*, 2008). Perkembangan resistensi kuman terhadap antibiotika sangat dipengaruhi oleh intensitas pemaparan antibiotika di suatu wilayah yang berpotensi dapat meningkatkan resistensi kuman yang sebelumnya sensitif. Salah satu faktor yang menyebabkan timbulnya resistensi tersebut adalah *Extended Spectrum Beta-Lactamase* (ESBL).

Enterobacteriaceae yang berkoloni di saluran pencernaan manusia dianggap sebagai salah satu sumber penyebaran ESBL, hal ini diperkuat dengan penelitian yang telah berhasil mendeteksi ESBL pada sampel feses manusia sehat (Severin, 2012). Sebagian besar ESBL berasal dari enzim tipe TEM, SHV, dan CTX-M yang disandi oleh gen *bla*TEM, *bla*SHV, dan *bla*CTX-M dan mengalami mutasi yang pada awalnya hanya dapat menghidrolisis penisilin. Gen *bla*TEM merupakan gen penyebab resistensi antimikroba di plasmid yang paling sering terdeteksi pada populasi klinis mikroorganisme gram negatif (Mroczkowska, 2008). Menurut penelitian dari Goyal *et al.* (2009) di Sanjay Gandhi Postgraduate Institute of Medical Sciences India, dari 82 sampel ESBL *E. coli* yang diperiksa, 54,9% diantaranya merupakan ESBL tipe TEM (45/82).

Deteksi ESBL dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu deteksi fenotip dan deteksi genotip. Deteksi fenotip ESBL biasanya dilakukan dengan metode *double-disk synergy test* (DDST), yang hasilnya dinyatakan positif apabila kerentanan terhadap sefotaksim berkurang yang disertai peningkatan zona hambat di antara cakram sefotaksim dan juga cakram klavulanat. Deteksi fenotip ESBL sering

di laboratorium oleh karena murah dan mudah, namun masih memiliki



kekurangan, yaitu sering kali memberi hasil positif palsu dan membutuhkan waktu lama karena harus melalui tahapan isolasi bakteri terlebih dahulu (Drieux, 2008).

Dengan teknologi modern, gen pengkode ESBL dapat dideteksi melalui amplifikasi DNA yang dilakukan menggunakan metode molekuler standar, yaitu *polymerase chain reaction* atau PCR. Deteksi genotip memakai metode PCR membutuhkan investasi peralatan khusus (Tsering, 2009). PCR merupakan teknik yang sangat canggih dan membutuhkan biaya yang cukup tinggi, namun berdasarkan tingkat spesifitas, efisiensi, dan keakuratannya, tidak diragukan bahwa keunggulan teknik ini sangat besar dibanding metode diagnostik konvensional lainnya (Joshi dan Desphande, 2010; Yusuf, 2010).

Berdasarkan permasalahan diatas, peneliti memandang perlu untuk melakukan penelitian terkait ESBL, yang dulu hanya sebagai permasalahan akibat infeksi nosokomial namun sekarang sudah menjadi infeksi dalam komunitas. Selain itu belum adanya data penelitian yang dilakukan untuk mendeteksi gen TEM pada golongan *Enterobacteriaceae* penghasil ESBL di komunitas khususnya kota Makassar, serta perlunya mengetahui persebaran ESBL dalam upaya penatalaksanaan yang tepat terhadap penyakit infeksi, maka dari itu penulis tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul **“Deteksi Gen *Temoneira* (TEM) Pada Golongan *Enterobacteriaceae* Penghasil *Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL) Menggunakan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dari Sampel Feses Anak Sekolah Dasar di Kota Makassar, Sulawesi Selatan”**.



1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas, dirumuskan suatu masalah yaitu apakah terdapat Gen *Temoneira* (TEM) pada golongan *Enterobacteriaceae* penghasil *Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL) menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dari sampel feses anak Sekolah Dasar di Kota Makassar, Sulawesi Selatan?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mendeteksi gen TEM pada golongan *Enterobacteriaceae* penghasil *Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL) menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) pada sampel feses anak Sekolah Dasar di Kota Makassar, Sulawesi Selatan.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah :

1. Hasil penelitian ini dapat dijadikan sebagai bahan informasi tentang gen *Temoneira* (TEM) pada golongan *Enterobacteriaceae* penghasil *Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL) di komunitas.
2. Bagi peneliti dan ilmu pengetahuan, penelitian ini akan menjadi acuan dan sumber bacaan untuk penelitian-penelitian berikutnya.
3. Untuk Departemen Kesehatan dan instansi terkait lainnya, dapat dijadikan sebagai

informasi tentang prevalensi resistensi gen TEM pada golongan *robacteriaceae* penghasil ESBL.



4. Untuk tenaga kesehatan, hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai acuan pengobatan menggunakan antibiotik.
5. Bagi peneliti sendiri, dapat dijadikan bahan masukan dan pembelajaran yang bermanfaat untuk perkembangan keilmuan peneliti.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Enterobacteriaceae*

Enterobacteriaceae adalah bakteri yang paling sering menyebabkan penyakit seperti Infeksi Saluran Kemih (ISK), pneumonia, sepsis, kolesistitis, kolangitis, peritonitis, gastroenteritis dan meningitis. *Enterobacteriaceae* merupakan bakteri basil gram negatif yang memiliki habitat alami di saluran cerna manusia dan hewan. Morfologi bakteri ini adalah bentuk batang pendek, gram negatif, tidak menghasilkan spora, bersifat motil dengan flagel peritrik atau nonmotil, dan tumbuh secara fakultatif aerob atau anaerob (Brooks *et al.*, 2008).

Enterobacteriaceae memiliki beberapa genus seperti *Escherichia*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Shigella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Serratia* dan lain-lain. *Enterobacteriaceae* terdiri dari 25 genus dengan 20-25 spesies yang memiliki arti klinis. (Brooks *et al.*, 2008).

Diantara beberapa spesies *Enterobacteriaceae*, spesies yang paling banyak terdapat pada saluran cerna manusia adalah *Escherichia coli* (National Health Service, 2014). Selain *E.coli*, *Klebsiella pneumoniae* juga merupakan spesies yang banyak diisolasi dari kasus infeksi bakteri pada manusia, seperti infeksi nosokomial (Tham, 2012).



2.2 *Extended Spectrum Beta-Lactamase (ESBL)*

Extended Spectrum Beta-Lactamase (ESBL) dikenal sebagai *extended-spectrum* karena dapat menghidrolisis antibiotik β -laktam yang spektrumnya lebih luas dari antibiotik β -laktam generasi sebelumnya. Enzim β -laktamase merupakan enzim kekebalan yang diperantarai plasmid. Enzim ini memiliki kemampuan menginaktivasi antibiotik golongan β -laktam yang berisi oxymino-group seperti oxymino-cephalosporin (misalnya ceftazidime, ceftriaxone, cefotaxime) juga pada oxymino-monobactam (aztreonam). Resistensi ESBL tidak tampak pada cephamycin dan carbapenem. Biasanya, enzim ESBL dapat dihambat dengan *β -lactamase inhibitor* seperti clavulanate dan tazobactam (Paterson, 2005).

Sejak bakteri ESBL pertama ditemukan pada tahun 1983 hingga sekarang, angka kejadian infeksi oleh bakteri penghasil ESBL semakin meningkat di seluruh dunia. Gen pengkode ESBL pada bakteri paling banyak berada di plasmid. Hal ini mempermudah pemindahan kemampuan menghasilkan ESBL ke bakteri lain, sehingga penyebaran resistensi sangat mudah terjadi antar strain bahkan antarspesies. Bakteri terbanyak yang menghasilkan ESBL adalah *Escherichia coli* dan *Klebsiella spp.* (Paterson, 2005). Strain bakteri ESBL lebih sering didapati pada spesimen yang berasal dari rumah sakit tetapi juga dapat dijumpai di masyarakat. Prevalensi dan fenotipnya berbeda dari satu daerah dengan daerah yang lain (Tumbarello, 2011).

Di Asia sendiri, pertama kali dilaporkan pada tahun 1988 di China ditemukan isolat *Klebsiella pneumonia* mengandung ESBL. Dalam suatu laporan kasikan didapatinya ESBL pada 5%-8% isolat *Escherichia coli* di Korea,



Jepang, Malaysia, dan Singapura. Dan mencapai 12% – 24% di Thailand, Taiwan, Filipina, dan Indonesia (Paterson, 2005).

Di Indonesia sendiri, terutama di RSUP Dr. Kariadi Semarang, selama kurun waktu 2004-2005 didapatkan proporsi bakteri penghasil ESBL sebesar 50,6% berdasarkan tes skrining awal (Winarto, 2009). Penelitian di Medan, tahun 2012 oleh Mayasari melaporkan dari 282 sampel urin dengan kultur positif, diperoleh kejadian ESBL *Eschericia coli* sebanyak 18,7%. Dari data di Bagian Mikrobiologi RS H. Adam Malik Medan, dijumpai kejadian infeksi ESBL yang cukup tinggi. Pada tahun 2012 kejadian ESBL 16,9% (12% ESBL *Klebsiella pneumoniae* dan 4,9% ESBL *Eschericia coli*) meningkat menjadi 19,51% (12,24% ESBL *Klebsiella pneumoniae* dan 7,17% ESBL *Eschericia coli*) pada tahun 2013 (Mayasari, 2012).

2.3 *Extended Spectrum Beta-Lactamase (ESBL) Tipe TEM*

ESBL tipe TEM terdiri dari TEM-1 dan TEM-2. TEM-1 pertama kali ditemukan pada tahun 1966 dari *Eschericia coli* yang diisolasi dari seorang pasien bernama Temoneira di Yunani, hal ini yang menyebabkan enzim ini disebut sebagai TEM) (Paterson, 2005). Primer spesifik yang digunakan adalah TEMF 5'CTTCCTGTTTTTGCTCACCCA3' dan TEMR 5'TACGATACGGGAGGGCTTAC3' (Yuwono, 2011).

TEM-1 beta-laktamase adalah enzim yang bertanggung jawab atas resistensi bakteri terhadap ampicillin, penicillin dan cephalosporin generasi I dan dapat oleh asam klavulanat. ESBL tipe TEM paling banyak ditemukan pada *a coli* dan *Klebsiella pneumoniae* (Bradford, 2001).



2.4 *Polymerase Chain Reaction (PCR)*

Kary B. Mullis mengembangkan *Polymerase Chain Reaction (PCR)* pada tahun 1983, untuk merevolusi metodologi dari biologi molekuler. PCR yaitu suatu proses yang didasarkan pada reaksi enzimatik *in-vitro* dalam amplifikasi DNA pada target tertentu dengan cara mensintesis molekul DNA baru yang berkomplemen dengan molekul DNA target dengan bantuan enzim dan oligonukleotida sebagai primer dalam suatu *thermocycler*. Nama PCR berasal dari kata DNA *polymerase* yang merupakan enzim yang berperan dalam replikasi DNA di dalam sel disebut juga reaksi berantai (*chain reaction*), karena DNA *polymerase* akan melakukan replikasi secara terus – menerus sampai dengan sejuta *copy* – DNA yang diinginkan (Mader 2001, dalam Husnaeni 2008).

Dalam uji PCR, terdapat tiga langkah temperatur terkendali yang dapat dilihat, dan siklus dari proses PCR ini dapat diulang berkisar antara 25-50 siklus. Menurut Bernard (1998) dalam Siregar *et al.* (2008), PCR merupakan suatu teknik untuk memperbanyak potongan DNA spesifik. Ada empat komponen utama yang dibutuhkan untuk melakukan proses PCR yaitu: (i) DNA target, (ii) primer, (iii) DNA *polymerase* dan (iv) dNTP.

Dalam proses PCR langkah pertama dari siklus pertama, DNA *template* yang asli dibuat menjadi berberkas tunggal dengan meningkatkan suhu 94°C, dikenal dengan tahap denaturasi. Tahap denaturasi ini biasanya dilakukan agak lama (sampai 5 menit) untuk memastikan semua berkas DNA terpisah. Pemisahan ini

akan DNA tidak stabil sehingga menjadi tempat bagi primer. Pada langkah primer menempel pada DNA *template*. Hal ini biasanya dilakukan dengan



menurunkan suhu sekitar $35 - 65^{\circ}\text{C}$, tahap ini dikenal dengan tahap *annealing*. Primer sebaiknya menempel pada daerah yang spesifik. Semakin panjang primer, maka semakin harus spesifik daerah yang diamplifikasi. Suhu yang tidak tepat menyebabkan terjadinya penempelan primer disembarang tempat. Langkah ketiga, suhu yang dipilih berkisar antara $65^{\circ}\text{C} - 72^{\circ}\text{C}$. Suhu yang dipakai pada proses ini tergantung dari jenis DNA *polymerase* yang dipakai. Langkah ini dikenal dengan tahap pemanjangan atau elongasi. Produk PCR dari produk yang berbeda akan menghasilkan panjang sekuen yang berbeda. Hal ini dapat dideteksi dengan elektroforesis pada gel agarose.

