

DETEKSI GEN TEM, SHV DAN CTX-M PADA *ESCHERICHIA COLI* PENGHASIL *EXTENDED SPECTRUM BETA LACTAMASE* (ESBL) PENYEBAB INFEKSI SALURAN KEMIH (ISK)

Detection Of TEM, SHV and CTX-M Genes In *Escherichia Coli* Producing *Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL) Causes Urinary Tract Infections (UTI)

NURUL REZKY

P062192006



**PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIK
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2023

DETEKSI GEN TEM, SHV DAN CTX-M PADA *ESCHERICHIA COLI* PENGHASIL *EXTENDED SPECTRUM BETA LACTAMASE* (ESBL) PENYEBAB INFEKSI SALURAN KEMIH (ISK)

Detection Of TEM, SHV and CTX-M Genes In *Escherichia Coli* Producing *Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL) Causes Urinary Tract Infections (UTI)

NURUL REZKY

P062192006



**PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIK
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2023

DETEKSI GEN TEM, SHV DAN CTX-M PADA *ESCHERICHIA COLI* PENGHASIL *EXTENDED SPECTRUM BETA LACTAMASE* (ESBL) PENYEBAB INFEKSI SALURAN KEMIH (ISK)

Tesis
sebagai syarat untuk mencapai gelar magister

Program Studi Ilmu Biomedik

Disusun dan diajukan oleh

**NURUL REZKY
P062192006**

Kepada

**PROGRAM MAGISTER ILMU BIOMEDIK
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

LEMBAR PENGESAHAN TESIS

**DETEKSI GEN TEM, SHV DAN CTX-M PADA *ESCHERICHIA COLI*
PENGHASIL *EXTENDED SPECTRUM BETA LACTAMASE* (ESBL)
PENYEBAB INFEKSI SALURAN KEMIH (ISK)**

Disusun dan diajukan oleh

**Nurul Rezky
P062192006**

Telah dipertahankan di hadapan panitia ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Magister Program Studi Ilmu Biomedik
Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin
Pada tanggal 27 Desember 2023
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama

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

Pembimbing Pendamping

Dr.dr. Ilhamjaya Patellongil, M.Kes
NIP. 195801281989031002

Ketua Program Studi
Magister Ilmu Biomedik

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



Dekan Sekolah Pascasarjana
Universitas Hasanuddin

Prof.dr.Budu, Ph.D., Sp.M(K), M.MedEd.
NIP. 196612311995031009

**PERNYATAAN KEASLIAN TESIS
DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA**

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis berjudul "Deteksi Gen TEM, SHV, dan CTX-M Pada *Escherichia coli* Penghasil *Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL) Penyebab Infeksi Saluran Kemih (ISK)" adalah benar karya saya dengan arahan dari tim pembimbing (dr.Rizalinda Sjahril., M.Sc., Ph.D, Sp.MK, Vir(K) sebagai Pembimbing Utama dan Dr.dr. Ilhamjaya Patellongi., M.Kes sebagai Pembimbing Pendamping). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka tesis ini. Sebagian dari isi tesis ini telah dipublikasikan di Jurnal (Malaysian Journal of Microbiology, Scopus Quartil 4) sebagai artikel dengan judul "The Sensitivity of the PCR Technique in Detecting the Presence of ESBL Producing *Escherichia coli*". Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa tesis ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 27 Desember 2023



NURUL REZKY
P062192006

PRAKATA

Bismillaahirrahmaanirrahiim

Alhamdulillah Puji Syukur senantiasa penulis panjatkan kehadiran **Allah Subhanahu wa ta'ala** atas segala berkah, Rahmat, Hidayah dan Nikmat-Nya, serta salam dan salawat tercurah kepada junjungan **Nabiullah Muhammad Shallahu 'alaihi wasalam** sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini dengan baik sebagai salah satu persyaratan untuk mencapai gelar pendidikan sebagai Magister.

Pertama-tama penulis haturkan ucapan terima kasih yang tulus dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada orang tua, Ayahanda H. Ridwan, SE., M.Mar.E dan Ibunda Hj. Murni yang dengan penuh kasih sayang dan ketulusannya telah memberikan doa dan dukungan yang senantiasa mengiringi langkah penulis selama menempuh pendidikan.

Penyusunan dan penyelesaian tesis ini tidak lepas dari bantuan dan dukungan dari berbagai pihak, sehingga penulis dengan rasa syukur menyampaikan terima kasih yang tulus kepada : dr. Rizalinda Sjahril, M.Sc., PhD., Sp.MK selaku Pembimbing 1 dan Dr.dr. Ilhamjaya Pattelongi, M.Kes selaku pembimbing 2. Terima kasih pula kepada Dr.dr. Yuyun Widaningsih, M.Kes., Sp.PK; Dr. Dr. Irfan Idris, M.Kes; dan Dr. Rosana Agus, M.Si selaku penguji, yang telah memberikan bimbingan dan ilmunya dengan ikhlas sehingga tesis ini dapat penulis selasaiakan dengan baik.

Rasa hormat dan terima kasih penulis sampaikan kepada Rektor Universitas Hasanuddin Prof. Dr. Jamaluddin Jompa, M.Sc, Direktur Sekolah Pasca Sarjana Prof. Dr. Budu, Ph.D., Sp.M (K)., M.MedEd, Ketua Program Studi S2 Ilmu Biomedik dr.Rahmawati M., Ph.D.,Sp.PD,K-HOM yang telah memberikan bimbingan dan ilmunya dengan ikhlas sehingga tesis ini dapat penulis selasaiakan dengan baik.

Rasa terima kasih khususnya penulis sampaikan kepada suami, adik dan semua keluarga yang telah banyak memberikan

dukungan dan menjadi penyemangat selama penulis menempuh pendidikan. Selain itu, terima kasih pula kepada Kak Dhian Karina, Kak Ian Astari Mas'ud selaku teman seangkatan penulis di program studi mikrobiologi yang telah membantu dan mendorong penulis untuk terus berusaha dalam menyelesaikan tesis ini demi mewujudkan cita-cita untuk memperoleh gelar M.Biomed.

Akhirnya kepada semua pihak yang telah membantu yang tidak sempat penulis tuliskan satu persatu, penulis sampaikan rasa terima kasih. Semoga Allah Subhanahu wa ta'ala selalu melimpahkan Rahmat dan Karunia-Nya kepada semua pihak yang telah membantu penyelesaian tesis ini.

Makassar, Desember 2023

Nurul Rezky

ABSTRAK

NURUL REZKY. **Deteksi Gen TEM, SHV DAN CTX-M Pada *Escherichia coli* Penghasil *Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL) Penyebab Infeksi Saluran Kemih (ISK)** (dibimbing oleh Rizalinda Sjahril dan Ilhamjaya Patellongi).

Deteksi *Escherichia coli* yang resisten terhadap antibiotik beta-laktam sebagai penyebab Infeksi Saluran Kemih (ISK) pada Ibu hamil penting dilakukan agar pasien mendapatkan penanganan dengan benar. Gen *Temonera* (TEM), *Sulphydryl-variabel* (SHV), dan *Cefotaxime-muchkin* (CTX-M) pada *E. coli* merupakan penyandi ESBL penting di deteksi secara molekuler pada pasien ISK untuk mengidentifikasi berapa banyak *E. coli* yang potensial resisten terhadap antibiotik golongan beta-laktam. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi gen TEM, SHV dan CTX-M pada isolat *Escherichia coli* menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Isolat *E.coli* diperoleh dari kultur urin porsi tengah yang diperoleh dari ibu hamil yang mempunyai keluhan ISK di beberapa Puskesmas Kota Makassar. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 37 isolat *E. coli* didapatkan 12 isolat *E. coli* (32%) membawa satu atau lebih gen ESBL, yaitu 8 isolat (22%) membawa gen SHV, 2 isolat (5%) membawa gen SHV+TEM, dan 2 isolat (5%) membawa gen SHV+CTX-M. Penelitian ini menunjukkan bahwa prevalensi *E. coli* yang membawa gen TEM, SHV, dan CTX-M yang bersumber di Puskesmas cukup rendah.

Kata Kunci : ESBL, *Escherichia coli*, TEM, SHV, CTX-M

ABSTRACT

NURUL REZKY. **Detection of TEM, SHV AND CTX-M genes in *Escherichia coli* producing Extended Spectrum Beta Lactamase (ESBL) causing urinary tract infection (UTI)** (supervised by Rizalinda Sjahril and Ilhamjaya Patellongi).

The detection of *Escherichia coli* resistant to beta-lactam antibiotics as a cause of urinary tract infections (UTIs) in pregnant women is important to ensure that patients receive proper treatment. Molecular detection of the Teimonera (TEM), sulfhydryl-variable (SHV), and cefotaxime-muchkin (CTX-M) genes in *E. coli* is necessary to identify the number of potentially beta-lactam antibiotic-resistant *E. coli* in UTI patients, as these genes encode ESBLs. This study aimed to identify the TEM, SHV, and CTX-M genes in *E. coli* isolates using the Polymerase Chain Reaction (PCR) method. *E. coli* isolates were obtained from midstream urine cultures from pregnant women with UTI at several Public Health Center in Makassar City. The study indicated that out of 37 *E. coli* isolates, 12 isolates (32%) carried one or more ESBL genes, with 8 isolates (22%) carrying the SHV gene, 2 isolates (5%) carrying the SHV and TEM genes, and 2 isolates (5%) carrying the SHV and CTX-M genes. The study concluded that the prevalence of *E. coli* carrying the TEM, SHV, and CTX-M genes sourced from Public Health Center in Makassar is relatively low.

Keywords: ESBL, *Escherichia coli*, TEM, SHV, CTX-M

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL DEPAN	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PENGESAHAN TESIS	iv
PERNYATAAN KEASLIAN	v
PRAKATA	vi
ABSTARK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
BAB 1	1
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian	7
1.3.1 Tujuan Umum	7
1.3.2 Tujuan Khusus	7
1.4 Manfaat Penelitian	7
BAB II	8
TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Infeksi Saluran Kemih (ISK)	8
2.1.1 Definisi Infeksi Saluran Kemih	8
2.1.2 Epidemiologi kasus Infeksi Saluran Kemih	8
2.1.3 Etiologi Infeksi Saluran Kemih	9
2.1.4 Klasifikasi Infeksi Saluran Kemih (ISK)	9
2.1.5 Faktor Resiko Infeksi Saluran Kemih	10
2.1.6 Patogenesis Infeksi Saluran Kemih	11
2.2 <i>Escherichia Coli</i>	12
2.3 Extended Spectrum Beta Lactamase (ESBL)	14
2.3.1 Defenisi ESBL	14
2.3.2 Epidemiologi ESBL	15
2.3.3 Gen TEM (<i>Temoniera</i>)	16
2.3.4 SHV (Sulphydryl Variable)	17
2.3.5 Gen CTX-M (<i>Cefatoxime-Munchkin</i>)	17

2.5	Polymerase Chain Reaction (PCR)	18
2.6	Kerangka Teori	21
2.7	Kerangka Konsep	22
2.8	Hipotesis	22
BAB III		24
METODOLOGI PENELITIAN		24
3.1	Rancangan Penelitian	24
3.2	Tempat dan Waktu Penelitian	24
3.2.1	Tempat Penelitian	24
3.2.2	Waktu Penelitian	24
3.3	Populasi dan Sampel Penelitian	24
3.3.1	Populasi Penelitian	24
3.3.2	Sampel Penelitian	25
3.3.3	Perkiraan Besar Sampel	25
3.4	Kriteria Inklusi dan Eksklusi	26
3.4.1	Kriteria Inklusi	26
3.4.2	Kriteria Eksklusi	26
3.5	Izin Penelitian	26
3.6	Cara Kerja	26
3.6.1	Alokasi Subjek	26
3.6.2	Cara Penelitian	26
3.6.3	Tes Laboratorium	27
3.7	Bagan Alur Penelitian	34
3.8	Analisis Data	34
BAB IV		46
HASIL		46
4.1	Hasil Penelitian	46
4.1.1	Distribusi Data Pasien Berdasarkan Usia	24
4.1.2	Distribusi Data Pasien Berdasarkan Usia Kehamilan	24
4.1.3	Distribusi Data Pasien Berdasarkan Riwayat Kehamilan	24
4.2	Deteksi Gen Penyandi ESBLs dari isolat <i>E. coli</i> dengan Metode PCR	24
4.3	Karakteristik Variabel Penelitian	24
4.4	Hasil Elektroforesis produk PCR gen TEM, SHV, dan CTX-M isolat klinis <i>E.coli</i> penghasil ESBL	24
BAB V		53
PEMBAHASAN		53
DAFTAR PUSTAKA		49
LAMPIRAN-LAMPIRAN		61

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Interpretasi test skrining dengan metode disk diffusion	23
Tabel 2. Urutan Nukleotida pada Obligonukleotida yang digunakan untuk amplifikasi PCR	38
Tabel 3. Distribusi Data Pasien Berdasarkan Usia Kehamilan.....	39
Tabel 4. Distribusi Data Pasien Berdasarkan Riwayat kehamilan	39
Tabel 5. Distribusi Gen Penyandi ESBL yang Diekstraksi dari Spesimen Urin	46
Tabel 6. Karakteristik Genetik <i>E.coli Penghasil</i> ESBL.....	47

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Patogenesis ISK.....	13
Gambar 2. Penampakan Mikroskopis <i>Escherichia coli</i> hasil pewarnaan gram dan koloni pada agar <i>MacConkey</i>	14
Gambar 3. Tingkat ESBL di Masyarakat	
Gambar 4. Representasi reservoir pencernaan atau lingkungan utama dari ESBL dimanakomunitas manusia seduia berada dna juga terpapar	25
Gambar 5. Prinsi Kerja <i>Polymerase Chain Reaction</i>	29
Gambar 6. Kerangka Teori.....	30
Gambar 7. Kerangka Konsep.....	31
Gambar 8. Bagan Alur Penelitian	43
Gambar 9. Persebaran Gen Penghasil ESBL yang diekstraksi dari isolat <i>E. coli</i>	46
Gambar 10. Persebaran Gen Penghasil ESBL yang diekstraksi dari Isolat <i>E.coli</i>	47
Gambar 11. Hasil Elektroforesis Produk PCR untuk gen TEM, SHV, dan CTX-M	50

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Infeksi saluran kemih (ISK) adalah salah satu infeksi bakteri yang paling umum di seluruh dunia, baik pada populasi umum maupun di fasilitas kesehatan. Meskipun ISK klinis memiliki spektrum yang heterogen, mulai dari yang tidak rumit (ISK ringan) hingga yang rumit (ISK berat), sebagian besar ISK sering diobati secara empiris. Bakteri adalah penyebab utama infeksi ini. Mikroorganisme lain termasuk bakteri dan beberapa virus dilaporkan bersifat agresif terhadap ISK. Penyebab paling umum dari ISK dan ISK adalah Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC), yang diproduksi oleh mikroorganisme patogen lainnya seperti *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Enterococcus faecalis*, dan *Staphylococcus Sp.* Selain itu, prevalensi ISK yang resistan terhadap berbagai jenis obat (MDR-UTI) meningkat, yang berdampak besar pada penyebaran resistensi antibiotik dan biaya finansial dari infeksi ini (Mancuso et al. 2023).

Infeksi saluran kemih adalah salah satu penyakit menular yang paling umum di dunia, mempengaruhi 150 juta orang setiap tahun dengan morbiditas tahunan yang signifikan dan biaya pengobatan yang tinggi (misalnya, diperkirakan biaya pengobatan ISK di Amerika Serikat lebih dari \$5 miliar per tahun). ISK dapat terjadi pada uretra (Uretritis), kandung kemih (Sistitis), atau ginjal (Pielonefritis) (McCann et al. 2020). Infeksi

saluran kemih merupakan salah satu penyakit yang paling sering diderita oleh pasien yang berobat ke fasilitas kesehatan, menurut data yang dikeluarkan oleh Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) pada tahun 2011. Telah didokumentasikan bahwa di antara penyakit yang sering diderita oleh pasien di fasilitas kesehatan, infeksi saluran kemih menduduki peringkat kedua di negara berkembang (23,9%), setelah infeksi luka bedah (29,1%) (Drieux et al. 2008).

Setidaknya 25% wanita dewasa mengalami infeksi saluran kemih (ISK) berulang pada tahun setelah episode pertama mereka, yang mencakup lebih dari separuh populasi. Kehamilan merupakan salah satu faktor risiko ISK, yang mempengaruhi wanita empat kali lebih sering daripada pria. Adanya bakteri dalam air kemih selama kehamilan disebabkan oleh perubahan anatomis dan fungsional pada saluran kemih (bakteriuria). Komplikasi pada ibu dan anak lebih mungkin terjadi akibat perubahan ini. Kelahiran prematur, berat badan lahir rendah, pre-eklampsia, dan risiko komplikasi 20-30% lebih tinggi, termasuk pielonefritis, semuanya terkait dengan bakteriuria selama kehamilan. (Abou Heidar et al. 2019). Kant et al. 2017 33,3% wanita hamil di India dilaporkan mengalami gejala ISK, dan 3,3% dari kasus-kasus tersebut telah diverifikasi. Menurut Ramirez dkk. (2019), 29% wanita hamil di Kolumbia mengalami infeksi saluran kemih antara tahun 2013 dan 2015. Dari kasus-kasus ini, 36% mengalami pielonefritis dan 54% mengalami sistitis.

Since its discovery more than 50 years ago, antibiotic resistance has grown to be the largest issue facing hospitals and the general public this century (Levy 1998). Resistensi antibiotik adalah salah satu dari tiga risiko teratas bagi kesehatan dunia. Bakteri gram negatif merupakan salah satu sumber resistensi yang telah berkembang secara signifikan, dan hal ini berdampak pada meningkatnya angka kesakitan, kematian, dan biaya sistem kesehatan (Heddini et al. 2009; Yezli and Li 2020). Resistensi bakteri gram negatif terhadap antibiotik, terutama jenis antibiotik yang paling signifikan dan sering digunakan, yaitu sefalosporin generasi ketiga dan keempat (Hawkey and Jones 2009). Pengobatan infeksi yang disebabkan oleh bakteri ini sangat menantang karena resistensi mereka, yang sering diidentifikasi sebagai Bakteri Resistensi Multi Obat (MDRB). *Extended-Spectrum β -Lactamase* (ESBL) adalah salah satu jenis MDRB (Doumith et al. 2012).

Penemuan enzim *β -laktamase* berasal dari isolat klinis di Jerman pada tahun 1983, dan wabah infeksi nosokomial terjadi pada awal tahun 1990 (Rice et al. 1990). Karena meningkatnya jumlah kasus yang muncul di abad ke-21, ESBL yang didapat dari komunitas telah menarik perhatian dan mengurangi ketersediaan antibiotik. Prevalensi pembawa ESBL di masyarakat secara konsisten berada di bawah 10% hingga tahun 2008, meskipun sekarang sudah mulai meningkat (Sasaki et al. 2010). Karena meningkatnya jumlah kasus yang muncul di abad ke-21, ESBL yang didapat dari komunitas telah menarik perhatian dan mengurangi

ketersediaan antibiotik. Prevalensi pembawa ESBL di masyarakat secara konsisten berada di bawah 10% hingga tahun 2008, meskipun sekarang sudah mulai meningkat (J. Rodríguez-Baño et al. 2008).

Gen-gen seperti blaTEM, bla SHV, dan blaCTX-M mengkode *Enterobacteriaceae* yang memproduksi ESBL (Hawkey and Jones 2009) . Resistensi antibiotik yang berbeda diberikan oleh turunan dari tiga keluarga gen ini, terutama jenis *Temonera* (TEM) dan *Sulphydryl-Variable* (SHV), beberapa di antaranya bukan ESBL. Gen-gen ini dapat ditemukan pada bakteri dengan berbagai metode, termasuk ekstraksi langsung dari spesimen dan ekstraksi dari koloni bakteri yang dibiakkan pada media pengayaan (Bradford 2001).

Karena hanya ada sedikit pengobatan yang efektif untuk *Enterobacteriaceae* yang menghasilkan lipotoksin bakteri berspektrum luas, dokter harus memperhatikan penyebaran infeksi nosokomial dan infeksi komunitas yang disebabkan oleh bakteri ini. (Jesús Rodríguez-Baño et al. 2008). Untuk pengobatan resistensi antibiotik, Pusat Pengendalian dan Pencegahan Penyakit mengembangkan strategi empat cabang: mengidentifikasi dan memetakan pola resistensi antibiotik, meresepkan lebih banyak antibiotik secara tepat dan sering, mencegah infeksi dan penyebaran bakteri resisten, dan mengembangkan antibiotik baru serta alat diagnostik untuk bakteri resisten (Pitout, Sanders, and Sanders 1997).

Enterobacteriaceae penghasil ESBL menjadi lebih umum di sejumlah benua, meskipun jumlah pastinya belum diketahui. Sebagai contoh, sebuah survei yang dilakukan di Amerika Latin mengungkapkan bahwa 10,8% *K. pneumoniae* dan 45% *Escherichia coli* dalam 10.000 sampel urin yang diambil dari 10 lokasi positif ESBL. Benua Asia juga mengalami peningkatan kejadiannya. Menurut data yang diterbitkan pada tahun 2007 oleh Study of Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART), proporsi *K. pneumoniae* dan *E. Coli* yang positif ESBL adalah 35,8% dan 42,2%. Karena kurangnya penelitian yang terpusat, prevalensi ESBL di Indonesia sendiri masih belum jelas. Sebuah survei dilakukan pada tahun 2011 di Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo Jakarta. Temuan menunjukkan bahwa 58,42% dari 112 isolat yang dikumpulkan dinyatakan positif ESBL. Penelitian dari bulan Juni 2011 hingga Juli 2012 di RSUP. H. Adam Malik Medan mencakup 91 sampel isolat *E. coli*, 53 di antaranya dinyatakan positif ESBL. Penelitian ini dilakukan tidak hanya di Jakarta (Livermore, 1995).

Enzim yang paling sering ditemukan adalah enzim yang terhubung ke ESBL kelas A, seperti *temoneira* (TEM). Lebih dari 90% *E. Coli* yang resisten terhadap ampisilin diperkirakan terhubung ke TEM-1. Pada tahun 2008, Goyal et al. melakukan penelitian di Sanjay Gandhi Postgraduate Institute of Medical Sciences di India. Dari 82 sampel ESBL *E. coli* yang diuji, 45/82 (atau 54,9%) adalah ESBL tipe TEM. Sebutan CTX-M mengacu pada sifat hidrofilik dari enzim ini terhadap sepalosporin,

khususnya sefotaksim. Berdasarkan penelitian yang dilakukan antara tahun 2005 dan 2012, jenis gen CTX-M telah muncul sebagai faktor utama yang bertanggung jawab atas resistensi terbesar. Sembilan puluh persen isolat *E. coli* dari sampel urin yang dikumpulkan di RSUD Dr. Soetomo Surabaya di Indonesia juga memiliki gen CTX-M (Bradford 2001).

Berdasarkan permasalahan diatas peneliti memandang perlu untuk melakukan penelitian terkait ESBL. Selain itu belum adanya data penelitian untuk mendeteksi gen TEM, SHV dan CT-XM pada ESBL yang diproduksi oleh *E. coli* dari sampel urin wanita hamil, 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 TEM, SHV DAN CTX-M PADA *ESCHERICHIA COLI* PENGHASIL *EXTENDED SPECTRUM BETA LACTAMASE (ESBL)* PENYEBAB INFEKSI SALURAN KEMIH”**.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang masalah di atas maka peneliti memunculkan rumusan masalah yaitu apakah terdapat gen TEM, SHV dan CTX-M pada pada isolat *Escherichia coli* penghasil *Extended Spectrum β -Lactamase* penyebab infeksi saluran kemih di Puskesmas Kota Makassar ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Adapun tujuan umum pada penelitian yaitu untuk mendeteksi adanya gen TEM, SHV dan CTX-M pada pada isolat *Escherichia coli* penghasil *Extended Spectrum β -Lactamase* penyebab infeksi saluran kemih di Kota Makassar.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk mengetahui keberadaan gen TEM, SHV, dan CTX-M dari isolat *Escherichia coli* penghasil ESBL penyebab infeksi saluran kemih di Kota Makassar.
2. Untuk mengetahui karakteristik gen TEM, SHV, dan CTX-M, pada *Escherichia coli* penghasil ESBL terhadap sensitivitas antibiotik penyebab infeksi saluran kemih di Kota Makassar.

1.4 Manfaat Penelitian

Setelah penelitian ini dilakukan maka diharapkan membawa manfaat, diantaranya :

1. Gambaran prevalensi karier gen penyandi ESBLs di Kota Makassar
2. Untuk memperoleh prosedur yang lebih baik dalam mengidentifikasi pembawa gen ESBL.
3. Memperoleh informasi, khususnya untuk Kota Makassar, yang dapat menjadi dasar bagi kebijakan yang mengatur penggunaan dan distribusi antibiotik.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Infeksi Saluran Kemih (ISK)

2.1.1 Definisi Infeksi Saluran Kemih

Ketika bakteri masuk ke dalam saluran kemih, maka akan menyebabkan infeksi saluran kemih. Hal ini sering terjadi ketika pertahanan tubuh inang melemah, terutama pada ibu hamil. Infeksi ini diidentifikasi dengan konsentrasi bakteri yang tinggi dalam urin (nilai signifikansi kultur urin positif $\geq 10^5$ *colony forming unit* (cfu)/ml urin (Mancuso et al. 2023).

2.1.2 Epidemiologi kasus Infeksi Saluran Kemih

Pada tahun 2015, 68 juta wanita hamil di seluruh dunia dilaporkan pernah mengalami infeksi saluran kemih, menurut Organisasi Kesehatan Dunia (WHO). Selain itu, 1,2 juta pasien infeksi saluran kemih pada ibu hamil di Indonesia dilaporkan mengalami infeksi saluran kemih berdasarkan survei yang dilakukan pada tahun 2013 oleh Kementerian Kesehatan. Kemudian, menurut penelitian yang dilakukan pada tahun 2017 di Jogjakarta dan Surabaya oleh Fakhrizal, prevalensi pasien ISK pada ibu hamil adalah 36,5% dan 32,4%. Ini merupakan peningkatan yang signifikan dari angka 20-30% yang ditemukan pada tahun 2014 di Surabaya dan Jogjakarta oleh Wagenhaeler. Penyakit yang berhubungan dengan kehamilan seperti diabetes melitus, yang memiliki tingkat prevalensi 8-14%, berdampak pada peningkatan ini. Infeksi saluran

kemih pada wanita hamil juga dapat disebabkan oleh perilaku seksual, multiparitas, dan alasan lainnya; dua alasan terakhir memiliki prevalensi (5-7%) (Fakhrizal, 2015).

2.1.3 Etiologi Infeksi Saluran Kemih

Sebuah penelitian terhadap tujuh persen wanita hamil menunjukkan bahwa urin mereka memiliki jumlah positif bakteri *colony forming unit* (CFU) yang lebih besar dari 100.000 CFU/ml. *Gold Standar* untuk mendiagnosis infeksi saluran kemih pada wanita hamil adalah dengan mendeteksi bakteriuria substansial, yang merupakan diagnosis konklusif meskipun tanpa adanya gejala klinis.

Faktor dalam pengobatan ISK yang efektif adalah memahami pola bakteri yang menyebabkan ISK. Memilih antimikroba untuk terapi ISK merupakan hal yang menantang karena berbagai macam organisme yang dapat menyebabkan ISK, keragaman etiologi ISK, dan kurangnya uji klinis yang telah dilakukan. Namun, karena spesies *Escherchia coli* adalah etiologi yang paling umum yang disebabkan oleh kuman ini, penelitian ini akan berkonsentrasi pada bakteri gram negatif.

2.1.4 Klasifikasi Infeksi Saluran Kemih (ISK)

Secara umum, ISK diberi nama berdasarkan tempat infeksi: Uretritis adalah peradangan pada uretra, ureteritis mengacu pada peradangan pada ureter, sedangkan sistitis dan pielonefritis masing-masing melibatkan kandung kemih dan ginjal (Huang et al. 2022). ISK selanjutnya diklasifikasikan berdasarkan adanya kondisi predisposisi

infeksi atau sifat kejadiannya (Huang et al. 2022; Li et al. 2022). Dalam kebanyakan kasus, uUTI disebabkan oleh uropatogen yang disebabkan di usus dan kemudian terkontaminasi pada uretra lalu berpindah tempat dan berkoloni di kandung kemih. Sedangkan cUTI terjadi karena adanya faktor predisposisi, seperti kelainan fungsional atau structural pada saluran kemih (Gomila et al. 2018). Selain itu ISK juga terjadi karena tingkat kegataugagalan pengobatan yang jauh lebih tinggi dan keterlibatan jaringan sistemik atau invasif (Klein and Hultgren 2020). Tiga atau lebih ISK tanpa komplikasi dalam waktu 6 bulan atau 12 bulan merupakan ISK berulang. Biasanya kekambuhan infeksi ini disebabkan oleh mikroorganisme yang sama yang bertanggungjawab atas infeksi sebelumnya (Nicolle et al. 2005).

2.1.5 Faktor Resiko Infeksi Saluran Kemih

Resiko ISK dipengaruhi oleh berbagai faktor intrinsik seperti retensi urin, refluks vesikoreteral, seringnya melakukan hubungan seksual, pembesaran kelenjar prostat, atrofi vulvovaginal, dan riwayat keluarga. Penggunaan spermisida juga dapat meningkatkan resiko ISK pada wanita. Kultur urin dengan $\geq 10^5$ CFU/ml. Tanpa gejala ISK tertentu didefenisikan sebagai bakteriuria asimtomatik, karena biasanya secara spontan dan tidak memerlukan pengobatan (Wiles, Kulesus, and Mulvey 2008). ISK tanpa gejala harus diobati hanya pada kasus-kasus tertentu, seperti Ibu hamil, pasien neutropenia, dan mereka yang menjalani operasi genitourinary, seperti pengobatan antibiotik dapat

berkontribusi pada perkembangan resistensi bakteri. Sebaliknya, ISK yang bergejala biasanya diobati dengan antibiotik yang dapat mengubah usus mikrobiota dan vagina, meningkatkan faktor resiko penyebaran resistensi antibiotik terhadap mikroorganisme (Mancuso et al. 2023).

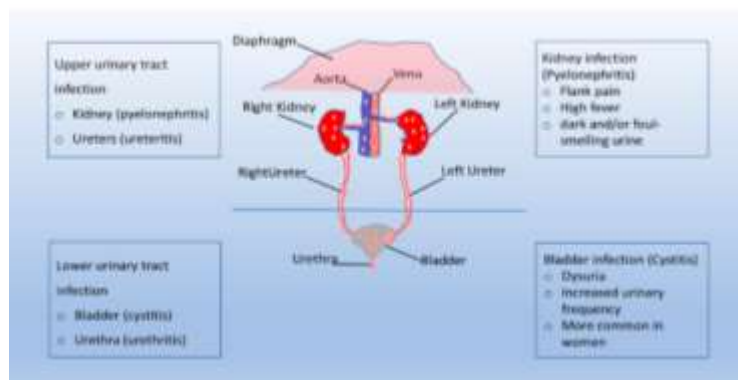
Diabetes melitus, keadaan sosial ekonomi, faktor lingkungan, dan pilihan gaya hidup seksual merupakan faktor risiko infeksi saluran kemih pada ibu hamil. Riwayat pemasangan alat medis, seperti kateterisasi sebelumnya, dan edukasi yang tidak memadai mengenai tindakan pencegahan merupakan faktor risiko tambahan yang berkontribusi terhadap kejadian infeksi saluran kemih pada ibu hamil (Fakhrizal, 2017).

2.1.6 Patogenesis Infeksi Saluran Kemih

Melalui aktivitas perlekatan tertentu, uropatogen yang tinggal di usus menjajah uretra dan kemudian kandung kemih, menyebabkan infeksi saluran kemih (ISK). Jika respon inflamasi dari inang gagal menghilangkan semua bakteri, bakteri akan mulai berkembangbiak, menghasilkan racun dan enzim yang meningkatkan kelangsungan hidup bakteri tersebut. Kolonisasi selanjutnya pada ginjal dapat berkembang menjadi bakterimia jika pathogen melintasi penghalang epitel ginjal. Pada ISK dengan komplikasi, infeksi oleh uropatogen diikuti dengan gangguan kandung kemih, yang terjadi kateterisasi. Situasi yang sangat umum adalah akumulasi fibrinogen pada kateter sebagai akibat dari respon imun yang kuat berikatan dengan kateter. Bakteri yang juga berkembangbiak akibat perlindungan biofilm, dan jika infeksi tidak

diobati, infeksi dapat berkembang menjadi pielenofritis dan bacteremia. Di seluruh dunia, infeksi saluran kemih (ISK) adalah infeksi bakteri yang paling banyak diderita oleh manusia di rumah sakit (McLellan and Hunstad 2016; Saint et al. 2008).

Penyebaran ISK terkait erat dengan efektivitas sejumlah strategi yang dikembangkan oleh uropatogen untuk menempel dan menyerang jaringan inang (Lewis et al. 2017; Wiles et al. 2008). Seringkali, infeksi tidak tampak terlalu parah, terutama pada tahap awal, namun dapat memburuk secara signifikan jika ada fktro penyulit (Soiza, Donaldson, and Myint 2018; Zagaglia et al. 2022). Faktor penyulit yang terlibat dalam ISK adalah biofilm, stasis urin karena obstruksi, dan keteter. ISK terdiri dari sekelompok kelainan klinis heterogen yang bervariasi dalam hal etiologi dan tingkat keparahan kondisi.



Gambar 1. Patogenesis ISK.

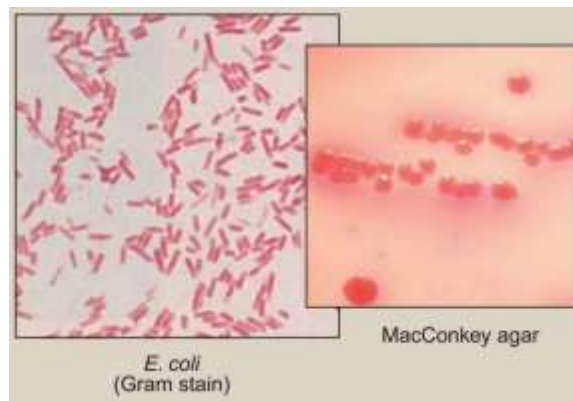
2.2 *Escherichia Coli*

Baik manusia maupun hewan lainnya memiliki *Escherichia coli* dalam flora kolon alami mereka. Di sisi lain, strain tertentu mungkin bersifat oportunistik dan dapat memiliki sifat berbahaya baik di dalam

maupun di luar saluran pencernaan (J. Rodríguez-Baño et al. 2008). Selain itu, air yang terkontaminasi dan air limbah sering kali mengandung *E. coli*. Satu-satunya spesies dari genus *Escherichia coli* yang menunjukkan gejala yang relevan secara klinis adalah *E. coli*, yang juga merupakan penyebab paling umum dari infeksi saluran kemih (ISK) dan dapat menyebabkan diare, gastroenteritis, septikemia, dan meningitis pada bayi baru lahir. Pulau-pulau patogenesis, pseudophaages terintegrasi, dan akuisisi plasmid berkorelasi dengan variasi tingkat virulensi strain *Escherichia coli* yang berbeda. *Escherichia coli* memiliki pili, atau fimbriae, yang diperlukan untuk menempel pada permukaan mukosa host (Mancuso et al. 2023).

Banyak ciri-ciri yang dimiliki *Escherichia coli* yang sama dengan *Enterobacteriaceae* lainnya yang diidentifikasi dengan mengamati morfologi, fisiologi, biokimia, dan pewarnaan gram. Morfologinya berupa basil gram negatif yang kecil di bawah mikroskop. Respirasi aerobik dan anaerobik (menggunakan fumarat, nitrat, atau nitrit sebagai akseptor elektron terminal) dapat digunakan oleh mereka untuk menghasilkan energi dan merupakan anaerob fakultatif yang memfermentasi glukosa. Mereka semua bersifat oksidase negatif karena tidak memiliki sitokrom c oksidase. Strain yang berbeda dapat bergerak atau tidak bergerak. *Shigella* dan *Salmonella*, dua penyakit usus yang umum, tidak dapat memfermentasi laktosa (yaitu *Lac-*), sementara sebagian besar organisme dapat (yaitu *Lac+*). Gas dan asam dihasilkan oleh *Escherichia coli* selama

fermentasi karbohidrat. Genus ini dibedakan dari genera enterik lainnya dengan temuan positif dari uji *methyl red* dan indol serta reaksi negatif dari uji *Voges-Proskauer* dan sitrat. Pada media *mac conkey* agar, koloni tampak datar dan berwarna merah muda kemerahan; pada media agar eosin biru metilen, koloni tampak mengkilap dan seperti logam; pada media agar hecctoen agar, koloni tampak berwarna oranye-kuning; Koloni tidak dapat berkembang pada media *Bismuth Sulfite* dan *Brilliant Green* Agar (Cornelissen *et al.*, 2013).



Gambar 2. Penampakan mikroskopis *Escherichia coli*

2.3 Extended Spectrum Beta Lactamase (ESBL)

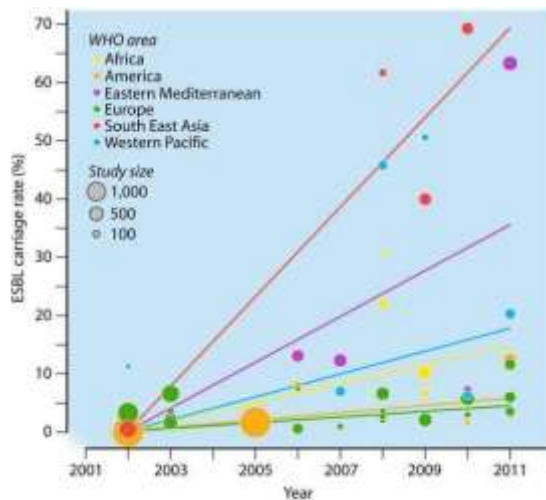
2.3.1 Defenisi ESBL

Bakteri yang menghasilkan enzim beta-laktamase yang lebih luas daripada bakteri biasa dikenal sebagai extended β -laktamase, atau ESBL. Karena enzim ini, bakteri ini mampu memetabolisme berbagai macam antibiotik, menjadikannya sumber penyakit yang sulit disembuhkan. Rumah sakit dan tempat perawatan kesehatan lainnya adalah tempat yang umum untuk infeksi bakteri yang

menghasilkan ESBL. Kontak langsung, benda-benda yang terkontaminasi, atau tetesan air liur dari individu yang terinfeksi, semuanya dapat menjadi cara bagi mereka untuk menyebar di antara orang-orang. Jenis bakteri dan organ yang terkena menentukan gejala infeksi bakteri penghasil ESBL. Usus dan saluran kemih adalah tempat yang paling sering terkena penyakit ini. Di antara spesies bakteri yang dapat menyebabkan infeksi penghasil ESBL termasuk *Klebsiella*, yang dapat menyebabkan infeksi nosokomial, dan *E. Coli*, yang dapat menyebabkan infeksi di lingkungan perawatan kesehatan (Paterson et al. 2001; Shakil et al. 2012).

2.3.2 Epidemiologi ESBL

Sebelum tahun 2008, tingkat karier komunitas Enterobacteria (ESBL) yang memproduksi Extended-Spectrum Beta-lactamase hampir selalu di bawah 10% di semua wilayah, namun belakangan ini mulai meningkat (Gambar 2). Pada tahun 2008, tingkat karier Thailand meningkat lebih dari 60% untuk pertama kalinya (Sasaki et al. 2010).



Gambar 3. Persebaran ESBL di seluruh komunitas, tergantung pada distribusi temporal dan geografis (Woerther et al. 2013).

2.3.3 Gen TEM (*Temoniera*)

Pada tahun 1965, TEM-1 berasal dari isolat *E. Coli* yang diidentifikasi sebagai milik pasien wanita bernama "*Temoniera*" di Athena, Yunani. Enzim β -laktamase yang dikodekan TEM diklasifikasikan menurut variasi kombinasi asam amino. Resistensi terhadap ampisilin, penisilin, dan sefalosporin generasi pertama seperti sefalotin dan sefaloridin diberikan oleh TEM-1 β -laktamase (*bla*TEM). Enzim ini berkontribusi terhadap resistensi penisilin pada *H. influenza* dan *Neisseria gonorrhoea* dan menyumbang 90% resistensi ampisilin pada *E. coli*. Selain *E. Coli* dan *K. pneumoniae*, beberapa bakteri gram negatif antara lain *Enterobacter aerogenes*, *Morganella morgagnii*, *Proteus mirabilis*, dan *Salmonelle sp.* diketahui menyimpan *bla*TEM (Matthew, 1929).

2.3.4 SHV (Sulphydryl Variable)

Pada tahun 1972, enzim *K. pneumoniae* ditemukan mengandung tipe laktamase SHV-1 (*blaSHV-1*), yang mengkode resistensi kromosom terhadap penisilin dan sefalosporin generasi pertama. Varian SHV dengan perubahan struktur posisi gen muncul dari perubahan *blaSHV-1*. Peralihan asam amino pada posisi 238 dari serin ke glisin menjadi ciri sebagian besar varian SHV dengan fenotip ESBL. Pada posisi 240, perubahan lisin menjadi *glutamat* terlihat pada beberapa variasi SHV-5. *Ceftazidime* dihidrolisis secara efektif oleh residu serin pada posisi 238, namun sefotaksim dihidrolisis lebih efektif oleh residu lisin. Dari 185 varietas SHV, hanya 25,4% yang merupakan ESBL dan termasuk dalam subkelompok 2be; 20% adalah non-ESBL dan termasuk dalam subkelompok 2b; 3,8% merupakan jenis yang resisten terhadap inhibitor ESBL; dan 94 tidak dapat dikarakterisasi (Sridar Rao 2015).

2.3.5 Gen CTX-M (Cefatoxime-Munchkin)

Pada tahun 1988, ditemukan bahwa ESBL yang dimediasi oleh plasmid non-TEM dan non-SHV menunjukkan tingkat hidrolisis yang tinggi terhadap sefotaksim dan seftriakson, tetapi tidak terhadap ceftazidime. ESBL diisolasi dari tinja yang terkontaminasi *E. coli*. Strain ESBL ini dijuluki FEC-1. Kemungkinan besar gen *blaCTX-M* dimasukkan ke dalam plasmid yang dimodifikasi *E. Coli* dari kromosom bakteri yang termasuk dalam genus *Kluyvera*. Jenis strain

E. Coli yang hampir sama ditemukan pada tahun 1990 di Munich, Jerman, ketika strain tersebut diisolasi dari cairan sekret telinga bayi baru lahir. Enzim ini dikenal sebagai CTX-M karena aktivitas pengikatan sefotaksimnya yang tinggi dan lokasi Munich (Chatterjee SS, 2010). Dibandingkan dengan *ceftazidime*, CTX-M-9 dan CTX-M-14 menunjukkan aktivitas hidrolitik yang lebih besar (>1000 kali) terhadap sefotaksim. Awalnya, CTX-M-15, sebuah CTX-M ESBL, menunjukkan aktivitas hidrolitik yang kuat terhadap *ceftazidime*, menurut laporan dari India. Kecuali CTX-M-15, *ceftazidime*, CTX-M-16, dan CTX-M-27 semuanya memiliki aktivitas yang kira-kira empat kali lebih banyak daripada sefotaksim (Karim, 2001; Bonnet 2003; Chen Y 2005).

2.4 Polymerase Chain Reaction (PCR)

Enzim DNA polimerase membantu dalam replikasi molekul DNA tunggal, yang merupakan dasar untuk proses PCR, menjadi dua, empat, dan lebih banyak salinan. Nukleotida DNA, yang terdiri dari empat basa adenin (A), timin (T), sitosin (C), dan guanin (G), diperpanjang oleh DNA polimerase. Selanjutnya, primer-segmen DNA pendek yang berfungsi untuk menyusun untai DNA baru dan membentuk DNA-diperlukan untuk PCR. DNA polimerase akan melakukan pemanjangan DNA jika ketiga bahan tersebut tersedia (Joshi & Deshpande, 2010).

Ada tiga langkah yang terlibat dalam penggunaan PCR untuk mensintesis dan menduplikasi DNA: (gambar 6):

a. Tahap denaturasi

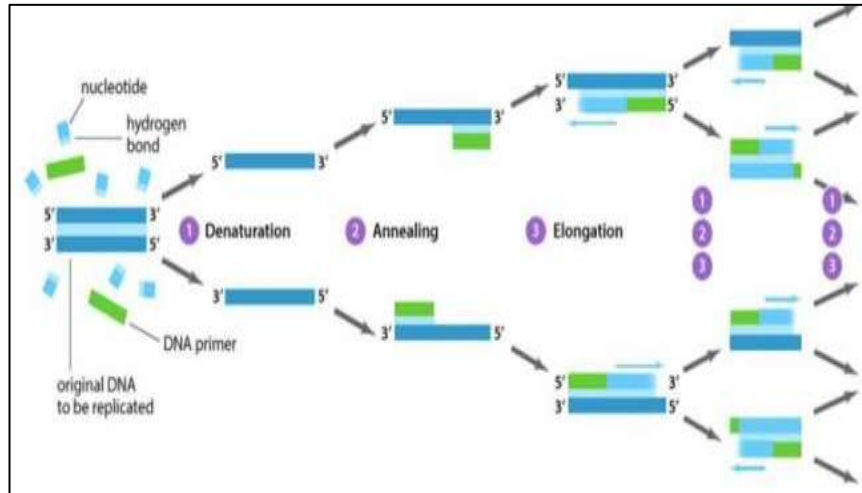
Pada suhu 94°C, untai ganda DNA terpisah menjadi dua untai tunggal karena ikatan hidrogen di antara untai tersebut. Proses ini dikenal sebagai tahap penempelan. DNA menjadi templat sebagai hasil dari pemisahan ini (primer terhubung).

b. Tahap *annealing*

Primer berikatan dengan bagian templat DNA selama langkah pertama sintesis DNA invitro, yang dikenal sebagai tahap anil. Langkah ini diselesaikan pada suhu 40-60°C dan biasanya memakan waktu 1-2 menit. Suhu dan durasi prosedur tergantung pada susunan, durasi, dan konsentrasi primer basa. Untaian tunggal DNA memiliki kecenderungan untuk saling berikatan ketika suhu turun.

c. Tahap Extantion

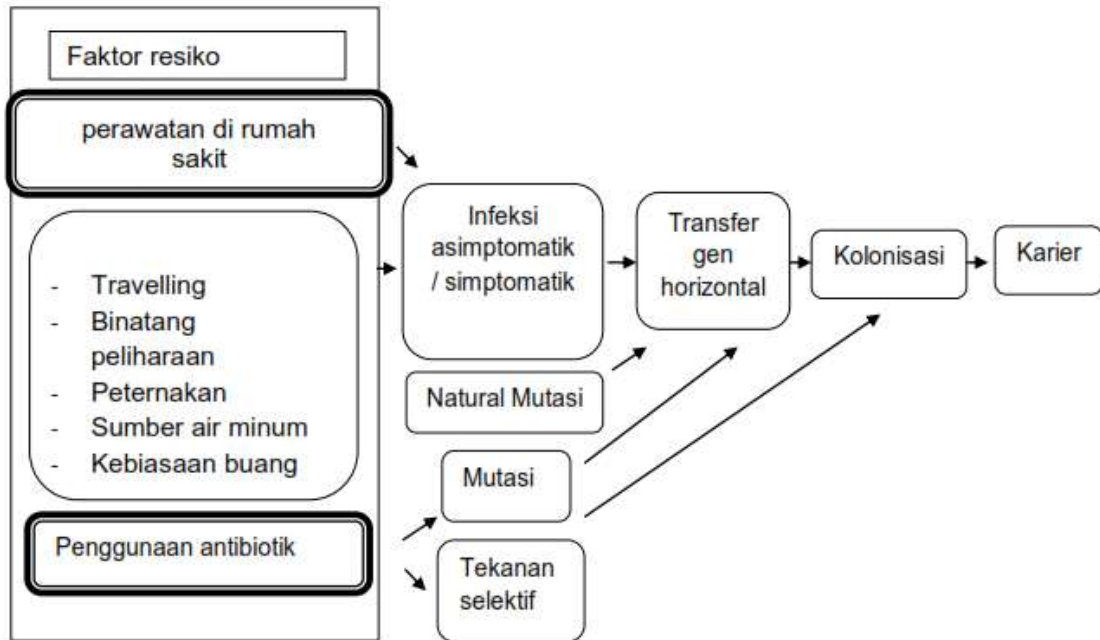
Mekanisme pemanjangan primer oleh DNA polimerase. Pasangan dNTP yang tepat sekarang akan dipasangkan oleh DNA polimerase (A berpasangan dengan T, C dengan G, dan sebaliknya). Rantai baru akan diperpanjang hingga ke ujung oleh enzim ini. Panjang daerah yang akan diamplifikasi menentukan berapa lama waktu yang dibutuhkan untuk perpanjangan. Kisaran suhu yang ideal untuk aktivitas DNA polimerase, yaitu 70-76°C, adalah tempat proses ekstensi berlangsung, dan tergantung pada jenis enzim yang digunakan.



Gambar 5. Prinsip Kerja PCR
(Applied Biological Material Inc, 2012)

Dengan menggunakan PCR untuk genotipe (investigasi molekuler), seseorang dapat memastikan jenis ESBL. Selanjutnya, breakpoint yang tepat dapat dipastikan dengan bantuan deteksi molekuler (Walker L, 2010). Untuk mengatasi kegagalan pengobatan dan mendukung penggunaan antibiotik yang optimal serta manajemen infeksi, genotipe ESBL dapat membantu dalam pemantauan ESBL (Harada Yosuke, 2013).

2.6 Kerangka Teori



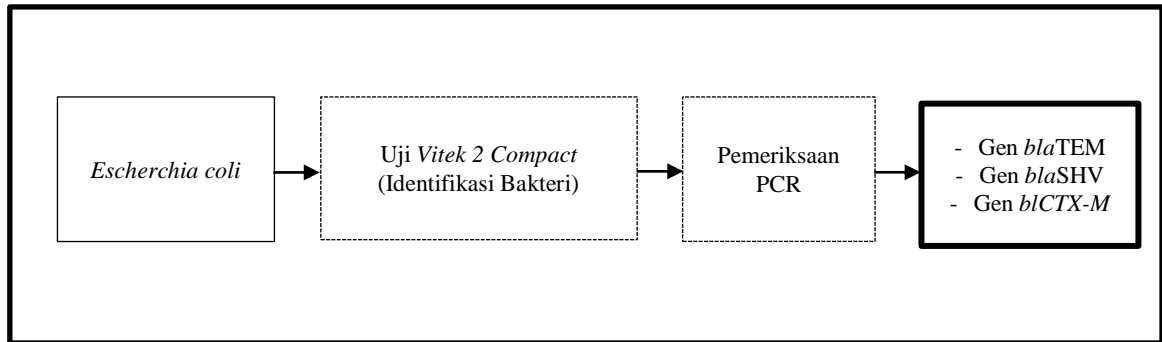
Keterangan:



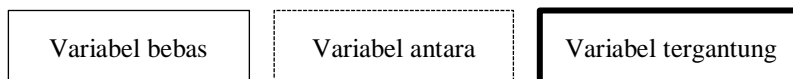
Faktor Pengendali

Gambar 6. Kerangka Teori

2.7 Kerangka Konsep



Keterangan



Gambar 7. Kerangka Konsep

2.8 Hipotesis

Adapun hipotesis pada penelitian ini yaitu:

1. Hipotesis nol (H_0) : Tidak terdapat gen TEM, SHV, dan CTX-M pada isolat klinis *Escherichia coli* penghasil *Extended Spectrum β -Lactamase* (ESBL) yang dideteksi menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR).
2. Hipotesis alternative (H_1) : Terdapat gen TEM, SHV, dan CTX-M pada isolat klinis *Escherichia coli* penghasil *Extended Spectrum β -Lactamase* (ESBL) yang dideteksi menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

2.9 Defenisi Operasional

1. *Escherichia coli* adalah bakteri gram negative yang diidentifikasi menggunakan pewarnaan gram dan uji biokimia, seperti TSI (asam/asam, gas positif, dan sulfur negatif), SIM (sulfur negatif, Indol positif, motilitas negatif), *Methyl red* negatif, *Vogeus Praskeur* negatif, *sitrat* negatif, dan kemampuan memfermentasi laktosa, glukosa, fruktosa, dan manitol.
2. *Teimonera* (TEM) adalah jenis gen yang menghasilkan β -laktamase yang ditemukan menggunakan elektroforesis gel dan memiliki pita target 445 bp.
3. *Sulphydryl-variabel* (SHV) adalah jenis gen yang menghasilkan β -laktamase yang ditemukan menggunakan elektroforesis gel dan memiliki pita target 753 bp.
4. *Cefotaxime-muchkin* (CTX-M) adalah jenis gen yang menghasilkan β -laktamase yang ditemukan menggunakan elektroforesis gel dan memiliki pita target 93 bp.