

TESIS

**DETEKSI GEN *Verona Intergon-encoded Metallo β -Lactamase (VIM)*
DAN *Imipenem (IMP)* PADA ISOLAT BAKTERI *Pseudomonas*
aeruginosa DI RUMAH SAKIT Dr. WAHIDIN SUDIROHUSODO
MAKASSAR**

*DETECTION OF Veronoa Intergon-encoded Metallo β -Lactamase (VIM)
AND Imipenem (IMP) GENES IN Pseudomonas aeruginosa BACTERIAL
ISOLATES AT THE Dr. WAHIDIN SUDIROHUSODO MAKASSAR*

**FENTI A. TUPANWAEEL
P062201010**



**MAGISTER ILMU BIOMEDIK
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2023

**DETEKSI GEN *Verona Intergon-encoded Metallo β -Lactamase (VIM)*
*DAN Imipenem (IMP) PADA ISOLAT BAKTERI Pseudomonas
aeruginosa DI RUMAH SAKIT Dr. WAHIDIN SUDIROHUSODO
MAKASSAR***

TESIS

Sebagai salah satu Syarat untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi

Ilmu Biomedik Konsentrasi Mikrobiologi

Disusun dan diajukan oleh

FENTI A. TUPANWAEI

Kepada

**MAGISTER ILMU BIOMEDIK
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2023

LEMBAR PENGESAHAN TESIS

**DETEKSI GEN *Verona Intergen-encoded Metallo β -Lactamase (VIM)* DAN
Imipenem (IMP) PADA ISOLAT BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa* DI
RUMAH SAKIT Dr. WAHIDIN SUDIROHUSODO MAKASSAR**

Disusun dan diajukan oleh

FENTI A.TUPANWAEI

Nomor Pokok : P062201010

Telah dipertahankan dihadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Magister **Program Studi Ilmu Biomedik Sekolah
Pascasarjana Universitas Hasanuddin**
pada tanggal 21 Desember 2023
dan telah dinyatakan memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama

dr. Firdaus Hamid, Ph.D., Sp.MK(K)
NIP. 197712312002121002

Ketua Program Studi Ilmu Biomedik

Prof. dr. Rahmawati Minhajat, Ph.D., Sp.PD, K-HOM
NIP. 196802181999032002

Pembimbing Pendamping

dr. Rizalinda Sjahril, M.Sc., Ph.D., Sp.MK(K)
NIP. 196909181996032001

Dekan Fakultas/Ilmu/Sekolah Pascasarjana



Prof. dr. Budu, Ph.D., Sp.MK(K), M.Med ed
NIP. 196612311995031009

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Fenti A. Tupanwael
NIM : P062201010
Program Studi : Ilmu Biomedik
Konsentrasi : Mikrobiologi

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

Makassar, 10 Desember 2023

Yang menyatakan

Fenti A. Tupanwael



UCAPAN TERIMA KASIH

Syukur dan pujian penulis berikan kepada Tuhan Yesus Kristus sumber segala hikmat karena Anugerah-Nya saja penulis dapat menyelesaikan studi pada program studi (S2) Magister Biomedik pada pascasarjana program studi ilmu Biomedik Konsentrasi Mikrobiologi Universitas Hasanuddin.

Tesis ini diajukan untuk memenuhi salah satu persyaratan menyelesaikan Progran Studi Magister Ilmu Biomedik pada Program Pascasarjana Universitas Hasanuddin Makassar dan guna memperoleh gelar Magister Biomedik. Tesis ini dapat diselesaikan dengan usaha, ketekunan, dan doa serta dorongan semangat dan bantuan dari semua pihak, baik secara materil maupun moril sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini dengan judul **“Deteksi Gen *Verona Intergon-encoded Metallo β -Lactamase (VIM) dan Imipenem (IMP) pada Isolat Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Di Rumah Sakit Dr. Wadin Sudirohusodo Makassar”***.

Penulis juga menyadari bahwa banyak sekali hambatan, tantangan dan kesulitan dalam menyelesaikan tesis ini. Tanpa bimbingan, dorongan, semangat, dan bantuan dari berbagai pihak, tesis ini tidak akan terwujud. Oleh karena itu, dalam kesempatan ini penulis ingin mengucapkan rasa hormat dan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Rektor Universitas Hasanuddin Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc., selaku Rektor Universitas Hasanuddin.
2. Prof. dr. Budu, Ph.D., Sp.M (K), M. Med Ed, selaku Dekan sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin.
3. Prof. dr. Rahmawati Minhajat, Ph.D, Sp.PD-KHOM., FINASIM, Selaku Ketua Program Studi Ilmu Biomedik Universitas Hasanuddin.
4. dr. A.R. Sultan, DMM., M.Sc., Ph.D., Sp.MK, selaku ketua konsentrasi Mikrobiologi Universitas Hasanuddin.
5. dr. Firdaus Hamid, Ph.D, Sp.MK(K) dan dr. Rizalinda Sjahril, M.Sc., Ph.D., Sp.MK(K), Prof. dr. Muh. Nasrum Massi, P.h.D., Sp.MK, Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D., Sp.MK(K), dr. Yunialty Dwi Pertiwi, Ph.D, selaku dosen pembimbing utama, pembimbing pendamping dan dosen penguji tesis yang penuh dengan Ikhlas, kesabaran dan bijaksana dalam meluangkan banyak waktu untuk pengarahan agar tesis ini dapat terselesaikan dengan baik.
6. Para dosen Ilmu Biomedik Khususnya konsentrasi Mikrobiologi yang telah mendidik saya selama menjadi mahasiswa di Program Studi Ilmu Biomedik konsentrasi Mikrobiologi, suatu kehormatan untuk pernah menimba ilmu dari bapak/ibu sekalian.
7. Kepala Laboratorium sentral Rumah sakit Wahidin Sudirohusodo dan Kepala Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Unhas/HUM-RC, Kak Syafri yang telah membantu dalam proses penelitian.

8. Dr. Marthen Sagrim, S.KM., M.Kes, Selaku Ketua Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan (STIKES) Papua, yang telah memberikan izin serta dukungan baik secara moril maupun materi kepada saya sehingga dapat mencapai gelar Pendidikan sebagai Magister.
9. Ketiga orang tuaku tercinta, Jacob Tupanwael, Martha Tomatala dan Neltje Malibela yang telah memberikan semangat dan doa kepada penulis untuk menyelesaikan studi S2 dan mendorong penulis untuk menyelesaikan tesis ini.
10. Carlos K. Malibela, S.Gz, selaku suami tercinta Terima kasih telah menjadi semangat serta motivasi di saat susah juga tawa di saat sukacita penulis dalam menyelesaikan pendidikan Magister.
11. Teman-teman dosen STIKES Papua Khususnya untuk ibu Farahmita Bitan, SE., MM, Kakak Apt. Yulinda M. Bambang, S.Farm., M.Si, ade Apt. Exaudian F. Lerebulan, M.Farm, bu Reni Permata, AMKeb., SKM., M.Kes dan juga teman-teman Prodi TLM yang selalu memberi motivasi dan dukungan selama penulis menyelesaikan Pendidikan magister.
12. Kakaku Lefsyen Tupanwael dan adik-adikku Felby Tupanwael, Stefany Tupanwael, Fritsjen Tupanwael Bersama dengan keluarga mereka yang telah memberikan semangat.
13. Om Neles Kainama, Mama Ince dan adik Grace Prisillya serta keluarga bapak Yonas Malibela yang selalu memberikan dorongan dan semangat.

14. Sahabat-sahabat yang selalu setia memberikan dukungan dan semangat: Yanti Sunaidi, S.Sl., M.Kes., Riska Noviany R, S.Si dan Kak Susilawati, S.Si.
15. Kak Nasrul Haq, S.Farm., M.Biomed, dr. Muh. Aprizal, M.Biomed dan Unzia Sagita Putri, S.Si., M.Biomed selaku teman-teman seperjuangan Angkatan 2020 program studi Ilmu Biomedik Konsentrasi Mikrobiologi terima kasih untuk kebersamaan, dukungan dan motivasi selama masa perkuliahan, kalian teman-teman yang hebat.
16. Serta semua pihak yang penulis tidak dapat sebutkan satu persatu.

Akhir kata, penulis berharap semoga dengan adanya tesis ini dapat memberikan sumbangsih bagi perkembangan dan bermanfaat serta berguna bagi semua pihak yang membutuhkan.

Makassar, 10 Oktober 2023

Penulis

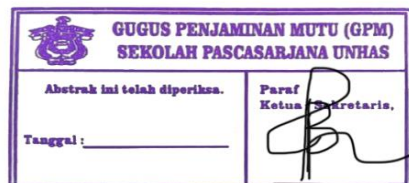
Fenti A. Tupanwael

ABSTRAK

FENTI A. TUPANWAEL. *Deteksi gen Verona Intergon-encoded Metallo- β -Lactamase (VIM) dan Imipenem (IMP) pada Isolat Bakteri Pseudomonas aeruginosa di Rumah Sakit Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar.* (dibimbing oleh **Firdaus Hamid** dan **Rizalinda Sjahril**).

Pseudomonas aeruginosa merupakan salah satu patogen oportunistik yang dapat menyebabkan infeksi yang invasif pada pasien dengan penyakit kritis maupun pasien yang memiliki tingkat imunitas yang sangat rendah seperti pasien neutropenia dan luka bakar. Peningkatan resistensi dan penyebaran gen resistensi yang sangat luas menyebabkan sulitnya pengobatan terhadap infeksi *P. aeruginosa*. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi adanya gen *Verona Intergon-encoded Metallo- β -Lactamase (VIM)* dan Imipenem (IMP) menggunakan metode multiplex *Polymerase Chain Reaction (PCR)*. Sampel penelitian yang digunakan adalah 40 isolat klinis *P. aeruginosa* yang berasal dari pasien di Laboratorium Klinik RS Dr. Wahidin Sudirohusodo yang telah diidentifikasi dan diuji kepekaannya terhadap antimikroba menggunakan alat Vitek 2 Compact. Hasil uji genotip menunjukkan bahwa 2 (5%) isolat *P. aeruginosa* positif mengandung gen Imipenem (IMP), namun tidak ada isolat yang positif mengandung *Verona Intergon-encoded Metallo- β -Lactamase (VIM)*. Dapat disimpulkan, tidak banyak isolat *P. aeruginosa* asal RS Dr. Wahidin Sudirohusodo yang mengandung gen IMP dan belum ada isolat yang membawahi gen VIM.

Kata Kunci: *Verona Intergon-encoded Metallo- β -Lactamase (VIM)*, Multiplex *Polymerase Chain Reaction (PCR)*, *Pseudomonas aeruginosa*, Imipenem (IMP).

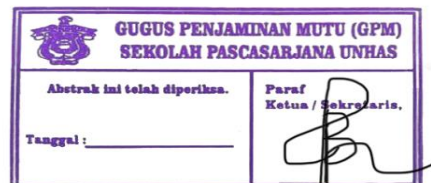


ABSTRACT

FENTI A. TUPANWAEL. *Detection of Verona Intergon-encoded Metallo- β Lactamase (VIM) and Imipenem (IMP) in Pseudomonas aeruginosa Bacterial Isolate at the Dr. Wahidin Sudirohusodo Hospital in Makassar.* (supervised by **Firdaus Hamid** and **Rizalinda Sjahril**).

Pseudomonas aeruginosa is one the opportunistic pathogens that can cause invasive infection in critically ill patients and patients with very low immunity levels such as patients with neutropenia and burns. The increase in resistance and the wide spread of resistance genes make treatment of *P. aeruginosa* infections difficult. This study aims to detect the presence of verona intergon-encoded Metallo- β -Lactamase (VIM) and Imipenem (IMP) genes in clinical isolate of *P. aeruginosa* using multiplex Polymerase Chain Reaction (PCR) method. The research samples used were 40 clinical isolate of *P. aeruginosa* from patients in the Clinical Laboratory of Dr. Wahidin Sudirohusodo hospital which have been identified and tested for antimicrobials sensitivity using the Vitek 2 Compact. The genotype test results showed that 2 (5%) isolate *P. aeruginosa* were positive for containing the Imipenem (IMP) gene, but no isolate were positive for containing Verona Intergon-encoded Metallo- β -Lactamase (VIM). It can be concluded that there are not many *P. aeruginosa* isolate from Dr. Wahidin Sudirohusodo who contains the IMP gene and there are no isolate that carry the VIM gene.

Keywords: *Verona Intergone-encoded Metallo- β -Lactamasce (VIM), Multiplex Polymerase Chain Reaction (PCR), Pseudomonas aeruginosa, Imipenem (IMP).*



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
UCAPAN TERIMA KASIH	iv
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
DAFTAR SINGKATAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Manfaat penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
A. <i>Pseudomonas eruginosa</i>	5
B. Mekanisme resistensi antibiotik	8
C. Karbapenemase	11
D. Pemeriksaan Laboratorium	15
1. Deteksi Fenotip	15
2. Deteksi Genotip	15
E. Kerangka Teori	23

F. Kerangka Konsep	24
BAB III METODE PENELITIAN	25
A. Rancangan Penelitian	25
B. Lokasi dan Waktu Penelitian	25
C. Populasi dan Sampel Penelitian	25
1. Populasi Penelitian	25
2. Sampel Penelitian	25
D. Kriteria Inklusi dan Eksklusi	26
1. Kriteria Inklusi	26
2. Kriteria Eksklusi	26
E. Alur penelitian	26
F. Instrument Pengumpulan Data	27
1. Alat yang digunakan	27
2. Bahan yang digunakan	27
3. Prosedur Kerja	27
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	30
A. Hasil Penelitian	30
B. Pembahasan	38
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	42
A. Kesimpulan	42
B. Saran	42
DAFTAR PUSTAKA	43
LAMPIRAN	49

DAFTAR GAMBAR

Gambar. 1 <i>P. aeruginosa</i> dengan pewarnaan gram.....	5
Gambar. 2 Kerangka Teori	23
Gambar. 3 Kerangka Konsep.....	24
Gambar. 4 Hasil multiplex PCR gen VIM (390 bp) dan IMP (188 bp).....	34

DAFTAR TABEL

Tabel. 1 Distribusi Isolat P. aeruginosa Berdasarkan Usia	30
Tabel. 2 Dsitribusi isolat P. aeruginosa Berdasarkan Spesimen.....	31
Tabel. 3 Hasil Uji Sensitivitas Antibiotik P. aeruginosa Terhadap Beberapa jenis Antibiotik.	32
Tabel. 4 Distribusi Temuan Gen pada Isolat P. aeruginosa	33
Tabel. 5 Kesesuaian temuan gen IMP dengan uji fenotip pada antibiotik karbapenem	34

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran. 1 Rekomendasi Persetujuan Etik	49
Lampiran. 2 Gambar penelitian dan Hasil Elektroforesis	50
Lampiran. 3 Tabel Hasil Uji Sensitivitas Antibiotik dan PCR.....	54

DAFTAR SINGKATAN

CHDL	: Carbapenem-hydrolyzing class D β -lactamase
CLSI	: Clinical and Laboratory Standart Institute
DDST	: Double Disc Synergy Test
DNA	: Deoksiribonukleat
dNTP	: Deoxynucleotide triphosphates
EDTA	: Ethylenediamine tetracetic acid
ESBL	: Extended-spectrum β -lactamase
ESKAPE	: Enterococcus faecium, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii, <i>P. aeruginosa</i> dan Spesies Enterobacter.
EUCATS	: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
GES	: Guiana extended spectrum β -lactamase
HGT	: Horizontal gene transfer
ICU	: Intensive Care Unit
IMP	: Imipenem
KPC	: Klebsiella pneumoniae carbapenemase
MBL	: Metallo beta-laktamase

MDR	: Multidrug Resistant
MDROs	: Multidrug resistant-organisms
MIC	: Minimal inhibitory concentration
NMC	: Not metalloenzyme carbapenemase
PCR	: Polymerase chain reaction
PER	: Pseudomonas extended resistance
PME	: <i>P. aeruginosa</i> ESBL
SME	: <i>Serratia marcescens</i>
VIM	: Verona Intergon-encoded Metallo- β -Lactamase

BAB I

PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG

P. aeruginosa adalah patogen oportunistik yang dapat berkembang di lingkungan masyarakat dan rumah sakit dan memiliki kemampuan untuk dapat hidup di lingkungan yang kekurangan nutrisi. Selain itu, bakteri ini dapat menyebabkan infeksi di setiap jaringan, menyebabkan timbulnya penyakit hingga kematian. *P. aeruginosa* paling sering menyebabkan infeksi di ruang ICU RS. Penggunaan kateter, pasien dengan luka bakar disertai penyakit kronis berisiko paling tinggi terkena infeksi bakteri ini (Ahmed et al., 2015; Chen et al., 2015; Crouhgs et al., 2018; Jiang et al., 2006).

Morfologi *P. aeruginosa* tersusun atas protoplasma yang mengandung *membrane* sel, DNA, dan plasmid. Dinding sel dibagi menjadi peptidoglikan, kapsul yang menyelimuti dinding sel, flagel dan vili. Plasmid adalah bagian genetik yang berada di luar kromosom ditemukan di dalam sitoplasma mikroba. Gen yang resisten pada antibiotik dapat dibawa oleh plasmid. Plasmid berukuran lebih kecil dari kromosom yang dapat menyebabkan terjadinya transfer gen resisten dari satu bakteri ke bakteri lainnya. Terjadinya transfer ini melalui transformasi, transduksi, atau konjugasi (Karomah, 2015; Rusli, 2018).

Dalam beberapa dekade terakhir telah terjadi peningkatan prevalensi *multidrug resitant-organisms* (MDROs) di seluruh dunia. Bakteri multidrug resisten adalah bakteri yang resisten terhadap setidaknya 1

agen antibiotik dari 3 golongan antibiotik (contohnya, kombinasi inhibitor beta-laktamase, sefalosporin, fluoroquinon) (Philip S.B., 2012; Paterson D.L., 2006). Kumpulan patogen ESKAPE terdiri dari *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella Pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *P. aeruginosa*, dan spesies *Enterobacter*. (Helen W.B. *et al.*, 2009).

Bakteri gram negatif memiliki tingkat infeksi nosokomial yang lebih tinggi dibanding bakteri gram positif. Hal itu disebabkan karena adanya plasmid (*mobile genetic elements*) yang memperantarai resistensi tersebut sehingga menyebar lebih cepat pada bakteri tersebut (Latifah R., 2014; Murray P., 2013).

P. aeruginosa merupakan salah satu bakteri gram negative yang merupakan patogen nosokomial yang paling sering. Infeksi karena ini sering sulit diobati karena terjadinya resistensi antibiotik. (Agrawal G. *et al.*, 2008).

P. aeruginosa memiliki salah satu rentang infektifitas terluas di antara semua mikroorganisme patogen. Dalam beberapa decade terakhir, telah semakin diakui sebagai pathogen penyebab infeksi pada pasien yang dirawat di RS yang mengganggu sistem imun seperti pasien dengan luka bakar, kanker dan pasien dengan fibrosis kistik (Shahid M. *et al.*, 2004). *P. aeruginosa* menunjukkan resistensi intrinsik terhadap berbagai antimikroba termasuk beta-laktam. *P. aeruginosa* yang memproduksi *Metallo Beta-Lactamase* dapat mengancam dan menyebabkan kekhawatiran terhadap klinisi karena infeksi yang makin meningkat di beberapa tahun terakhir

menyebabkan resistensi pada banyak antibiotik (Navneeth B. *et al.*, 2002., Agrawal G. *et al.*, 2008).

Salah satu mekanisme resistensi karbapenem adalah diproduksinya enzim beta-laktamase (karbapenemase), bakteri gram negative penghasil enzim karbapenemase telah banyak ditemukan pada Enterobacteriaceae, *P. aeruginosa* dan bakteri gram negatif non-fermenter lainnya. Beta-laktamase memiliki klasifikasi molekuler dan pada tahun 1980, Ambler memperkenalkan 2 (dua) kelas utama dari enzim beta lactamase, yaitu kelas A dengan situs aktifnya adalah serin dan kelas B (Metallo Beta-Laktamase) yang membutuhkan kation bivalen terutama zink sebagai situs aktif. Kelas enzim beta-laktamase selanjutnya diperluas menjadi kelas C oleh Jaurin dan Grundström pada tahun 1981 dan kelas D oleh Oullette, dkk pada tahun 1987. Karbapenemase kelas A terdapat gen resisten blaKPC, blaGES dan blaSME, pada karbapenemase kelas B terdapat gen resistensi blaVIM, blaIMP dan blaNDM sementara pada karbapenemase kelas D terdapat gen resisten blaOXA (Gian M.R *et al.*, 2000).

B. Rumusan Masalah

Dari latar belakang di atas maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Apakah terdapat gen VIM dan IMP pada isolat *P. aeruginosa* di RS Dr. Wahidin Sudirohusodo?

2. Bagaimana mengidentifikasi VIM dan IMP pada Isolat *P. aeruginosa* yang terdapat pada Isolat pasien.

C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui adanya gen VIM dan IMP pada Isolat *P. aeruginosa* pada pasien di RS Dr. Wahidin Sudirohusodo
2. Mengetahui cara mengidentifikasi gen VIM dan IMP pada isolat *P. aeruginosa* di RS Dr. Wahidin Sudirohusodo.

D. Manfaat Penelitian

1. Dari hasil penelitian ini diharapkan menjadi masukan bagi Rumah Sakit dalam melakukan penanganan dan pencegahan terhadap penyebaran bakteri *Pseudomonas aeruginosa* di Rumah Sakit dan menjadi salah satu acuan dalam pemberian terapi pada pasien infeksi.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. *P. aeruginosa*

P. aeruginosa bersifat aerob atau memerlukan oksigen, termasuk bakteri gram negatif yang ukurannya berkisar 0,5-1 μm , bentuknya basil dan motil atau dapat bergerak. Bakteri ini berwarna merah pada pewarnaan gram, dan dapat dilihat sebagai bakteri tunggal, berpasangan, dan biasanya berantai pendek (Ismianni, 2017; Rolsma *et al.*, 2015; Todar, 2008; Todar 2012; Fujitani *et al.*, 2015)



Gambar. 1 Pewarnaan Gram *P.aeruginosa*

P. aeruginosa mempunyai taksonomi antara lain (Ismianni, 2017; Listiani, 2014; Rolsma *et al.*, 2015; Todar, 2012; Fujitani *et al.*, 2015)

Filum : Proteobacteria
Kelas : Gamma Proteobacteria
Ordo : Pseudomonadales
Subordo : Pseudomonadinae

Family : Pseudomonadaceae

Genus : *Pseudomonas*

Spesie : *P. aeruginosa*

Struktur tubuh bakteri *P. aeruginosa* terbentuk dari banyak bagian, seperti protoplasma yang mengandung membrane sel, DNA, dan plasmid, serta dinding sel yang terdiri dari dua lapis peptidoglikan dan lipopolisakarida (LPS) yang menutupi dinding sel dan fungsinya sebagai pelindung bakteri dari antibodi sel inang. Dari beberapa bakteri gram negatif, *P. aeruginosa* bersifat tidak terlalu toksik dibanding bakteri yang lain (Wu *et al*, 2015; Li *et al*, 2015).

Fungsi flagel pada bakteri yaitu sebagai alat pergerakan bakteri dan fungsi vili yaitu agar bakteri dapat melekat pada sel inang. Gen resisten bakteri dapat dibawa oleh plasmid (Rusli, 2018; Listiani, 2014).

P. aeruginosa tumbuh pada suhu 25°C hingga 37°C bahkan mampu untuk tumbuh di suhu 42°C, hal tersebut menjadi pembeda dengan spesies *Pseudomonas* yang lainnya. *P. aeruginosa* mempunyai sifat oksidase positif, tidak berfermentasi atau nonfermenter, tapi ada beberapa strain yang dapat mengoksidasi glukosa. Bentuk koloninya yaitu bulat halus dengan fluoresen kehijauan. Pigmen yang kebiruan atau dikenal dengan piosinan juga dapat diproduksi oleh *P. aeruginosa*, sedangkan spesies *Pseudomonas* yang lain tidak memproduksi pigmen tersebut (Brooks *et al.*, 2005; Dewi, 2008; Todar, 2008; Wu *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2015).

P. aeruginosa dapat ditemui di tanah, air, dan cukup jarang ditemui pada hewan, sama dengan genus *Pseudomonas* yang lain. *P. aeruginosa* diketahui sebagai salah satu bakteri oportunistik paling banyak pada manusia (Todar, 2012). Terjadinya infeksi serius pada pasien seperti munculnya luka berat dan fibrosis kistik juga disebabkan oleh *P. aeruginosa* (CDC, 2018; Davodian *et al.*, 2015; Farshadzadeh *et al.*, 2014; Shacheraghi *et al.*, 2010; Ullah *et al.*, 20217; Wu *et al.*, 2015).

Secara alami, *P. aeruginosa* dapat resisten pada beberapa antibiotik sehingga menyebabkan infeksi yang sulit diobati dan mengancam jiwa terlebih jika penyebabnya adalah strain yang sifatnya multiresisten (Yu-Chi L. *et al.*, 2009; Mohamed H. A. *et al.*, 2014). Terjadinya peningkatan kejadian infeksi *P. aeruginosa Multidrug-resistant* (MDR), dan resistensinya terhadap beta-laktam spektrum luas, aminoglikosida dan fluroquinolon menjadi semakin sulit untuk memilih terapi antibiotik yang sesuai. Sekarang ini pengobatan infeksi *P. aeruginosa* menggunakan antibiotik karbapenem di mana penggunaan antibiotik ini juga semakin meningkat yang menyebabkan terjadinya permasalahan pada kesehatan masyarakat (Nele B. *et al.*, 2011).

P. aeruginosa dapat dijumpai ditempat lembab bersuhu 20°C-43°C. Bakteri ini sering ditemui pada alat-alat RS seperti alat bantu pernafasan dan pipa-pipa saluran. *P. aeruginosa* sering ditemukan pada cairan yang digunakan seperti disinfeksi, sabun, cairan irigasi, tetes mata, cairan dialisis dan luka bakar dapat terkontaminasi oleh bakteri ini, suhu lembab

dengan kadar air yang tinggi merupakan tempat terbaik tumbuhnya *P. aeruginosa*. *P. aeruginosa* dapat juga dijumpai sebagai flora normal dan dapat melakukan kolonisasi di saluran pencernaan, dan dapat tumbuh pada bagian tubuh yang lembab seperti tenggorokan, mukosa hidung, kulit ketiak dan perineum. *P. aeruginosa* sering menjadi lesi lokal pada pasien dengan abrasi kornea dan luka bedah. Infeksi ulkus seperti diabet. Ketika bakteri ini masuk, penyebaran terjadi melalui darah dan mengakibatkan sepsis. Saluran nafas adalah specimen yang paling baik untuk isolat *P. aeruginosa*, diikuti kemudian dengan luka, urin dan darah (Mandell D. *et al.*, 2010; Brenda A. *et al.*, 2011).

Beberapa faktor virulen pada *P. aeruginosa* yaitu dipengaruhi oleh permukaan (flagel, pilus, lipopolisakarida) dan faktor sekresi (produk ekstraseluler, protein skresi tipe II, molekul quorumsensing, dan alginate) (Kipnis *et al.*, 2006; Sadikot *et al.*, 2005). Tingginya resistensi instrinsik pada *P. aeruginosa* menyebabkan bakteri ini menjadi sulit diobati, dan bakteri ini mampu untuk melakukan mekanisme resistensi lebih lanjut pada beberapa kelompok antibiotik. Pada resistensi *P. aeruginosa* hampir semua mekanisme enzim dan terjadinya mutasi terdapat pada bakteri ini (Ruiz-Roldan *et al.*, 2018; Strateva dan Yordanov, 2009).

B. Mekanisme resistensi antibiotik

Terjadinya resistensi antibiotik disebabkan oleh dua mekanisme, yaitu secara genetik maupun secara biokimia. Strategi genetik yang

digunakan bakteri untuk melakukan adaptasi pada serangan antibiotik, yaitu:

1. Evolusi vertikal, merupakan terjadinya mutasi di kromosom secara spontan atau melalui proses seleksi
2. Evolusi horizontal/*horizontal gene transfer* (HGT) menyebabkan terjadinya transmisi materi genetik dari bakteri yang mengalami resistensi.

Adanya bakteri yang resisten pada semua kelas antibiotik yang berbeda bisa menyebabkan terjadinya peningkatan resistensi karena transfer gen resisten atau terjadinya transmisi melalui proses konjugasi (perpindahan plasmid dari satu bakteri ke bakteri lainnya karena memiliki kemampuan melekat antara bakteri donor dengan bakteri penerima), transformasi (lisinya bakteri menyebabkan pelepasan kromosom DNA sehingga dapat masuk ke bakteri lainnya) dan transduksi (proses transfer oleh bakteriofage)

Mekanisme resistensi biokimia antibiotik terdiri dari :

1. Inaktivasi antibiotik. Resistensi terhadap antibiotik dapat terjadi karena produksi enzim oleh bakteri yang menyebabkan antibiotik menjadi tidak aktif atau mengalami penurunan fungsi. Enzim β -laktamase merupakan salah satu enzim yang mampu menonaktifkan antibiotik dengan cara memutus cincin β -laktam dari antibiotik β -laktam seperti penisilin, sehingga kerusakan pada cincin β -laktam menghentikan antibiotik untuk dapat

menempel pada precursor peptidoglikan (Dugassa dan Shukuri 2017; Latifah, 2014).

2. Penurunan permeabilitas membran. Cara lain untuk mengganggu kerja antibiotik adalah dengan mencegah masuknya obat ke dalam sel bakteri dan mencapai targetnya. Bakteri gram negatif memiliki pori-pori (saluran kecil) pada dinding selnya yang berfungsi sebagai jalan masuknya antibiotik. Tetapi adanya mutasi gen dapat mengubah muatan listrik atau struktur fisik pori-pori sehingga dapat mempersulit antibiotik untuk masuk ke dalam sel. Antibiotik masih aktif secara fungsional, tetapi akan gagal mencapai situs targetnya (Dugassa dan Shukuri, 2017; González-Bello 2017).
3. Modifikasi situs target. Beberapa antibiotik bekerja dengan mengikat komponen molekul target dari mikroorganisme. Mikroorganisme dapat menurunkan keefektifan suatu obat jika molekul target berubah sedikit dalam strukturnya sehingga antibiotik tidak lagi dapat mengikat molekul target tersebut. Contohnya, tetrasiklin memblokir situs akses RNA transfer dengan mengikatnya. Pada gilirannya sedikit perubahan di situs akses dapat menyebabkan resistensi mikroba terhadap tetrasiklin (Dugassa dan Shukuri, 2017)
4. *Efflux pump*. Mekanisme lain di mana mikroorganisme menjadi kebal terhadap antibiotik adalah dengan menggunakan *efflux*

pump. *Efflux pump* adalah pompa biologis yang dapat memaksa antibiotik keluar dari sel, sehingga tidak dapat mencapai atau tetap bersentuhan dengan targetnya tetapi konsentrasi antibiotik menurun sehingga antibiotik tidak cukup aktif. Metode resistensi antibiotik ini seringkali dapat menciptakan resistensi terhadap lebih dari satu kelas antibiotik, terutama maksrolida, tetrasiklin dan fluoroquinolon karena antibiotik ini menghambat berbagai aspek biosintesis protein dan DNA. Mekanisme dan resistensi ini sangat penting pada *P. aeruginosa* dan *Acinetobacter spp.* (Dugassa dan Shukuri, 2017; González-Bello, 2017).

C. Karbapenemase

Beberapa bakteri penghasil suatu enzim yang mampu menonaktifkan dan memodifikasi suatu antibiotik secara permanen, salah satunya adalah enzim β -laktamase. Enzim ini bekerja dengan cara menghidrolisis ikatan amida pada cincin β -laktam yang terdapat di semua golongan antibiotik β -laktam (Santajit dan Indrawattana, 2016; Zhao dan Hu, 2010).

Karbapenemase merupakan β -laktamase spesifik yang menyebabkan bakteri mengalami resistensi terhadap banyak antibiotik karbapenem namun mampu menghidrolisis hampir semua golongan antibiotik β -laktam (Queenan dan Bush, 2007).

Dua skema klasifikasi β -laktamase yang paling sering digunakan di seluruh dunia adalah klasifikasi molekuler Ambler dan sistem klasifikasi fungsional Bush-Jacoby-Mederos (Paterson dan Bonomo, 2005). Klasifikasi molekuler didasarkan pada homologi protein (kesamaan asam amino) yang dibagi menjadi empat kelas A-D. Kelas A *extended-spectrum β -lactamase* (ESBL), Kelas C AmpC *β -lactamase*, dan D oksasilinase spectrum luas (OXA) adalah enzim tipe serin yang memiliki bagian serin di situs aktif. Enzim kelas B memerlukan kation divalent (seng) sebagai kofaktor logam sehingga disebut *metallo β -lactamase* (MBL). Skema klasifikasi fungsional Bush-Jacoby-Mederios mengelompokkan β -laktamase menurut kesamaan fungsional (profil substrat dan inhibitor). Klasifikasi fungsional β -laktamase yang diketahui terbagi menjadi 4 (empat) kelompok fungsional utama (kelompok 1 hingga 4), dengan beberapa subkelompok di bawah kelompok 2 yang dibedakan menurut substrat spesifik atau profil inhibitor. Dalam skema klasifikasi fungsional ini, karbapenemase ditemukan terutama dalam kelompok 2 dan 3 (Antunes dan Fisher, 2014; Queenan dan Bush, 2007).

Kelas A serin karbapenemase yang terdiri dari enzim NMC, IMI, SME, KPC dan GES telah terdeteksi pada isolat bakteri *Enterobacteriaceae*. Enzim SME, NMC dan IMI biasanya dikodekan secara kromosom, sedangkan enzim KPC dan GES dikodekan oleh plasmid. Enzim SME-1 (*Serratia marcescens enzyme*) pertama kali terdeteksi di Inggris dari dua isolat *S. marcescens* yang dikumpulkan pada tahun 1982. SME-1 β -laktamase, bersama dengan SME-2 dan SME-3 yang hampir identik,

telah ditemukan secara sporadis di seluruh Amerika Serikat. Enzim IMI (*imipenem-hydrolyzing β -lactamase*) dan NMC (*not metalloenzyme carbapenemase*) telah terdeteksi dalam isolat klinis langka *Enterobacter cloacae* di Amerika Serikat, Prancis, dan Argentina. NMC-A dan IMI-1 memiliki identitas asam amino 97% dan terkait dengan SME-1, dengan sekitar 70% identitas asam amino. Fakta jaranginya ketiga jenis enzim ini dikodekan secara kromosom (Diene dan Rolain, 2014; Queenan dan Bush 2007).

Gen untuk enzim KPC (*Klebsiella pneumonia carbapenemase*) ditemukan pada plasmid yang dapat ditransfer, terutama pada *Klebsiella pneumonia*, tetapi juga telah terdeteksi pada *Enterobacteriaceae*, lain seperti *P. aeruginosa* dan *A. baumannii*. Anggota pertama dari keluarga KCP ditemukan melalui proyek pengawasan ICARE dalam isolat klinis *K. pneumonia* dari North Carolina pada tahun 1996. Isolat ini resisten terhadap semua β -laktam yang diuji, tetapi MIC karbapenem menurun dengan adanya asam klavulanat. Gen untuk enzim GES (*Guiana extended spectrum*) pertama kali dijelaskan pada tahun 2000 dalam isolat *K. pneumonia* dari Guyana Prancis. Enzim GES pada awalnya dilaporkan sebagai ESBLs (*extended-spectrum β -lactamases*), tetapi karena adanya mutasi menyebabkan aktivitas hidrolisis bertambah terhadap karpanem (GES-2, GES-4, GES-11, dan GES-14). Semua enzim tersebut memiliki kemampuan untuk menghidrolisis sebagai antibiotik β -laktam, termasuk karbapenem, sefalosporin, penisilin dan aztreonam dan semua dihambat

oleh klavulanat dan tazobactam (Diene dan Rolain, 2014, Queenan dan Bush, 2007).

Kelas B metallo- β -laktamase, anggota ambler kelas B dan Bush-Jacoby-Mederos grup 3, dibedakan dengan adanya Zn^{2+} di situs aktif. MBL menghidrolisis sebagian besar β -lakta, termasuk karbapenem, tetapi tidak menghidrolisis monobaktam. MBL dapat dihambat oleh inhibitor Ethylenediamine tetracetic acid (EDTA). Enzim tipe MBL, seperti IMP, VIM, GIM, SIM, dan NDM terutama ditemukan dalam plasmid yang dapat ditransfer diantara bakteri *Enterobacteriaceae*, tetapi juga ditemukan di *P. aeruginosa* dan *A. baumannii*. Enzim tipe IMP, awalnya dilaporkan pada tahun 1991 dalam isolat klinis *S. marcescens* di Jepang. Saat ini enzim tersebut telah dilaporkan di seluruh dunia di *Enterobacteriaceae*, *P. aeruginosa*, dan *A. baumannii*. Enzim tipe VIM (*Verona Intgeon-encoded metallo- β -lactamase*) yang sekarang terdiri dari >30 varian, pertama kali diisolasi di Verona, Italia pada tahun 1997 pada isolat klinis *P. aeruginosa* dan pada integrin kelas 1. Enzim NDM-1 telah menyebar ke seluruh dunia dan sekarang telah menjadi salah satu karbapenemase yang paling umum di semua *Enterobacteriaceae* dan di *A. baumannii* (Diene dan Rolain, 2014).

Kelas D karbapenemase juga dikenal sebagai oksasilinase (OXA), Gen OXA ditemukan pada kromosom serta plasmid dari spesies bakteri yang beragam seperti *Acinetobacter*, *Shewanella*, *Pseudomonas* dan *Burkholderia*. Banyak kromosom β -laktamase kelas D sekarang ditransfer ke plasmid dan menimbulkan ancaman klinis yang lebih besar. Tipe OXA

yang mempunyai kemampuan dalam menghidrolisis Imipenem dikelompokkan kedalam subgroup β -laktamase yang disebut dengan *carbapenen-hydrolyzing class D β -lactamase* (CHDL). (Queenan dan Bush, 2007).

D. Pemeriksaan Laboratorium

1. Deteksi fenotip

Metode fenotip merupakan standar emas dalam menentukan resistensi pada isolat klinis. Menurut *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST) metode yang paling banyak digunakan untuk uji fenotip ialah metode *disk diffusion* dan metode dilusi atau menurut kriteria dari *Clinical and Laboratory Standart Institute* (CLSI), yaitu E-test atau *Double Disc Synergy Test* (DDST) (Sittová *et al.*, 2015).

a. *Disk Diffusion*

Disk Diffusion adalah standar emas yang digunakan untuk memastikan resistensi bakteri. *Disk Diffusion* standar dikenalkan oleh Bauer dan Kirby pada tahun 1956, metode ini menggunakan kertas cakram (*disk*) yang mengandung zat antimikroba untuk menguji apakah bakteri tertentu rentan terhadap antibiotik tertentu atau sebaliknya. Inoculum bakteri (sekitar $1-2 \times 10^8$ CFU/mL) disebarkan secara seragam menggunakan kapas steril pada cawan petri *Mueller Hinton* (MH) agar steril. *Disk* antibiotik ditempatkan di atas permukaan media agar MH. Setiap *disk* harus ditekan ke bawah untuk memastikan kontak penuh dengan permukaan agar. Pelat

diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 35-37⁰C dalam inkubator bakteriologis sebelum dilakukan interpretasi hasil. Ukuran zona hambat yang terbentuk di sekitar *disk* diukur, ukuran zona hambat sesuai dengan konsentrasi antibiotik berdasarkan CLSI (Uddhav dan Sivagurunathan, 2016).

b. Metode Dilusi

Metode pengujian ini digunakan untuk menentukan *minimal inhibitory concentration* (MIC) antimikroba untuk menghambat atau membunuh mikroorganisme (biasanya dinyatakan dalam µg/ml atau mg/liter) secara kuantitatif. Konsentrasi tersebut dapat dicapai dengan melakukan pengenceran agen antimikroba baik dalam media agar (*agar dilution*) maupun media kaldu (*broth dilution*) (soleha, 2015)

c. *Epsilometer test* (Etest)

Epsilometer test (Etest) adalah salah satu tes yang digunakan untuk analisis rutin resistensi antibiotik yang meluas pada bakteri. AB BIODISK memproduksi strip plastik Etest pertama untuk memeriksa beberapa antibiotik pada satu platform pada tahun 199. Strip plastik Etest dilapisi dengan konsentrasi antibiotik yang telah ditentukan sebelumnya dan rentang MIC interpretatif yang sesuai masing-masing ditandai pada permukaan dan belakang strip. Deteksi dilakukan dengan meletakkan beberapa strip pada cawan agar yang telah diinokulasi sebelumnya, diikuti dengan inkubasi semalaman,

zona hambat elips muncul di sekitar strip, menunjukkan MIC di titik persimpangan antara zona inhibisi dan tepi strip. Kemampuan interpretasi MIC yang mudah dalam kondisi fisik yang beragam menjadikan Etest metode preferensial daripada teknik difusi dan pengenceran cakram standar di laboratorium klinik untuk uji kepekaan antibiotik (Khan *et al.*, 2019).

d. *Double Disc Synergy Test* (DDTS)

Tes ini pertama kali digunakan pada studi epidemiologi untuk menilai penyebaran bakteri Enterobacteriaceae penghasil ESBL di rumah sakit Prancis. DDST telah terbukti bekerja dengan baik dengan berbagai spesies Enterobacteriaceae dan jenis ESBL, tes ini telah umum digunakan dan dapat diandalkan dalam mendeteksi ESBL. Pengujian dilakukan pada agar dengan cakram 30 µg sefotaksin (dan seftriakson, seftadizim dan atau aztreonam) dan cakram amoksilin-klavunalat (berisi 10m µg klavunalat) yang ditempatkan pada jarak 30 mm (pusat ke pusat), yaitu pada jarak yang disediakan oleh beberapa jenis dispenser disk (Drieux *et al.*, 2008).

e. Teknik otomatis

Perkembangan teknologi otomatis untuk uji resistensi antibiotik telah diimprovisasi secara terus menerus dan telah menggantikan metode fenotip konvensional. Otomatisasi dan kesederhanaan menjadi alasan utama diterimanya teknik otomatis

secara luas dalam diagnostik. Integrasi computer telah memungkinkan analisa online dan berbagi data, yang merupakan inovasi besar untuk validasi hasil, terutama di daerah terpencil. Di antara sistem otomatis yang dikembangkan, yaitu *MicroScan WalkAway* (Beckman Coulter, Inc. Atlanta, Georgia, USA) (1980), *Micronaut* (Merlin, Berlin, Jerman) (1990), tes *avantage* (Abbott Laboratories, Irving, Texas, USA) (1980), Vitek 2 (bioMérieux, Marcy- l'Etoile, Prancis) (2000), Phoenix (BD Diagnostics, Franklin Lakes, New Jersey, USA) (2001), dan Sensitive ARIS 2X (Sistem Diagnostik Trek, Desa Oakwood, Ohio, AS) (2004), Vitek dan Phoenix mendeteksi bakteri yang tumbuh berdasarkan kekeruhan, sedangkan sistem otomatis seperti MicroScan WalkAway (Beckman Coulter, Inc, Atlanta, Georgia, AS) dan Sensitive ARIS 2x didasarkan pada emisi fluoresensi dari bakteri yang sedang tumbuh (Khan *et al.*, 2019).

- **Tinjauan Umum VITEK 2**

Sistem VITEK 2 (bio-Mérieux, Prancis) merupakan sistem identifikasi mikroba secara otomatis yang mengeluarkan hasil lebih cepat, akurat dan berbasis computer VITEK 2 menawarkan platform teknologi canggih untuk metode identifikasi fenotipik. Teknologi ini memiliki tahapan pemeriksaan yang mudah untuk digunakan dalam memperoleh hasil identifikasi dan kepekaan (sensitivitas) antibiotik yang telah divalidasi dan diinterpretasikan

sesuai dengan standar internasional (CLSI : *Clinical laboratory Standard International*) (Prihatini *et al.*, 2007; Sony dan Potty, 2017).

Kartu VITEK 2 terdiri atas 2 (dua) jenis kartu yaitu kartu ID untuk identifikasi dan kartu AST untuk uji kepekaan atau sensitivitas antibiotik dimana setiap kartu dilengkapi dengan angka sandi batang (barcode). Kartu VITEK 2 memiliki konsep yang unik yaitu kombinasi 600 jenis substrat uji kolorimetrik yang sangat khas (spesifik) yang mampu digunakan untuk membedakan antar spesies sehingga 98% isolat klinik dapat terdeteksi dengan sistem tunggal ini secara cepat. Menu kartu Vitek-2 sangat lengkap, terdiri dari jenis kartu, ketepatan identifikasi dan waktu deteksi (Prihatini *et al.*, 2007)

2. Deteksi Genotip

Polymerase chain reaction (PCR) merupakan metode molekuler untuk sintesis dan amplifikasi DNA secara *in vitro* menggunakan sepasang primer yang spesifik metode ini telah diterima secara luas di banyak bidang biologi molekuler (Gibbs, 1990).

Tujuh komponen yang diperlukan dalam proses PCR yaitu :

1. *Template*/cetakan DNA yang diperbanyak.
2. Enzim DNA polymerase tahan panas
3. Satu pasang primer
4. dNTP (Deoxynucleotide triphosphates)

5. Kofaktor MgCl₂
6. Larutan penyangga
7. Air

Ketujuh komponen ini dicampurkan di dalam tabung ukuran 200 µl dalam kondisi dingin sebelum melakukan PCR di dalam *thermal cycler* (Budianto, 2016).

Protokol standar pada proses PCR terdiri dari 3 tahapan yang selalu terulang dalam 30-40 siklus dan berlangsung dengan cepat yaitu :

1. Denaturasi DNA template merupakan proses pembukaan DNA untai ganda menjadi DNA untai tunggal. Pada proses ini suhu reaksi meningkat hingga 95⁰C untuk memisahkan untai DNA.
2. Penempelan primer pada template (*annealing*), suhu diturunkan untuk memfasilitasi penempelan DNA polymerase secara spesifik pada untai tunggal DNA yang sudah berkomplementasi dengan primer spesifiknya. Semakin panjang ukuran primer, semakin tinggi temperaturnya. Suhu yang biasa dilakukan itu adalah antara 50-60⁰C.
3. Pemanjangan primer (*extension*), selama tahapan ini *taq polymerase* memulai aktivitasnya memperpanjang DNA primer dan ujung 3'. Suhu dinaikkan menjadi 72⁰C yang optimal bagi enzim DNA polymerase untuk ekstensi primer. Proses ini terjadi secara berulang (siklus) dan setiap siklusnya terjadi duplikasi jumlah DNA.

Prinsip PCR didasarkan pada isolasi, amplifikasi dan kuantifikasi sekuens DNA pendek yang unik yang terdapat dalam materi genetik bakteri target. Untuk PCR konvensional, primer *forward* dan *reverse* digunakan untuk memperkuat urutan target dan elektroforesis gel berhubungan dengan pewarna fluoresen pengikat DNA yang memungkinkan visualisasi hasil.

Multipleks Polymerase chain reaction

Multipleks PCR adalah Teknik dimana PCR digunakan untuk memperkuat beberapa rangkaian DNA yang berbeda secara bersamaan. Ini adalah jenis pendekatan pengayaan target. Pertama kali dijelaskan pada tahun 1988 sebagai metode untuk mendeteksi penghapusan mutasi pada gen distrofin gen manusia terbesar yang diketahui.

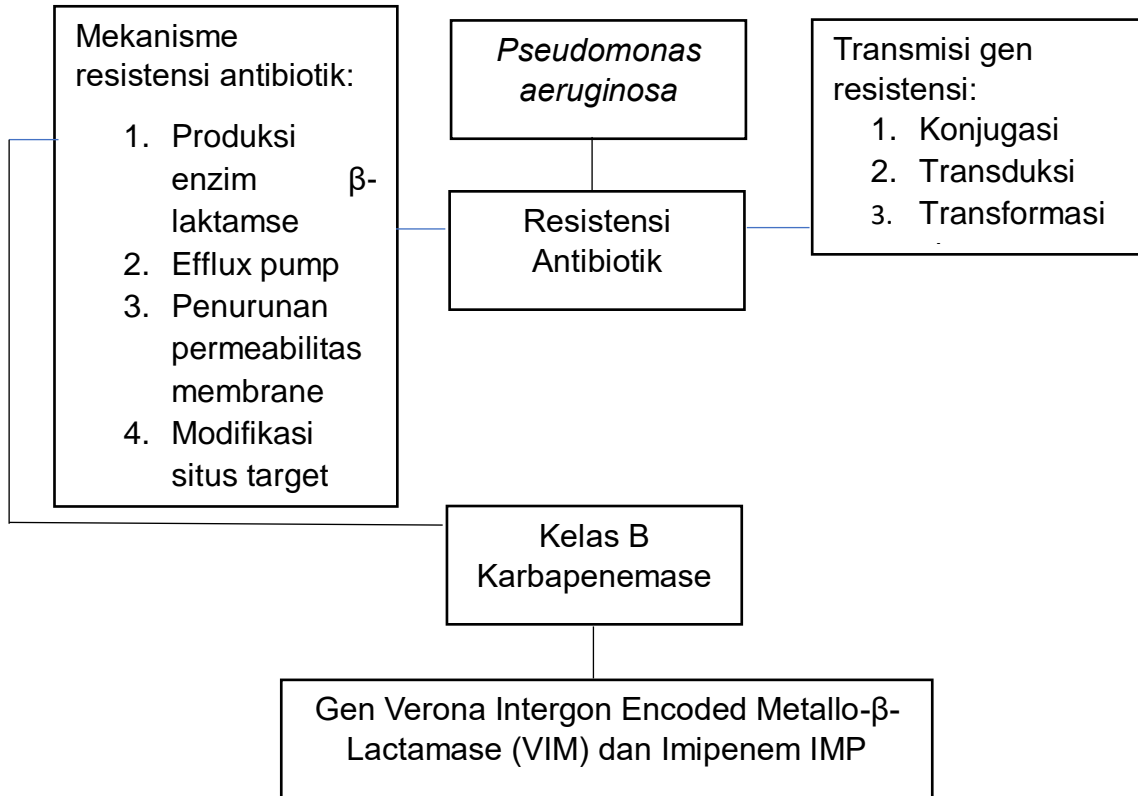
Kelebihan PCR Multipleks

Manfaat PCR multipleks bisa sangat besar di laboratorium yang memerlukan analisis berulang terhadap jenis sampel yang serupa dan target yang sama. Keuntungannya termasuk memperoleh lebih banyak informasi dengan bahan awal yang terbatas, sifatnya yang hemat biaya, menghemat waktu dan hasil yang lebih tinggi. Pada dasarnya, dengan menargetkan beberapa rangkaian sekaligus.

Kelemahan dari PCR multipleks

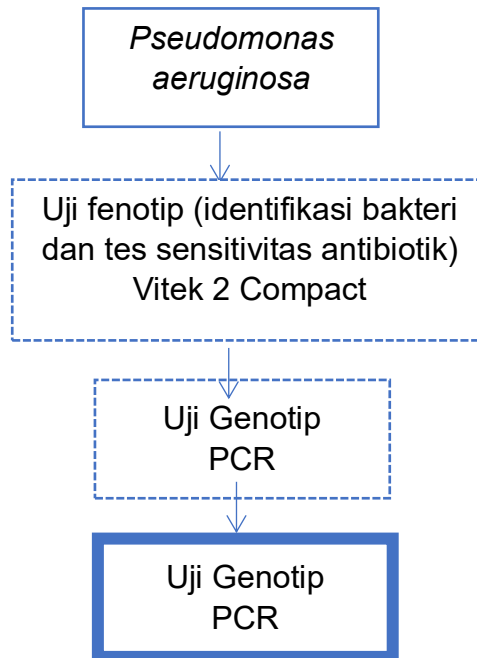
Meskipun PCR multipleks memiliki banyak kelebihan, namun juga memiliki beberapa kelemahan yang tidak dapat diabaikan. Pertama, penghambatan diri di antara rangkaian primer yang berbeda dapat terjadi. Desain pengujian yang lebih kompleks ketika menggabungkan beberapa target per sumur PCR

1. Kerangka Teori



Gambar. 2 Kerangka Teori

2. Kerangka Konsep



Gambar. 3 Kerangka Konsep

Keterangan

