

**DETEKSI GEN CTX-M PADA *EXTENDED SPECTRUM BETA LACTAMASE*  
(ESBL) *ENTEROBACTERIACEAE* PADA SISWA SEKOLAH DASAR DI  
KOTA MAKASSAR, SULAWESI SELATAN**



**OLEH:**

**Muh. Bayu Setiono**

**C11114025**

**PEMBIMBING:**

**Dr. dr. Dianawaty Amiruddin, Sp.KK**

**DISUSUN SEBAGAI SALAH SATU SYARAT UNTUK MENYELESAIKAN  
STUDI PADA PROGRAM STUDI**

**PENDIDIKAN DOKTER FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2017**

**DEPARTEMEN PARASITOLOGI FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR**

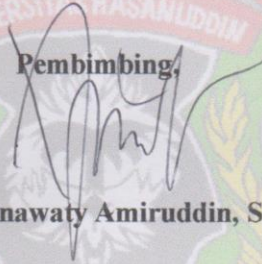
TELAH DISETUJUI UNTUK DICETAK DAN DIPERBANYAK

**Judul Skripsi :**

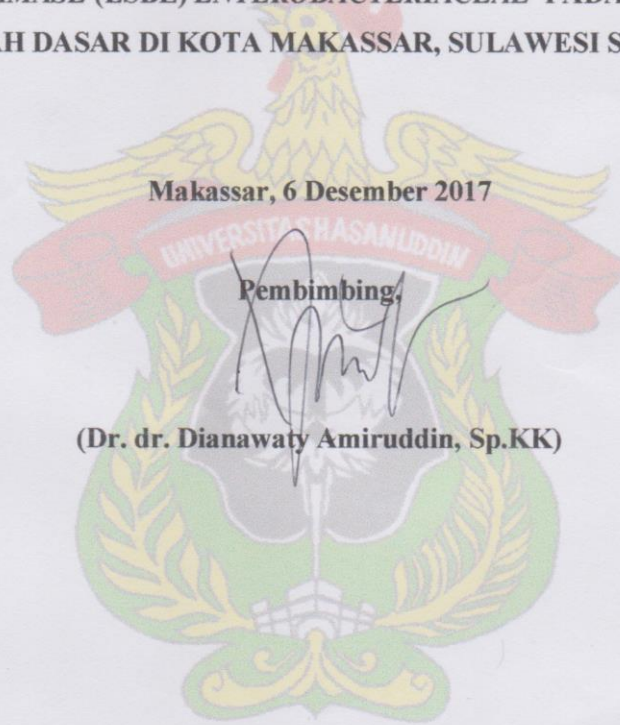
**“DETEKSI GEN CTX-M PADA *EXTENDED SPECTRUM BETA  
LACTAMASE (ESBL) ENTEROBACTERIACEAE* PADA SISWA  
SEKOLAH DASAR DI KOTA MAKASSAR, SULAWESI SELATAN”**

**Makassar, 6 Desember 2017**

**Pembimbing,**



**(Dr. dr. Dianawaty Amiruddin, Sp.KK)**



## HALAMAN PENGESAHAN

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

**“ DETEKSI GEN CTX-M PADA *EXTENDED SPECTRUM BETA LACTAMASE (ESBL) ENTEROBACTERIACEAE* PADA SISWA SEKOLAH DASAR DI KOTA MAKASSAR, SULAWESI SELATAN”**

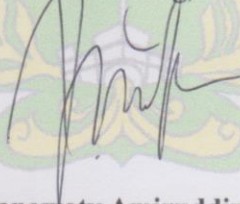
Hari/Tanggal : Rabu/ 6 Desember 2017

Waktu : 13.00 WITA

Tempat : Departemen Mikrobiologi Fakultas  
Kedokteran Universitas Hasanuddin

Makassar, 6 Desember 2017

Pembimbing,



(Dr. dr. Dianawaty Amiruddin, Sp.KK)

## HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :

Nama : Muh. Bayu Setiono

NIM : C11114025

Fakultas/Program Studi : Kedokteran/Pendidikan Dokter

Judul Skripsi : Deteksi Gen CTX-M pada *Extended-Spectrum Beta Lactamase* (ESBL) *Enterobacteriaceae* pada Siswa Sekolah Dasar di Kota Makassar, Sulawesi Selatan

Telah diperiksa, disetujui, dan dipertahankan di hadapan dewan penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar sarjana kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

### DEWAN PENGUJI

Pembimbing : Dr. dr. Dianawaty Amiruddin, Sp.KK (.....)

Penguji : dr. Firdaus Hamid, Ph.D (.....)

dr. Airin Rizkianty Nurdin, Sp.KK, M.Kes (.....)

Ditetapkan di : Makassar

Tanggal : 6 Desember 2017

## **PERNYATAAN ANTI PLAGIATISME**

Dengan ini saya menyatakan bahwa seluruh skripsi ini adalah hasil karya saya. Apabila ada kutipan atau pemakaian dari hasil karya orang lain baik berupa tulisan, data, gambar atau ilustrasi baik yang telah dipublikasikan atau belum dipublikasi, telah direferensi sesuai dengan ketentuan akademis.

Saya menyadari plagiatisme adalah kejahatan akademik dan melakukannya akan menyebabkan sanksi yang berat berupa pembatalan skripsi dan sanksi akademik yang lain.

Muh. Bayu Setiono

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirabbil'alamin, segala puji bagi Allah Subhanahu Wa Ta'ala yang telah melimpahkan rahmat, karunia, dan inayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang merupakan syarat untuk menyelesaikan studi pada jenjang preklinik pendidikan dokter Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin. Shalawat serta taslim senantiasa tersampaikan kepada Nabi Besar Muhammad Shallallahu 'Alaihi Wasallam, sahabat, keluarga, serta para pengikutnya yang senantiasa istiqamah di jalan Islam.

Dengan rahmat dan petunjuk Allah Yang Maha Kuasa, serta usaha, doa, arahan dan bimbingan dokter pembimbing, maka skripsi yang berjudul "Deteksi Gen CTX-M pada *Extended Spectrum Beta Lactamase (ESBL) Enterobacteriaceae* pada Siswa Sekolah Dasar di Kota Makassar, Sulawesi Selatan" dapat terselesaikan.

Dalam penyusunan dan penulisan skripsi ini, penulis menemui beberapa hambatan, namun atas izin Allah serta bantuan dan dukungan dari berbagai pihak, hambatan tersebut dapat teratasi.

Penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada orangtua Ayahanda Bambang Budiono dan Ibunda Yuyun Kustia Hastini atas doa dan bantuan selama ini. Ucapan terima kasih penulis haturkan pula kepada:

1. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, para Pembantu Dekan, para dosen dan staf yang telah memberikan bantuan dan bimbingan kepada penulis.
2. Dr. dr. Dianawaty Amiruddin, Sp.KK selaku pembimbing 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. Airin Rizkianty Nurdin, Sp.KK, M.Kes selaku dewan penguji yang telah memberikan masukan dan arahan pada skripsi ini.
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. Keluarga besar Neutroflavin angkatan 2014 program studi pendidikan dokter Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.
8. Seluruh pihak yang tidak sempat disebutkan satu persatu yang telah membantu penulis selama penyusunan skripsi ini.

Akhir kata, penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang sifatnya membangun dari semua pihak. Semoga skripsi ini bisa berkontribusi dalam perbaikan upaya kesehatan dan bermanfaat bagi semua pihak.

Makassar, 6 Desember 2017

Penulis

**DETEKSI GEN CTX-M PADA *EXTENDED SPECTRUM BETA LACTAMASE*  
(ESBL) *ENTEROBACTERIACEAE* PADA SISWA SEKOLAH DASAR DI  
KOTA MAKASSAR, SULAWESI SELATAN  
Muh. Bayu Setiono, Dianawaty Amiruddin  
Departemen Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin**

**ABSTRAK**

**Latar Belakang:** Penggunaan antibiotik adalah pilihan utama dalam pengobatan infeksi saluran kemih. Antibiotik beta laktam merupakan salah satu golongan yang sering digunakan. Di rumah sakit banyak digunakan antibiotik beta laktam diantaranya golongan sefalosporin. Infeksi saluran kemih paling banyak disebabkan oleh bakteri *Enterobacteriaceae*. Namun, pada saat ini telah ditemukan bahwa bakteri memiliki kemampuan perlawanan terhadap kerja obat golongan beta-laktam. Hal ini sebagian besar disebabkan akibat resistensi terhadap beta-laktam dengan cara mengeluarkan enzim beta-laktamase. Di Indonesia juga telah terdeteksi gen CTX-M pada isolat *E. coli* dari sampel urin yang dilakukan di Surabaya sebesar 90% (27/30). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendeteksi gen CTX-M dari *Enterobacteriaceae* yang memproduksi ESBL dari sampel urin siswa sekolah dasar di Kota Makassar.

**Metode:** Penelitian ini akan dilaksanakan selama tujuh bulan dengan menggunakan metode *deskriptif observational*. Penelitian dilaksanakan di dua Sekolah Dasar di Kota Makassar. Pengumpulan data dilakukan mulai pengumpulan sampel urin, ekstraksi sampel, lalu deteksi gen CTX-M dengan metode PCR dan Elektroforesis. Kemudian data akan dianalisis dan disimpulkan pada hasil penelitian.

**Hasil:** Dari 100 sampel yang telah diteliti, tidak ditemukan gen CTX-M pada sampel.

**Kesimpulan:** Prevalensi gen CTX-M pada ESBL *Enterobacteriaceae* belum ditemukan pada sampel urin komunitas anak Sekolah Dasar di Kota Makassar.

**Kata Kunci:** CTX-M, ESBL, *Enterobacteriaceae*, Siswa Sekolah Dasar



**CTX-M GENE DETECTION ON EXTENDED SPECTRUM BETA  
LACTAMASE (ESBL) ENTEROBACTERIACEAE *ENTEROBACTERIACEAE* IN  
ELEMENTARY SCHOOL STUDENTS AT MAKASSAR CITY, SOUTH  
SULAWESI**

**Muh. Bayu Setiono, Dianawati Amiruddin**

**Parasitology Department Hasanuddin University Faculty of Medicine**

**ABSTRACT**

**Background:** Use of antibiotics is the primary choice in the treatment of urinary tract infections. The beta lactam antibiotic is one of the most commonly used classes. In hospitals widely used beta lactam antibiotics including cephalosporins. Urinary tract infections are most commonly caused by Enterobacteriaceae bacteria. However, it has now been discovered that bacteria have the ability to fight against beta-lactam drug action. This is largely due to resistance to beta-lactam by secreting the beta-lactamase enzyme. In Indonesia, CTX-M gene has been detected in *E. coli* isolate from urine sample in Surabaya by 90% (27/30). The purpose of this study was to detect the CTX-M gene from Enterobacteriaceae producing ESBL from a sample of urine of elementary school students in Makassar City.

**Method:** This research was conducted over seven months using descriptive observational method. The research was conducted in two elementary schools in Makassar. Data collection was done from collecting urine sample, sample extraction, then detection of CTX-M gene by PCR method and electrophoresis. Then the data will be analyzed and concluded on the research results.

**Results:** From 100 samples examined, no CTX-M gene was found

**Conclusion:** The prevalence of CTX-M gene on ESBL Enterobacteriaceae has not been found in urine samples of elementary school children in Makassar.

**Keywords:** CTX-M, ESBL, *Enterobacteriaceae*, Elementary School Students

## DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR .....	vi
ABSTRAK .....	viii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL DAN DIAGRAM.....	xii
DAFTAR GAMBAR .....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
BAB I.....	1
PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
BAB II.....	4
TINJAUAN PUSTAKA .....	4
2.1 <i>Enterobacteriaceae</i> .....	4
2.2 <i>Extended Spectrum <math>\beta</math>-Lactamase (ESBL)</i> .....	4
2.3 Gen CTX-M .....	7
2.4 <i>Polymerase Chain Reaction (PCR)</i> .....	8
BAB III .....	9
KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN .....	9
3.1 Kerangka Teori dan Kerangka Konsep .....	9
3.2 Definisi Operasional.....	10
3.3 Hipotesis Penelitian.....	11
BAB IV .....	12
METODE PENELITIAN.....	12
4.1 Tipe dan Desain Penelitian.....	12
4.2 Waktu dan Tempat Penelitian .....	12

4.3 Variabel .....	12
4.4 Populasi dan Sampel .....	12
4.5 Kriteria Seleksi .....	13
4.6 Instrumen Penelitian.....	14
4.7 Teknik Analisis Data.....	15
4.8 Prosedur Penelitian.....	16
4.9 Bagan alur penelitian.....	22
BAB V.....	23
HASIL PENELITIAN.....	23
5.1 Karakteristik Sampel .....	23
5.2 Analisis Hasil Pemeriksaan PCR .....	24
BAB VI.....	28
PEMBAHASAN .....	28
6.1 Karakteristik Sampel .....	28
6.2 Distribusi Gen CTX-M pada Bakteri <i>Enterobacteriaceae</i> dengan Pemeriksaan Metode <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR).....	28
BAB VII.....	31
KESIMPULAN DAN SARAN.....	31
7.1 Kesimpulan.....	31
7.2 Saran .....	31
DAFTAR PUSTAKA .....	32
LAMPIRAN.....	36

## **DAFTAR TABEL DAN DIAGRAM**

Tabel 5.1 Distribusi Jenis Kelamin Sampel .....	23
Diagram 5.1 Distribusi Jenis Kelamin Sampel .....	23
Tabel 5.2 Tabel Distribusi Umur Sampel .....	24
Diagram 5.2 Diagram Distribusi Umur Sampel.....	24
Tabel 5.3 Distribusi Gen CTX-M pada sampel urin .....	27
Diagram 5.3 Distribusi Gen CTX-M pada sampel urin .....	27

## **DAFTAR GAMBAR**

Gambar 5.1 Hasil Elektroforesis Pemeriksaan PCR Sampel A (well atas) .....	25
Gambar 5.2 Hasil Elektroforesis Pemeriksaan PCR Sampel A (well tengah) .....	25
Gambar 5.3 Hasil Elektroforesis Pemeriksaan PCR Sampel A (well bawah) .....	25
Gambar 5.4 Hasil Elektroforesis Pemeriksaan PCR Sampel B (well atas) .....	26
Gambar 5.5 Hasil Elektroforesis Pemeriksaan PCR Sampel A (well tengah) .....	26
Gambar 5.6 Hasil Elektroforesis Pemeriksaan PCR Sampel A (well bawah) .....	26

## **DAFTAR LAMPIRAN**

1. Biodata Peneliti .....	36
2. Izin Etik Penelitian .....	37
3. Distribusi Hasil .....	38

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Infeksi saluran kemih (ISK) adalah istilah umum yang menunjukkan keberadaan mikroorganisme di dalam urin. Pada individu yang normal urin selalu steril dari mikroorganisme. Sebagian besar infeksi saluran kemih terjadi karena masuknya mikroorganisme melalui uretra. Mikroorganisme tersebut melakukan invasi ascending dari uretra ke kandung kemih, bahkan bisa sampai ke ginjal (Enday, 2009). Mikroorganisme tersebut antara lain *Escherichia coli*, *Klebsiella sp.*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus saprophyticus*, dan *Staphylococcus aureus* (Porth dkk, 2008).

Penelitian di luar negeri menunjukkan bahwa *Enterobacteriaceae* menempati tiga urutan teratas bakteri penyebab ISK yaitu *E. coli* merupakan kuman penyebab tersering (79,4%) ISK pada neonatal hingga anak-anak, *Klebsiella spp.* diurutan kedua sebesar 7,8 % dan *Proteus spp.* diurutan ketiga dengan temuan 3,8% (Rima dkk, 2015). Penelitian di RSUD Dr. Zainoel Abidin Banda Aceh menunjukkan bahwa infeksi saluran kemih paling banyak disebabkan oleh bakteri *Enterobacteriaceae* (Syafuruddin, 2012).

Penggunaan antibiotik adalah pilihan utama dalam pengobatan infeksi saluran kemih (Santoso, 1990). Antibiotik beta laktam merupakan salah satu golongan yang sering digunakan (Adamski, 2014). Di rumah sakit banyak digunakan antibiotik beta laktam diantaranya golongan sefalosporin (Sastroasmoro dkk, 2005). Sefalosporin sering digunakan pada kasus ISK karena mempunyai efek bakterisid yang kuat terutama sefalosporin generasi yang ketiga (sefoperazon, sefotaksim, seftazidim, seftizoksim, seftriakson, sefiksim dan moksalaktam) (Katzung, 1998). Selain itu, sefalosporin generasi ketiga lebih aktif terhadap bakteri gram negatif seperti *Enterobacteriaceae* dibandingkan generasi sebelumnya namun kurang aktif melawan bakteri gram positif (Joyce, 1996)

Namun, pada saat ini telah ditemukan bahwa bakteri memiliki kemampuan perlawanan terhadap kerja obat golongan beta-laktam. Hal ini sebagian besar disebabkan akibat resistensi terhadap beta-laktam dengan cara mengeluarkan enzim beta-laktamase (Adamski et.al, 2014). Produksi dari *Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL) memutus cincin amida pada cincin beta-laktam, sehingga mengakibatkan antibiotik menjadi tidak aktif (Farmer dkk, 2007). Uji kepekaan antibiotik yang sudah dilakukan laboratorium Mikrobiologi Klinik RSUD Dr. Soetomo Surabaya pada sampel urin menunjukkan bahwa 100% isolat *E.coli* resisten terhadap sefotaksim dan ampisillin, 96.67% resisten terhadap levofloksasin, 93.33% resisten terhadap tetrasiklin, 10% resisten terhadap meropenem dan 20% resisten terhadap fosfomisin. (Yulianto, 2014)

Ada berbagai enzim yang terkait dengan aktivitas ESBL yang sering ditemukan, yaitu tipe *cefotaximase* (CTX-M), *temoneira* (TEM), dan *sulphhidril variabel* (SHV) (Karanika et.al, 2016). Enzim tipe CTX-M memiliki kemampuan hidrofilik melawan sefalosporin terutama sefotaksim sehingga dinamakan CTX-M (Paterson, 2005). Pada penelitian yang dilakukan antara tahun 2005 hingga 2012, tipe gen CTX-M telah menjadi penyebab dominan resistensi yang paling tinggi (Daoud et al, 2015). Di Indonesia juga telah terdeteksi gen CTX-M pada isolat *E. coli* dari sampel urin yang dilakukan di RSUD Dr. Soetomo Surabaya sebesar 90% (27/30). (Yulianto, 2014)

Berdasarkan permasalahan diatas peneliti memandang perlu untuk melakukan penelitian terkait ESBL, mengingat belum adanya penelitian yang dilakukan untuk mendeteksi gen CTX-M pada ESBL yang diproduksi oleh *Enterobacteriaceae* di komunitas anak-anak, serta perlunya mengetahui persebaran ESBL dalam upaya penatalaksanaan yang tepat terhadap penyakit infeksi, maka peneliti tertarik melakukan penelitian ini untuk melihat prevalensi gen CTX-M pada ESBL *Enterobacteriaceae* dari sampel urin anak Sekolah Dasar di Kota Makassar.



## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas, dirumuskan suatu masalah yaitu apakah terdapat gen CTX-M pada *Extended Spectrum  $\beta$ -Lactamase* (ESBL) *Enterobacteriaceae* dari sampel urin Siswa Sekolah Dasar di Kota Makassar, Sulawesi Selatan, dengan menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR)?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Umum

Adapun tujuan umum dari penelitian ini adalah mendeteksi CTX-M pada *Extended Spectrum  $\beta$ -Lactamase Enterobacteriaceae* pada sampel urin anak usia sekolah dasar di Kota Makassar menggunakan metode PCR.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

Tujuan khusus dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui prevalensi infeksi *Enterobacteriaceae* dari sampel urin anak sekolah dasar.
2. Mengetahui prevalensi gen CTX-M dari *Enterobacteriaceae* yang menghasilkan *Extended Spectrum Beta Lactamase* dari sampel urin anak sekolah dasar.

## 1.4 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dari penelitian ini adalah untuk memberikan gambaran umum dan informasi terkait keberadaan gen CTX-M pada ESBL *Enterobacteriaceae* pada anak-anak sekolah dasar di Kota Makassar yang kemudian dapat digunakan oleh pelaksana medis maupun masyarakat umum sebagai informasi dalam penatalaksanaan terhadap penyakit yang disebabkan oleh gen CTX-M pada ESBL *Enterobacteriaceae*.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 *Enterobacteriaceae***

*Enterobacteriaceae* adalah famili bakteri basil gram negatif yang besar dan heterogen, dengan habitat alami di saluran cerna manusia dan hewan. *Enterobacteriaceae* dapat menyebabkan penyakit infeksi seperti Infeksi Saluran Kemih (ISK), pneumonia, sepsis, kolesistitis, kolangitis, peritonitis, gastroenteritis dan meningitis. *Enterobacteriaceae* memiliki morfologi 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 dan 110 spesies, tetapi hanya 20-25 spesies yang memiliki arti klinis, dan spesies lainnya jarang ditemukan (Brooks *et al*, 2008).

#### **2.2 *Extended Spectrum $\beta$ -Lactamase (ESBL)***

*Extended-Spectrum Beta Lactamase (ESBL)* merupakan enzim yang dapat menghidrolisis penicillin cephalosporin generasi I, II, III dan aztreonam (kecuali cepharmycin dan carbapenem) (Winarto, 2009). ESBL dikenal sebagai *extended-spectrum* karena dapat menghidrolisis antibiotik  $\beta$ -laktam yang spektrumnya lebih luas dari antibiotik  $\beta$ -laktam generasi sebelumnya.  *$\beta$ -laktamase* merupakan kekebalan yang diperantarai plasmid. Enzim ini memiliki kemampuan menginaktivasi antibiotik golongan  $\beta$ -laktam yang berisi oxymino-group seperti oxymino-cephalosporin (misalnya ceftazidime, ceftriaxone, cefotaxime) juga pada oxymino-monobactam (aztreonam). Biasanya, enzim ESBL dapat dihambat

dengan  *$\beta$ -lactamase inhibitor* seperti clavulanate dan tazobactam (Paterson, 2005).

Saat ini ESBL telah ditemukan pada beberapa bakteri. Tidak hanya bakteri golongan *Enterobacteriaceae*, tetapi ESBL juga telah ditemukan pada bakteri non-*Enterobacteriaceae*, seperti *Pseudomonas spp*, *Stenotrophomonas spp*, *Acinetobacter spp*, *Vibrio spp*, dan *Haemophilus spp*. Bakteri golongan *Enterobacteriaceae* seperti *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumonia* adalah bakteri yang paling sering menghasilkan enzim ESBL ini, biasanya menyebabkan infeksi saluran kemih (ISK) dan bakteremia (Thenmozhi S et.al, 2014).

*Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL) dibagi menjadi 3 kelompok, yaitu TEM, SHV, dan CTX-M. (Pitout & Laupland, 2008). Sebuah penelitian dari bulan Januari 2001 sampai bulan Desember 2004 di Spanyol menunjukkan bahwa 73,4% (113/154) produksi *Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL) ruangan isolasi rumah sakit. (Romero et al, 2007). Sedangkan di wilayah Barat dan Eropa Selatan prevalensinya adalah 63% (832/1313), kemudian di Africa prevalensinya 31% (655/2081) untuk *K. pneumonia* dan 4% (200/4515) untuk *E. coli*. (Bell et. al, 2007).

Terdapat beberapa metode untuk mendeteksi ELBS, yaitu:

1. Uji *Double Disk Synergy*

Metode ini pertama kali ditemukan oleh Jarlier et.al pada tahun 1988 dengan menggunakan agar Mueller Hinton (Rupp dan Fey, 2003). Skrining dengan metode uji *Double Disk Synergy* memiliki tingkat kesulitan yang tidak tinggi dan menggunakan alat dan bahan yang cukup sederhana (Rupp dan Fey, 2003). Uji *double disk synergy* dilakukan dengan menggunakan cakram augmentin (20  $\mu$ g amoxicillin dan 10  $\mu$ g asam klavulanat) dan cakram cefotaxim (30  $\mu$ g), ceftazidime (30  $\mu$ g) serta cefpodoxime (30  $\mu$ g) yang diletakkan di sekitar cakram augmentin sekitar 16-20 mm.

Metode *double disk synergy* memiliki tingkat sensitivitas yang cukup baik yaitu berkisar 79%-96%. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Giriapur dari 313 sampel *Enterobacteriaceae*, 176 sampel (56,23%) merupakan bakteri penghasil ESBL yang diskriming dengan metode *double disk synergy*, sementara 200 sampel (63,89%). (Giriapur et al, 2011)

## 2. Uji *Phenotypic Confirmatory*

Metode ini menggunakan cefotaxime, ceftazidime, cefotaxim yang dikombinasikan dengan asam klavulanat dan juga ceftazidime yang dikombinasikan dengan asam klavulanat. Biakan bakteri yang telah disesuaikan kekeruhannya 0,5 McFarland diinokulasikan ke dalam agar Muller Hinton. Cefotaxime dan cefotaxime klavulanat diletakkan dengan jarak 20 mm diantara keduanya.

Hal yang sama juga dilakukan pada ceftazidime dan ceftazidime klavulanat. Isolat bakteri dinyatakan positif ESBL jika setelah diinkubasi 1 malam pada suhu 37o C, terdapat peningkatan diameter > 5 mm pada zona inhibisi dengan cakram antibiotik (cefotaxim, ceftazidim) yang dikombinasikan dengan asam klavulanat dibandingkan dengan zona inhibisi dengan cakram antibiotik tanpa kombinasi (Umadevi et al, 2011).

## 3. *Polymerase Chain Reaction*

Selain kedua metode diatas yang akurat saat ini adalah PCR. Reaksi berantai polimerase (*Polymerase Chain Reaction*, PCR) adalah suatu metode enzimatik untuk amplifikasi DNA dengan cara *in vitro* tahun 1985 oleh Kary B. Mullis. Amplifikasi DNA pada PCR dapat dicapai bila menggunakan primer oligonukleotida yang disebut amplimers. Kemampuan PCR dalam memproduksi substansi DNA dalam jumlah kecil merupakan revolusi dalam dunia mikrobiologi. (Kristin 1991)

Metode PCR mulai dengan Denaturasi DNA yang merupakan proses pembukaan DNA untai ganda menjadi DNA untai tunggal. Proses selanjutnya adalah *Annealing* (penempelan primer) yang selanjutnya akan berikatan dengan

DNA yang telah di denaturasi. Tahap selanjutnya adalah Pemanjangan Primer (*Extention*) Selama tahap ini *Taq polymerase* memulai aktivitasnya memperpanjang DNA primer dari ujung 3'. Kecepatan penyusunan nukleotida oleh enzim tersebut pada suhu 72 derajat Celcius diperkirakan 35 – 100 nukleotida/detik. Reaksi-reaksi tersebut di atas diulangi lagi dari 25 – 30 kali (siklus) sehingga pada akhir siklus akan diperoleh molekul-molekul DNA rantai ganda yang baru yang merupakan hasil polimerasi dalam jumlah yang jauh lebih banyak dibandingkan dengan jumlah DNA cetakan yang digunakan. Banyaknya siklus amplifikasi tergantung pada konsentrasi DNA target dalam campuran reaksi. (Yusuf, 2010)

Produk PCR dapat diidentifikasi melalui ukurannya dengan menggunakan elektroforesis gel agarosa. Metode ini terdiri atas menginjeksi DNA ke dalam gel agarosa dan menyatukan gel tersebut dengan listrik. Hasilnya untai DNA kecil pindah dengan cepat dan untai yang besar diantara gel menunjukkan hasil positif. (Yusuf, 2010)

### 2.3 Gen CTX-M

Urutan gen berdekatan dengan gen CTX-M Enterobacteriaceae mirip dengan yang mengelilingi gen b-laktamase di kromosom spesies *Kluyvera*. Gen ini diberi nama berdasarkan enzim yang kerjanya lebih dominan terhadap sefotaksim dibandingkan dengan substrat oxyimino- $\beta$ -laktam lainnya (misalnya Ceftazidime, ceftriaxone, atau cefepime) (Barthe'le'my *et al.*, 1985). Asal mula enzim tipe CTX-M berbeda dengan enzim tipe TEM dan tipe SHV. Dimana SHV dan TEM akibat dari substitusi asam amino, CTX-M diperoleh dengan transfer gen horizontal dari bakteri lain. (Sibhghatulla *et al.*, 2015).

Enzim tipe CTX-M mempunyai aktivitas hidrolitik poten terhadap cefotaxime. Enzim ini juga dapat menghidrolisis ceftazidime dan cefepime, serta dapat menyebabkan bakteri resisten terhadap cephalosporin. (Paterson, 2005). Sampai saat ini terdapat banyak jenis enzim tipe CTX-M yang telah ditemukan.

CTX-M-9 dan CTX-M-14 sangat aktif dalam menghidrolisis cefotaxime dan ceftazidime. CTX-M-15, CTX-M-16, CTX-M-19, dan CTX-M-27 juga secara signifikan dapat menyebabkan resistensi ceftazidime. (Rao, 2015)

#### **2.4 Polymerase Chain Reaction (PCR)**

Reaksi berantai polimerase (Polymerase Chain Reaction, PCR) adalah suatu metode enzimatik untuk amplifikasi DNA dengan cara *in vitro* tahun 1985 oleh Kary B. Mullis. Amplifikasi DNA pada PCR dapat dicapai bila menggunakan primer oligonukleotida yang disebut amplimers. Kemampuan PCR dalam memproduksi substansi DNA dalam jumlah kecil merupakan revolusi dalam dunia mikrobiologi. (Kristin 1991)

Metode PCR mulai dengan denaturasi DNA yang merupakan proses pembukaan DNA untai ganda menjadi DNA untai tunggal. Proses selanjutnya adalah *annealing* (penempelan primer) yang selanjutnya akan berikatan dengan DNA yang telah di denaturasi. Tahap selanjutnya adalah Pemanjangan Primer (*Extention*) Selama tahap ini *Taq polymerase* memulai aktivitasnya memperpanjang DNA primer dari ujung 3'. Kecepatan penyusunan nukleotida oleh enzim tersebut pada suhu 72 derajat Celcius diperkirakan 35 – 100 nukleotida/detik. Reaksi-reaksi tersebut di atas diulangi lagi dari 25 – 30 kali (siklus) sehingga pada akhir siklus akan diperoleh molekul-molekul DNA rantai ganda yang baru yang merupakan hasil polimerasi dalam jumlah yang jauh lebih banyak dibandingkan dengan jumlah DNA cetakan yang digunakan. Banyaknya siklus amplifikasi tergantung pada konsentrasi DNA target dalam campuran reaksi (Yusuf, 2010). Untuk mendeteksi Gen CTX-M, digunakan *primer forward* 5'- ATG TGC AGY ACC AGT AAR GT 3' dan *primer reverse* '5 – TGG GTR AAR TAR GTS ACC AGA 3' (Ahmed, *et. al.* 2013).

Produk PCR dapat diidentifikasi dengan menggunakan elektroforesis gel agarosa. Metode ini terdiri atas menginjeksi DNA ke dalam gel agarosa dan menyatukan gel tersebut dengan listrik. Hasilnya untai DNA kecil pindah dengan cepat dan untai yang besar diantara gel menunjukkan hasil positif. (Yusuf, 2010)