

**KARYA AKHIR**

**DETEKSI GEN VEB, OXA-2, DAN PER PADA  
PSEUDOMONAS AERUGINOSA YANG RESISTEN  
TERHADAP CEFTAZIDIME DI RSUP DR.WAHIDIN  
SUDIROHUSODO MAKASSAR**

***DETECTION OF GEN VEB, OXA-2, AND PER IN  
CEFTAZIDIME-RESISTANT PSEUDOMONAS AERUGINOSA  
AT RSUP DR.WAHIDIN SUDIROHUSODO MAKASSAR***

**DEWI KARTIKA TUNGADI  
C108214102**



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 (SP.1)  
DEPARTEMEN ILMU PATOLOGI KLINIK  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2019**



Optimization Software:  
[www.balesio.com](http://www.balesio.com)

**DETEKSI VEB, OXA-2, DAN PER PADA *PSEUDOMONAS  
AERUGINOSA* YANG RESISTEN TERHADAP CEFTAZIDIME  
DI RSUP DR.WAHIDIN SUDIROHUSODO MAKASSAR**

Karya Akhir

Sebagai Salah Satu Syarat Mencapai Gelar Spesialis-1 (Sp.1)

Program Studi

Ilmu Patologi Klinik

Disusun dan Diajukan oleh

**Dewi Kartika Tungadi**

Kepada

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 (SP.1)  
DEPARTEMEN ILMU PATOLOGI KLINIK  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2019**



## KARYA AKHIR

### DETEKSI GEN VEB, OXA-2, DAN PER PADA *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* YANG RESISTEN TERHADAP CEFTAZIDIME DI RSUP DR.WAHIDIN SUDIROHUSODO MAKASSAR

Yang disusun dan diajukan oleh

**DEWI KARTIKA TUNGADI**


Nomor Pokok C108214102

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis  
Pada tanggal 31 Januari 2019  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat  
Menyetujui

**Komisi Penasihat,**

  
**dr. Benny Rusli, SpPK(K)**  
Pembimbing Utama

Ketua KPPS Dokter Spesialis  
Fakultas Kedokteran Unhas

  
**Dr. dr. Tenri Esa, M.Si, SpPK**  
Pembimbing Anggota

Dekan  
Fakultas Kedokteran Unhas

  
**g Bahrun, PhD, SpPK(K)**

  
**Prof.dr. Budu, Ph.D., Sp.M(K), M.Med.Ed**



## PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Dewi Kartika Tungadi

Nomor Pokok : C108214102

Program Studi : Ilmu Patologi Klinik

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

Makassar, 29 Januari 2019

Yang menyatakan,



Dewi Kartika Tungadi



## PRAKATA

Segala puji dan syukur yang tak terhingga penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas segala anugerah-Nya dan petunjuk-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul **“DETEKSI GEN VEB, OXA-2, DAN PER PADA *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* YANG RESISTEN TERHADAP CEFTAZIDIME DI RSUP DR.WAHIDIN SUDIROHUSODO MAKASSAR”** sebagai salah satu persyaratan dalam Program Pendidikan Dokter Spesialis Patologi Klinik.

Penulis menyadari bahwa tesis ini masih jauh dari kesempurnaan, oleh karena itu dengan segala kerendahan hati penulis mengharapkan saran dan koreksi dari semua pihak. Penulis juga menyadari bahwa tesis ini dapat diselesaikan berkat bantuan dan partisipasi berbagai pihak. Dalam kesempatan ini, penulis menghaturkan terima kasih yang tulus kepada dr. Benny Rusli, SpPK(K) selaku Pembimbing Ketua dan Dr. dr. Tenri Esa, M.Si, Sp.PK selaku Ketua Komisi Penasihat/Sekretaris Pembimbing, Dr. dr. Burhanuddin Bahar, MS sebagai Anggota Komisi Penasihat/Pembimbing Metode Penelitian dan Statistik, dr. Firdaus Hamid, PhD sebagai Anggota Tim Penilai, dan dr. Agus Alim Abdullah, Sp.PK(K) sebagai Anggota Tim Penilai, yang telah memberi kesediaan waktu, saran dan bimbingan sejak masa penelitian, penyusunan hingga

hasil penelitian ini.



Pada kesempatan ini pula penulis ingin menyampaikan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada:

1. Guru Besar di Bagian Patologi Klinik dan Guru Besar Emeritus FK-UNHAS, Alm. Prof. dr. Hardjoeno, SpPK(K), yang telah merintis pendidikan dokter spesialis Patologi Klinik di FK Unhas.
2. Guru sekaligus orang tua kami, dr. H.Ibrahim Abdul Samad, Sp.PK(K) dan dr. Hj. Adriani Badji, Sp.PK yang senantiasa mendukung pendidikan penulis sejak awal mendidik, membimbing dengan penuh ketulusan hati dan memberi nasehat kepada penulis.
3. Guru besar di Departemen Ilmu Patologi Klinik, Prof. dr. Mansyur Arif, Ph.D, Sp.PK(K), guru kami yang telah membimbing, mengajar dan memberikan ilmu yang tidak ternilai dengan penuh ketulusan hati.
4. Guru kami dr. Ueng Bahrin, Sp.PK(K), Ph.D, yang bijaksana, senantiasa membimbing dan memberikan arahan kepada penulis dalam berbagai kegiatan, mengajar, memberi nasehat dan semangat serta mendorong penulis supaya lebih maju.
5. Ketua Departemen Ilmu Patologi Klinik FK-UNHAS Dr.dr. Yuyun Widaningsih, MKes, Sp.PK, guru kami yang bijaksana, senantiasa membimbing dan memberikan arahan kepada penulis dalam berbagai kegiatan, mengajar, memberi nasehat dan semangat serta mendorong penulis supaya lebih maju.



Program Studi Ilmu Patologi Klinik FK-UNHAS, Dr. dr. Tenri Esa, Sp.PK, guru kami yang penuh pengertian dan senantiasa



memberi bimbingan, nasehat dan semangat serta mendorong penulis supaya lebih maju.

7. Sekretaris Program Studi Ilmu Patologi Klinik FK-UNHAS, dr.Rachmawati A. Muhiddin, Sp.PK(K), guru kami yang senantiasa memberi bimbingan, nasehat dan semangat.
8. Dosen Penasihat Akademik kami, dr. Agus Alim Abdullah, SpPK(K), guru kami yang senantiasa memberi bimbingan, nasehat, dan semangat.
9. Semua guru, Supervisor di Departemen Ilmu Patologi Klinik FK-UNHAS yang senantiasa memberikan bimbingan dan saran selama penulis menjalani pendidikan sampai pada penyusunan karya akhir ini.
10. Direktur RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk menjalani pendidikan dan mengumpulkan sampel di rumah sakit ini.
11. Kepala Instalasi Laboratorium Patologi Klinik RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar, Kepala Instalasi Laboratorium Patologi Klinik RSPTN UNHAS, Kepala Instalasi Laboratorium RS. Labuang Baji, Kepala Instalasi Laboratorium RS.Stella Maris, Kepala Instalasi Laboratorium RS. Ibnu Sina, Kepala UTD PMI, Kepala UPTD Transfusi Darah Dinas Kesehatan Makassar, Ketua Departemen Ilmu Penyakit Dalam beserta staf yang telah menerima dan membantu penulis dalam

lani masa pendidikan.



12. Kepala Unit Penelitian Fakultas Kedokteran UNHAS beserta staf yang telah memberi izin dan membantu dalam proses pemeriksaan sampel untuk penelitian ini.
13. Teman-teman sejawat PPDS Program Studi Ilmu Patologi Klinik, khususnya dr. Kartika Paramita, dr. Gita Medita Sunusi, dr. Melissa Heidy Wongsari, dr. Saraswati Wulandari Hartono, dr. Rahmi Rifany Latif, dr. Sri Anita , dr. Dewi Sri Kartini, dr. Asriyani Azikin, dan dr. Fatmawaty Ahmad yang telah berbagi suka dan duka selama masa pendidikan penulis, serta banyak memberikan bantuan, motivasi, dukungan dan semangat selama masa pendidikan dan penyelesaian tesis ini. Kebersamaan dan persaudaraan merupakan hal yang tak terlupakan dan semoga persaudaraan ini tetap terjaga.
14. Seluruh teman-teman sejawat PPDS yang banyak memberikan bantuan, dukungan kepada penulis selama masa pendidikan dan penyelesaian tesis ini serta analis yang turut membantu dalam proses pengumpulan sampel dan pemeriksaan sampel untuk penelitian ini.
15. Seluruh pihak yang tidak dapat penulis tulis satu persatu yang telah memberikan dukungan yang sangat berarti kepada penulis.

Akhirnya ucapan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada kedua orang tua saya tercinta, Ayahanda Richard Tungadi dan Ibunda Honny Wijaya dengan penuh kasih sayang mereka

memberikan doa tulus, kesabaran, jerih payah dan dukungan yang tak maupun material selama ini mengiringi langkah penulis. Untuk



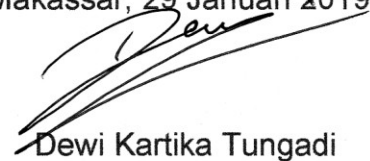


saudara saya tercinta Jacky Hartanto Tungadi dan Jerry Heryanto Tungadi atas tenaga, dukungan, penyemangat dan doanya selama penulis menempuh pendidikan. Terima kasih kepada mertua saya, saudara-saudara ipar saya, serta seluruh keluarga besar yang telah memberikan dukungan doa dan semangat dan kasih sayang dan dukungan sehingga penulis dapat menyelesaikan setiap tahap proses pendidikan ini dengan baik.

Khususnya kepada suami tercinta Hardi Wijaya dan kedua anak tercinta Chloe Grace Wijaya dan Clark Gareth Wijaya atas kasih sayang, dukungan semangat, pengorbanan, pengertian, doa yang tulus dan kesabaran dalam mengiringi saya menjalani pendidikan ini.

Akhir kata tak lupa penulis menyampaikan permohonan maaf sebesar-besarnya kepada semua pihak terutama kepada semua guru-guru kami dan teman-teman residen selama penulis menjalani masa pendidikan. Penulis berharap karya akhir ini dapat memberi sumbangan bagi perkembangan ilmu pengetahuan terutama di bidang Ilmu Patologi Klinik di masa yang akan datang. Semoga Tuhan YME senantiasa membimbing dan memberkahi setiap langkah pengabdian kita. Amin.

Makassar, 29 Januari 2019



Dewi Kartika Tungadi



## ABSTRAK

**DEWI KARTIKA TUNGADI.** Deteksi gen VEB, OXA-2, PER pada *Pseudomonas aeruginosa* yang resisten terhadap ceftazidime di RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar (dibimbing oleh Benny Rusli dan Tenri Esa)

*Pseudomonas aeruginosa* merupakan patogen oportunistik yang terdapat baik di komunitas maupun di lingkungan rumah sakit. Ceftazidime merupakan antimikroba golongan sefalosforin generasi ketiga yang terutama digunakan untuk infeksi *P. aeruginosa*. Saat ini makin sering dilaporkan resistensi terhadap ceftazidime. Produksi enzim  $\beta$ -laktamase, overekspresi AmpC, dan over-produksi sistem effluks yang paling berperan dalam resistensi *P. aeruginosa* terhadap ceftazidime. Tujuan penelitian ini untuk mendeteksi gen VEB, OXA-2, dan PER pada *P. aeruginosa* yang resisten terhadap ceftazidime di RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo di Makassar. Sampel dikumpulkan selama periode Agustus-Desember 2018 dan telah diidentifikasi isolat *P. aeruginosa* yang resisten terhadap antibiotik Ceftazidime sebanyak 29 isolat. Isolat diperiksa dengan pemeriksaan PCR untuk mendeteksi gen VEB, OXA-2, dan PER. Tidak ditemukan gen VEB, OXA-2, PER sebagai gen penyandi *P. aeruginosa* resisten Ceftazidime di RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo, Makassar. Resistensi *P. aeruginosa* yang terjadi bukan karena gen-gen yang kami periksakan, tetapi kemungkinan karena gen yang sama yang sudah bermutasi (gen mutan) atau karena gen ESBL yang lain, atau karena mekanisme resistensi lain. Penelitian berikutnya sebaiknya dilakukan deteksi fenotip ESBL dari sampel *P. aeruginosa* yang resisten Ceftazidime. Penelitian lebih lanjut mengenai gen-gen penyandi *P. aeruginosa* resisten Ceftazidime yang lain atau mekanisme resistensi antibiotik yang lain perlu dilakukan.

Kata kunci: *Pseudomonas aeruginosa*, VEB, OXA-2, PER



## ABSTRACT

**DEWI KARTIKA TUNGADI.** Detection of VEB, OXA-2, PER genes in *Pseudomonas aeruginosa* which is resistant to ceftazidime on Dr. Wahidin Sudirohusodo Hospital Makassar (Supervised by Benny Rusli and Tenri Esa)

*Pseudomonas aeruginosa* is an opportunistic pathogen m.o found in the community and in the hospital environment. Ceftazidime is a third generation antimicrobial group which is mainly used for *P. aeruginosa* infection. Reports of resistance to ceftazidime were increasing nowadays. B-lactamase enzyme production, AmpC overexpression, and overproduction of efflux systems make a main roleplay in the resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to ceftazidime. The purpose of this study was to detect the VEB, OXA-2, and PER genes in *P. aeruginosa* that were resistant to ceftazidime on Dr. Wahidin Sudirohusodo Hospital, Makassar. Identified *P. aeruginosa* resistant to Ceftazidime with total 29 isolates were collected during the period August–December 2018. Isolates were examined by PCR method to detect VEB, OXA-2, and PER genes. No one of VEB, OXA-2, PER gene found in Ceftazidime-resistant *P. aeruginosa* in Dr. Wahidin Sudirohusodo Hospital, Makassar. The resistance of *P. aeruginosa* that occurs is not due to the genes in this study, but is likely cause of the same gene that has been mutated (mutant genes) or cause of another ESBL gene or other resistance mechanisms. Subsequent studies should be carried out to detect the ESBL phenotype from Ceftazidime-resistant *P. aeruginosa* samples. Further research should be carried out to detect other Ceftazidime-resistant *Pseudomonas aeruginosa* genes, or to detect other antibiotic resistance mechanisms.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, VEB, OXA-2, PER



## DAFTAR ISI

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR .....	iii
PRAKATA .....	iv
ABSTRAK .....	ix
DAFTAR ISI .....	xi
DAFTAR TABEL .....	xiv
DAFTAR GAMBAR .....	xv
DAFTAR SINGKATAN .....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN .....	xviii
PENDAHULUAN .....	1
A. Latar Belakang .....	1
B. Rumusan Masalah .....	5
C. Tujuan Penelitian .....	6
1. Tujuan Umum .....	6
2. Tujuan Khusus .....	6
D. Hipotesis .....	6
E. Manfaat Penelitian .....	7
TINJAUAN PUSTAKA .....	8
A. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	8
B. Antibiotik .....	12
C. <i>Extended Spectrum Beta-Lactamase</i> (ESBL) .....	16
a. Klasifikasi $\beta$ -laktamase.....	17
A $\beta$ -laktamase ( $bla_{OXA}$ ) .....	22
B $\beta$ -laktamase ( $bla_{VEB}$ ) .....	24
R $\beta$ -laktamase ( $bla_{PER}$ ) .....	24



D. Mekanisme Resistensi Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	25
KERANGKA PENELITIAN .....	27
A. Kerangka Teori .....	27
B. Kerangka Konsep .....	28
METODE PENELITIAN .....	29
A. Desain Penelitian .....	29
B. Tempat dan Waktu Penelitian .....	29
1. Tempat Penelitian .....	29
2. Waktu Penelitian .....	29
C. Populasi dan Sampel Penelitian .....	30
1. Populasi Penelitian .....	30
2. Sampel Penelitian .....	30
3. Perkiraan Besar Sampel .....	30
D. Kriteria Inklusi dan Eksklusi .....	31
1. Kriteria Inklusi .....	31
2. Kriteria Eksklusi .....	31
E. Izin Penelitian .....	32
F. Cara Kerja .....	32
1. Alokasi Subjek .....	32
2. Cara Penelitian .....	32
3. Tes Laboratorium .....	33
G. Skema Alur Penelitian .....	43
H. Definisi Operasional dan Kriteria Objektif .....	44
I. Analisis Data .....	45
J. Pembahasan .....	46
K. Kesimpulan Penelitian .....	46



Karakteristik Sampel Penelitian .....	46
B. Pembahasan .....	50
SIMPULAN DAN SARAN .....	54
A. Simpulan .....	54
B. Saran .....	55
DAFTAR PUSTAKA .....	56





## DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
<b>BAB II</b>	
1. Klasifikasi Antibiotik $\beta$ -lactam	14
2. Klasifikasi $\beta$ -lactamase	18
3. Karakteristik ESBL tipe OXA	23
<b>BAB IV</b>	
4. Urutan nukleotida pada oligonukleotida yang digunakan untuk amplifikasi PCR	35
5. Standar Interpretasi <i>Minimal Inhibitory Concentration Pseudomonas aeruginosa</i>	45
<b>BAB V</b>	
6. Distribusi Gen OXA-2, VEB, dan PER Menurut Karakteristik Subyek	48



## DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
<b>BAB II</b>	
1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dengan pewarnaan Gram	8
2. Struktur tubuh <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10
3. Mekanisme Kerja Antibiotik	13
4. Struktur Antibiotik $\beta$ -Lactam	15
5. Mekanisme Resistensi Bakteri	26
<b>BAB V</b>	
6. Hasil Elektroforesis Gen PER	46
7. Hasil Elektroforesis Gen VEB	47
8. Hasil Elektroforesis Gen OXA-2	47
9. Distribusi <i>Pseudomonas aeruginosa</i> resisten Ceftazidime Berdasarkan Ruang Perawatan	49



## DAFTAR SINGKATAN

AmpC	: <i>Class C Beta Lactamase</i>
bp	: <i>Base Pair</i>
CDC	: <i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
CLSI	: <i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
CTX-M	: <i>Cefotaximase Munchen</i>
DDST	: <i>Double Disk Sinergy Test</i>
EDTA	: <i>Ethylenediaminetetraacetic acid</i>
ESBL	: <i>Extended Spectrum Beta Lactamase</i>
GES	: <i>Guiana Extended-Spectrum Beta Lactamase</i>
HUMRC	: <i>Hasanuddin University Medical Research Centre</i>
ICU	: <i>Intensive Care Unit</i>
IGD	: <i>Instalasi Gawat Darurat</i>
LPS	: <i>Lipopolisakarida</i>
MexAB-OprM	: <i>Multidrug Efflux Protein consist of membrane fusion protein MexA, inner membrane transporter MexB, outer membrane channel OprM</i>
MexCD-OprJ	: <i>Multidrug Efflux Protein consist of membrane fusion protein MexC, inner membrane transporter MexD, outer membrane channel OprJ</i>
	: <i>Neonatal Intensive Care Unit</i>
	: <i>Outer Membrane Protein</i>



OXA	: <i>Oxacillinase</i>
PBP	: <i>Penicillin Binding Protein</i>
PCC	: <i>Private Care Centre</i>
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
PJT	: <i>Perawatan Jantung Terpadu</i>
PER	: <i>Pseudomonas Extended Resistant</i>
PICU	: <i>Pediatric Intensive Care Unit</i>
RNA	: <i>Ribonucleic Acid</i>
SHV	: <i>Sulfhydryl Variabel</i>
TAE	: <i>Tris-Acetate-EDTA</i>
TBE	: <i>Tris-Borate-EDTA</i>
TEM	: <i>Temoneira</i>
TSIA	: <i>Triple Sugar Iron Agar</i>
VEB	: <i>Vietnam Extended Spectrum <math>\beta</math>-Lactamase</i>



**DAFTAR LAMPIRAN**

<b>Nomor</b>	<b>Halaman</b>
1. Persetujuan Etik .....	63
2. Halaman Pengesahan Seminar Hasil Penelitian .....	64
3. Data primer hasil penelitian .....	65
4. Hasil PCR .....	68
5. Lampiran Blast Primer .....	70
6. Curriculum Vitae .....	91



## BAB I

### PENDAHULUAN

#### A. Latar Belakang

*Pseudomonas aeruginosa* merupakan patogen oportunistik yang terdapat baik di komunitas maupun di lingkungan rumah sakit karena kemampuannya untuk bertahan hidup pada lingkungan dengan kondisi nutrisi yang kurang. Organisme ini juga memiliki kemampuan untuk menginfeksi semua jaringan dan menjadi penyebab utama morbiditas dan mortalitas. Di rumah sakit, organisme ini terutama menginfeksi pasien di ruang rawat intensif (ICU) dan pasien yang memakai kateter, pasien luka bakar, dan pasien dengan penyakit kronik (Ahmed et al., 2015; Chen et al., 2015; Croughs et al., 2018; Jiang et al., 2006).

Struktur tubuh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dapat dibagi menjadi beberapa bagian yaitu protoplasma yang didalamnya terdapat membran sel, DNA, dan plasmid; dinding sel yang terdiri dari 2 lapis peptidoglikan; kapsul yang menyelubungi dinding sel; flagel; dan vili. Plasmid merupakan materi genetik di luar kromosom yang terdapat dalam sitoplasma mikroba. Plasmid dapat membawa gen resisten terhadap antibiotik. Ukuran plasmid lebih kecil daripada kromosom, sehingga gen resisten pada plasmid dapat ditransfer dari satu bakteri ke bakteri lain. Transfer plasmid dapat terjadi melalui transformasi, transduksi, atau konjugasi (Karomah, 2015; Rusli,





Infeksi *Pseudomonas aeruginosa* dapat diterapi dengan agen antimikroba beta-laktam (seperti penisilin atau sefalosporin), aminoglikosida, karbapenem (seperti imipenem, meropenem), dan quinolon. Ceftazidime merupakan antimikroba golongan sefalosporin generasi ketiga yang terutama digunakan untuk infeksi *Pseudomonas aeruginosa*. Resistensi terhadap beberapa agen antibiotik saat ini makin sering dilaporkan terjadi, salah satunya yaitu terhadap ceftazidime (Fisher, 2014; Friedrich, 2018; Kos, 2016; Liu, 2014; Tavajjohi et al., 2011;). Penelitian oleh Rakesh et al. pada tahun 2010 di Ahmadabad menemukan bahwa dari 100 isolat *Pseudomonas aeruginosa* ditemukan 43% resisten terhadap ceftazidime, yang merupakan antibiotik kelima terbanyak yang resisten pada penelitian ini (Rakesh, 2012)

Angka *Pseudomonas aeruginosa* di RS Dr. Wahidin Sudirohusodo tahun 2016 yaitu sebanyak 319 (10,1%) isolat dari 3159 isolat. Angka ini kemudian sedikit meningkat tahun 2017, yaitu ditemukan 320 (10,9%) isolat *Pseudomonas aeruginosa* dari 2930 isolat. Bulan Januari hingga Juli 2018, ditemukan 220 (15,5%) isolat *Pseudomonas aeruginosa* dari 1417 isolat dan dari 220 isolat *Pseudomonas aeruginosa* ini didapatkan 52 (23,6%) isolat yang resisten terhadap ceftazidime.

Resistensi *Pseudomonas aeruginosa* dapat terjadi melalui beberapa mekanisme, yaitu melalui produksi  $\beta$ -laktamase, pompa effluks, dan

si target serta membran luar organisme. Resistensi antibiotik  $\beta$ -pada *Pseudomonas aeruginosa* disebabkan oleh beberapa



mekanisme, antara lain mutasi genetik yang menyebabkan overekspresi AmpC secara stabil, yaitu sefalosforinase yang dimediasi oleh kromosom; akuisisi gen-gen yang dapat ditransfer yang mengkode berbagai macam  $\beta$ -laktamase; over-produksi sistem effluks; dan berkurangnya permeabilitas membran luar (Tavajjohi et al., 2011; Ahmed et al., 2015). Produksi enzim  $\beta$ -laktamase, overekspresi AmpC, dan over-produksi sistem effluks merupakan mekanisme yang paling berperan dalam resistensi *Pseudomonas aeruginosa* terhadap ceftazidime (Bassetti, 2018; Du, 2010; Kos, 2016; Livermore, 2002).

Enzim  $\beta$ -laktamase yang akhir-akhir ini banyak dilaporkan pada *Pseudomonas aeruginosa* adalah jenis *Extended spectrum  $\beta$ -lactamase* (ESBL). *Extended spectrum  $\beta$ -lactamase* merupakan enzim yang dikode oleh plasmid bakteri gram negatif. Keberadaan enzim ESBL dapat menghidrolisis cincin  $\beta$ -laktam pada antimikroba cefalosforin spektrum luas seperti ceftazidime, ceftriaxone, cefotaxime, dan oxyiminomonobactam sehingga bakteri gram negatif yang membawa enzim ini resisten terhadap pengobatan dengan antibiotik tersebut. Enzim ESBL tidak dapat menghidrolisis antibiotik karbapenem, sehingga obat ini masih efektif terhadap bakteri yang memproduksi ESBL (Ghafourian et al., 2015; Kaisse et al., 2015; Poole, 2011).

Enzim ESBL termasuk ke dalam dua kelas struktural Ambler, yaitu A

Enzim ESBL kelas A yang ditemukan pada isolat *P.aeruginosa* kkan resistensi terhadap ceftazidime. Termasuk ke dalam ESBL



kelas A ini yaitu ESBL tipe *Vietnam Extended Spectrum  $\beta$ -Lactamase* (VEB), *Pseudomonas Extended Resistant* (PER), dan beberapa gen lain. ESBL tipe VEB merupakan tipe ESBL terbanyak yang dilaporkan pada *P.aeruginosa* yang memproduksi ESBL. (Jiang et al., 2006; Strateva et al., 2007; Woodford et al., 2008; Shahcheraghi et al., 2009). Selain ESBL tipe VEB, pada beberapa penelitian melaporkan ESBL tipe PER juga banyak ditemukan. (Celenza et al., 2006; Endimiani et al., 2006; Shahcheraghi et al., 2009; Glupczynski et al., 2010). Yang termasuk ESBL kelas D yaitu ESBL tipe *Oxacilinase* (OXA). ESBL tipe ini terutama terdapat pada *P.aeruginosa* dan menyebabkan resistensi terhadap cefotaxime atau ceftazidime, dan beberapa juga kurang peka terhadap cefepime atau aztreonam (Danel et al., 1999; Aubert et al., 2001; Fournier et al., 2010).

Penelitian oleh Weldhagen di Thailand menemukan 24% isolat *P. aeruginosa* yang resisten terhadap ceftazidime dan dari isolat yang resisten terhadap ceftazidime ini, ditemukan gen VEB sebesar 93% (Weldhagen, 2003). Penelitian Du et al. tahun 2008 di Taiwan menemukan 96,2% dari 66 isolat *P. aeruginosa* memiliki gen OXA-2. Penelitian tersebut juga menemukan 34.8% dari 66 isolat tersebut resisten terhadap ceftazidime. Hasil penelitian diatas juga menemukan bahwa 100% dari isolat *P. aeruginosa* yang resisten terhadap ceftazidime tersebut menghasilkan enzim ESBL, selain juga mengalami over ekspresi OprM

dan atau over ekspresi AmpC (21,7%) secara bersamaan (Du, Penelitian oleh Ranellou et al. pada tahun 2009 di Mesir



menemukan bahwa dari 287 sampel *Pseudomonas aeruginosa* yang resisten terhadap ceftazidime, ditemukan 5 diantaranya menghasilkan ESBL dan memiliki gen PER (Ranellou, 2012). Penelitian oleh Kos et al. pada tahun 2015 di USA menemukan bahwa dari 181 isolat *Pseudomonas aeruginosa* yang diteliti, terdapat 99 (55%) isolat yang resisten terhadap ceftazidime yang diantaranya terdapat 46 isolat yang memproduksi ESBL dan 53 isolat lainnya dengan over ekspresi AmpC (Kos, 2016).

Penelitian-penelitian di atas tentang gen ESBL yang dihasilkan oleh *Pseudomonas aeruginosa* melaporkan jenis gen yang berbeda-beda sehingga peneliti tertarik untuk mengetahui tipe gen ESBL pada isolat *Pseudomonas aeruginosa* yang resisten terhadap ceftazidime di Makassar dan sepanjang pengetahuan peneliti penelitian ini belum pernah dilakukan di Indonesia. Berdasarkan latar belakang di atas sehingga peneliti tertarik untuk melakukan penelitian untuk mendeteksi gen VEB, OXA-2, dan PER pada *Pseudomonas aeruginosa* yang resisten terhadap ceftazidime di RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo di Makassar.

## B. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang masalah di atas dapat dirumuskan pertanyaan penelitian sebagai berikut:

Apakah terdapat gen VEB, OXA-2, dan PER pada *Pseudomonas*

*aeruginosa* yang resisten ceftazidime di RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo

Makassar?



## C. Tujuan Penelitian

### 1. Tujuan Umum

Untuk mengidentifikasi gen VEB, OXA-2, dan PER pada *Pseudomonas aeruginosa* yang resisten terhadap ceftazidime di RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo di Makassar.

### 2. Tujuan Khusus

- a. Mengidentifikasi gen VEB pada *Pseudomonas aeruginosa* yang resisten terhadap ceftazidime di RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo di Makassar.
- b. Mengidentifikasi gen OXA-2 pada *Pseudomonas aeruginosa* yang resisten terhadap ceftazidime di RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo di Makassar.
- c. Mengidentifikasi gen PER pada *Pseudomonas aeruginosa* yang resisten terhadap ceftazidime di RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo di Makassar.

## D. Hipotesis

Gen VEB, OXA-2, PER ditemukan pada isolat *Pseudomonas aeruginosa* yang resisten terhadap ceftazidime.



### E. Manfaat Penelitian

1. Mendapatkan informasi ilmiah mengenai keberadaan gen VEB, OXA-2, PER pada *Pseudomonas aeruginosa* yang resisten terhadap ceftazidime di RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo di Makassar.
2. Sebagai data untuk penelitian selanjutnya.





## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. *Pseudomonas aeruginosa*

*Pseudomonas aeruginosa* adalah bakteri gram negatif yang bersifat aerob, berukuran sekitar 0,5–1  $\mu\text{m}$ , berbentuk basil dan motil. Pada pewarnaan gram bakteri ini terwarnai merah dan terlihat sebagai bakteri tunggal, berpasangan, dan kadang-kadang membentuk rantai yang pendek (Ismianni, 2017; Rolsma et al., 2015; Todar, 2008; Todar, 2012; Fujitani et al., 2015)



Gambar 1. *Pseudomonas aeruginosa* dengan pewarnaan Gram (Todar, 2008)

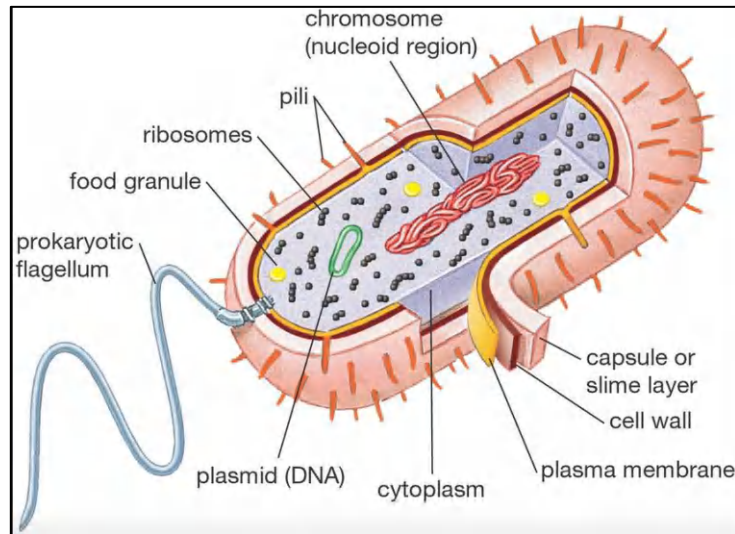


*Pseudomonas aeruginosa* memiliki taxonomi sebagai berikut (Ismianni, 2017; Listiani, 2014; Rolsma et al., 2015; Todar, 2012; Fujitani et al., 2015) :

Kingdom : Bacteria  
Phylum : Proteobacteria  
Kelas : Gamma Proteobacteria  
Ordo : Pseudomonadales  
Subordo : Pseudomonadinae  
Famili : Pseudomonadaceae  
Genus : Pseudomonas  
Spesies : *Pseudomonas aeruginosa*

Struktur tubuh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dapat dibagi menjadi beberapa bagian yaitu protoplasma yang didalamnya terdapat membran sel, DNA, dan plasmid; dinding sel yang terdiri dari 2 lapis peptidoglikan; kapsul Lipopolisakarida (LPS) yang menyelubungi dinding sel yang berfungsi untuk melindungi bakteri dari antibodi sel inang, lipopolisakarida *Pseudomonas aeruginosa* kurang bersifat toksik jika dibandingkan dengan basil gram negatif yang lainnya (Wu et al., 2015; Li et al., 2015); flagel yang berfungsi sebagai alat gerak bakteri; dan vili yang berfungsi sebagai alat lekat bakteri ke sel inang. Plasmid merupakan materi genetik di luar kromosom yang terdapat dalam sitoplasma mikroba. Plasmid dapat membawa gen resisten terhadap antibiotik (Rusli, 2018; Listiani, 2014).





Gambar 2. Struktur tubuh *Pseudomonas aeruginosa* (Rusli, 2018)

*Pseudomonas aeruginosa* tumbuh dengan baik pada suhu 25°C hingga 37°C dan kemampuannya bertumbuh pada suhu 42°C membantu membedakannya dengan spesies *Pseudomonas* yang lain. Bakteri ini juga bersifat oksidase positif, nonfermenter, tetapi beberapa strain mengoksidasi glukosa. *Pseudomonas aeruginosa* membentuk koloni bulat halus, dengan fluoresen kehijauan. *Pseudomonas aeruginosa* juga sering memproduksi pigmen kebiruan yang disebut piosianin, spesies *Pseudomonas* yang lain tidak memproduksi pigmen ini (Brooks et al., 2005; Dewi, 2008; Todar, 2008; Wu et al., 2015; Li et al., 2015).

Seperti anggota lainnya dari genus *Pseudomonas*, *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri yang hidup bebas yang sering

terdapat pada tanah dan air, namun secara reguler terdapat pada permukaan tanaman dan jarang ditemukan pada hewan. Bakteri dari



genus *Pseudomonas* merupakan salah satu bakteri yang bersifat patogen terhadap tanaman. Walaupun demikian, saat ini *Pseudomonas aeruginosa* semakin dikenal sebagai patogen oportunistik pada manusia (Todar, 2012). *Pseudomonas aeruginosa* menyebabkan infeksi yang serius pada pasien dengan sistem imun yang lemah yang menderita kanker, dan pasien dengan luka bakar berat, dan fibrosis kistik (CDC, 2018; Davodian et al., 2015; Farshadzadeh et al., 2014; Shacheraghi et al., 2010; Ullah et al., 2017; Wu et al., 2015).

Genom *Pseudomonas aeruginosa* terdiri dari kromosom tunggal. *Pseudomonas aeruginosa* memiliki genom yang relatif besar (5,5–7 Mb). Akibat genom yang besar, *Pseudomonas aeruginosa* mengkode enzim dalam jumlah besar untuk berbagai macam jalur metabolik. Sekitar 8% dari genom mengkode gen regulatori, sehingga memungkinkan bakteri untuk beradaptasi dan bertumbuh di lingkungan yang kompleks (Ullah et al., 2017; Wu et al., 2015).

Infeksi oleh *Pseudomonas aeruginosa* sangat sulit untuk dieradikasi akibat resistensinya yang tinggi terhadap antibiotik. Tiga mekanisme resistensi *Pseudomonas aeruginosa* yang paling sering yaitu akibat adanya gen resisten, pompa effluks, dan impermeabilitas membran (Lin et al.; 2012; Livermore, 2002; Poole et al., 2011;

ajjohi et al., 2011; Wu et al., 2015).



## B. Antibiotik

Antibiotik atau yang biasa disebut sebagai antibakteri adalah senyawa kimia yang berasal dari mikroorganisme atau diproduksi secara sintesis untuk menghambat atau membunuh bakteri dan mengobati infeksi (BioMerieux, 2008; Gregory, 2018). Antibiotik merupakan bahan kimiawi yang dihasilkan oleh organisme seperti bakteri dan jamur, yang dapat mengganggu mikroorganisme lain. Biasanya bahan ini dapat membunuh bakteri (bakterisidal) atau menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik) atau mikroorganisme lain. Beberapa antibiotik bersifat aktif terhadap beberapa spesies bakteri (berspektrum luas) sedangkan antibiotik lain bersifat lebih spesifik terhadap spesies bakteri tertentu (berspektrum sempit) (Bezoen dkk, 2001).

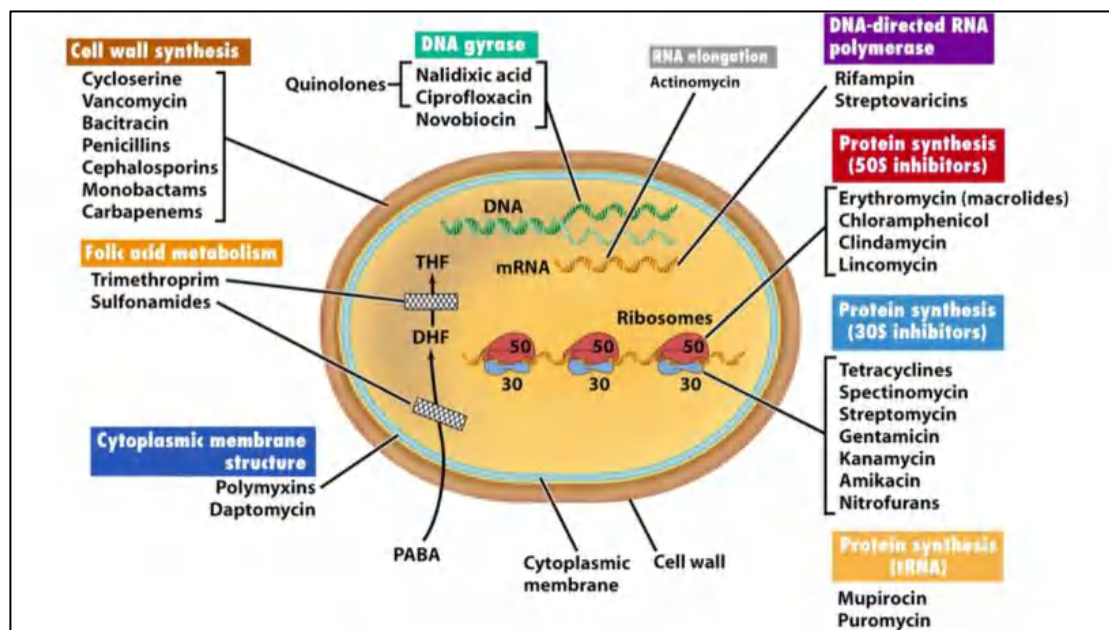
Antibiotik yang berbeda memiliki berbagai macam target yang berbeda pada bakteri yaitu pada dinding sel dan membran sel, ribosom, asam nukleat, metabolisme seluler bakteri, dan enzim seluler bakteri. Terdapat berbagai macam mekanisme yang berbeda mengenai kerja agen ini menghambat multiplikasi dan pertumbuhan, dan membunuh bakteri, beberapa diantaranya yaitu (Gambar 3) (Bbosa, 2014; Canina, 2011; Maczulak, 2011; Mahon et al., 2015) :

- 1) Menghambat sintesis dinding sel bakteri, termasuk golongan  $\beta$ -lactam, penisilin, sefalosporin, dan carbapenem dan golongan lainnya seperti cycloserine, vankomisin, dan bacitracin. Berlangsung langsung pada membran sel mikroorganisme, meningkatkan



permeabilitas dan menyebabkan kebocoran senyawa intraseluler, seperti polimiksin, anti jamur misalnya nistatin dan amfoterisin B.

- 3) Menghambat sintesis protein dengan mengganggu fungsi subunit ribosom 30S atau 50S, seperti kloramfenikol, tetrasiklin dan gentamicin.
- 4) Mempengaruhi metabolisme asam nukleat bakteri, seperti rifampisin yang menghambat enzim RNA polimerase dan kuinolon yang menghambat enzim topoisomerase.
- 5) Menghambat metabolisme asam folat, seperti trimetoprim dan sulfonamid yang menahan enzim-enzim dari metabolisme folat.



Gambar 3. Mekanisme Kerja Antibiotik: (1) Menghambat sintesis dinding sel, (2) Merusak membran sel, (3) Menghambat sintesis protein, (4) Menghambat sintesis asam nukleat, (5) Menghambat metabolisme asam folat (Bbosa, G.S., 2014)



Antibiotik  $\beta$ -laktam diklasifikasikan menjadi beberapa kelas seperti yang tercantum pada Tabel 1.

Tabel 1. Klasifikasi Antibiotik  $\beta$ -Lactam

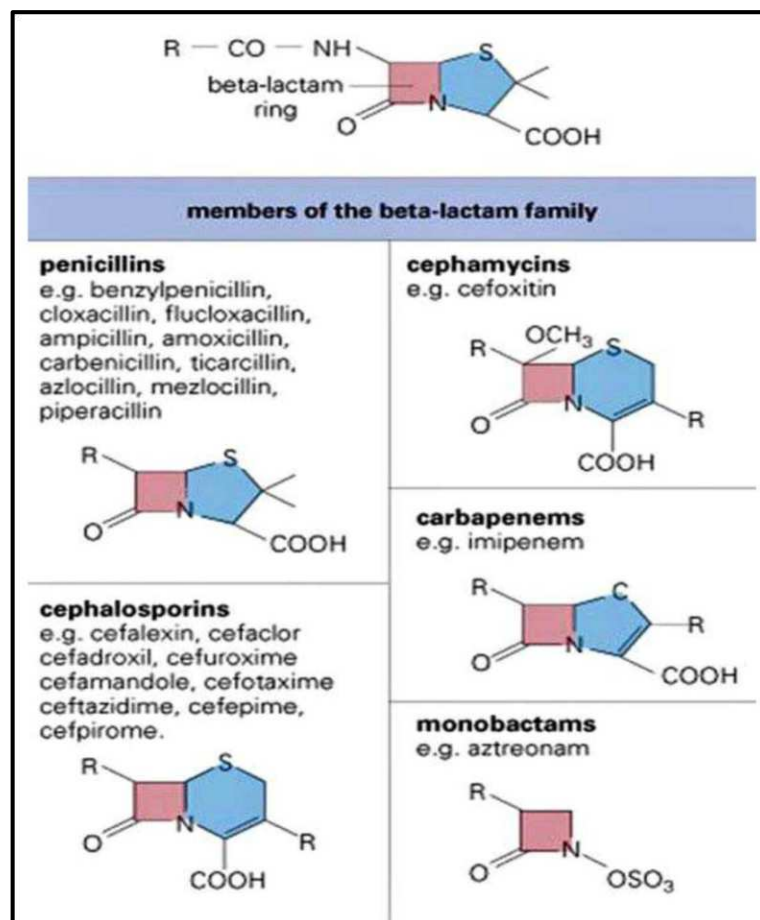
Kelas	Subkelas	Nama Generik
<i>Penicillin</i>	<i>Penicillin</i>	<i>Penicillin</i>
	<i>Aminopenicillin</i>	<i>Amoxicilin, Ampicilin</i>
	<i>Ureidopenicillin</i>	<i>Piperacillin, Aziocillin, Meziocillin</i>
	<i>Carboxypenicillin</i>	<i>Carbenicillin, Ticarcillin</i>
	<i>Amidinopenicillin</i>	<i>Mecillinam</i>
	<i>Penicillinase stable penicillin</i>	<i>Methicillin, Dicloxacillin, Cloxacillin, Oxacilin, Nafcillin</i>
Kombinasi $\beta$ - <i>lactam dan inhibitor</i> <i><math>\beta</math>-lactamase</i>		<i>Piperacillin-tazobactam, Ticarcillin- asam Clavulanat, Amoxicillin-asam clavulanat, Ampicillin-sulbactam</i>
<i>Cephem (parenteral)</i>	<i>Cephalosporin I</i>	<i>Cefazolin, Cephalothin, Cephapirin, Cephradine</i>
	<i>Cephalosporin II</i>	<i>Cefuroxime, Cefamandole, Cefonicid</i>
	<i>Cephalosporin III</i>	<i>Cefotaxime, Ceftrizoxime, Ceftriaxone, Cefoperazone, Cefazidime</i>
	<i>Cephalosporin IV</i>	<i>Cefepime</i>
	<i>Cephalosporin with anti-MRSA activity</i>	<i>Ceftaroline, Ceftobiprole</i>
	<i>Cephamicin</i>	<i>Cefmetazole, Cefoxitin, Cefotetan</i>
	<i>Oxacephem</i>	<i>Moxalactam</i>
<i>Cephem (oral)</i>	<i>Cephalosporin</i>	<i>Cefadroxil, Cefdinir, Cefditoren, Cefetamet, Cefixime, Cefuroxime, Cefprozil, Ceftributen, Cephalexin, Cephradine, Cefpodoxime, Cefaclor</i>
	<i>Carbacephem</i>	<i>Loracarbef</i>
<i>Monobactam</i>		<i>Aztreonam</i>
<i>Penems</i>	<i>Carbapenem</i>	<i>Meropenem, Imipenem, Ertapenem, Doripenem, Razupenem</i>
	<i>Penem</i>	<i>Faropenem, Sulopenem</i>

er: CLSI, 2017; MIMS, 2012





Antibiotik  $\beta$ -laktam memiliki struktur cincin beta-laktam, yaitu struktur kimia yang tersusun dari tiga karbon dan satu nitrogen, sisi rantai lain yang berhubungan dengan cincin *beta lactam* menggambarkan variasi grup antibiotik dan melekat pada struktur inti melalui ikatan peptida (Gambar 2) (Hmiedan, M.A., 2010).



Gambar 4. Struktur Antibiotik  $\beta$ -Lactam. R= perbedaan rantai samping menentukan derajat aktivitas dan sifat farmakologi, warna merah= cincin  $\beta$ -lactam, warna biru= cincin thiazolidine (Hmiedan, M.A., 2010)



### C. *Extended Spectrum Beta-Lactamase (ESBL)*

*Beta-Lactamase* ( $\beta$ -lactamase, *bla*) adalah enzim yang dihasilkan oleh beberapa bakteri yang berfungsi untuk melawan/mempertahankan diri terhadap serangan antibiotik  $\beta$ -lactam. Antibiotik golongan ini memiliki unsur yang sama dalam struktur molekul yaitu 4 cincin atom (3 cincin karbon dan satu nitrogen) yang dikenal sebagai  $\beta$ -lactam. Enzim *Beta-lactamase* bekerja dengan merusak cincin dan menonaktifkan sifat anti bakteri molekul ini (Paterson, et al, 2005; Ryan, et al. 2014).

*Extended spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL)* merupakan enzim yang dikode oleh plasmid bakteri gram negatif. Keberadaan enzim ESBL dapat menghidrolisis cincin  $\beta$ -laktam pada antimikroba cefalosforin spektrum luas. Oleh sebab itu, adanya enzim ini menyebabkan bakteri gram negatif resisten terhadap antibiotik beta laktam seperti golongan penicillin, ceftazidime, ceftriaxone, cefotaxime, dan oxyimino-monobactam. Karbapenem dan cephamycin efektif terhadap strain yang memproduksi ESBL. Secara umum, ESBL diinhibisi oleh asam klavulanat dan tazobactam. ESBL ditemukan pada bakteri gram negatif, terutama pada *Enterobacteriaceae* dan *Pseudomonas aeruginosa*. (Ghafourian et al., 2015; Kaisse et al., 2015; Paterson et al., 2005; Ryan et al., 2014; Turner, 2005).



### a. Klasifikasi $\beta$ -laktamase

Terdapat dua klasifikasi  $\beta$ -laktamase yang paling dikenal yaitu klasifikasi fungsional oleh Bush, Jacoby, dan Medeiros yang membagi  $\beta$ -laktamase berdasarkan substrat dan profil inhibitornya; dan skema  $\beta$ -laktamase yang dibuat oleh Ambler yang membagi  $\beta$ -laktamase berdasarkan urutan asam aminonya menjadi empat kelas yaitu A, B, C, dan D. Berdasarkan skema Bush, Jacoby dan Medeiros,  $\beta$ -laktamase dibagi menjadi empat kelompok, yaitu kelompok 1 sampai 4. Klasifikasi  $\beta$ -laktamase ini tampak pada Tabel 2 (Bush et al., 1995; Ghafourian et al., 2015; Lee et al., 2005; Hall et al., 2005; Drawz et al., 2010).



Tabel 2. Klasifikasi  $\beta$ -laktamase

Active site	Molecular class	Functional class	Typical enzymes	Enzyme characteristics	
				Typical substrates	Inhibitors <sup>a</sup>
Serine	A	2a	Staphylococcal penicillinases	Penicillins	CA, TZB
		2b	TEM-1, SHV-1	Penicillins, narrow-spectrum cephalosporins	CA, TZB
		2be	ESBLs <sup>b</sup> (TEM, SHV, CTX-M families)	Penicillins, cephalosporins, monobactams (aztreonam)	CA, TZB
		2br	TEM-IRT enzymes, SHV-10	Penicillins, narrow-spectrum cephalosporins	TZB active Resistant to CA
		2c	PSE-1	Penicillins, including carbenicillin	CA
		2e	<i>Proteus</i> and <i>Bacteroides</i> cephalosporinases	Cephalosporins	CA
		2f	SME and KPC families; IMI-1	Penicillins, cephalosporins, carbapenems	CA, TZB
Serine	C	1	AmpC, Chromosomal cephalosporinases	Cephalosporins	Aztreonam, cloxacillin
Serine	D	2d	OXA-1, OXA-10	Penicillins, including cloxacillin/oxacillin	(CA) <sup>d</sup>
		2de	OXA-ESBLs	Penicillins, including cloxacillin/oxacillin; cephalosporins except cepharmydis	(CA) <sup>d</sup>
		2df	OXA-24, OXA-40	Penicillins, including cloxacillin/oxacillin; carbapenems	CA
Zinc	B	3	L1, CcrA, VIM-and IMP families	Penicillins, cephalosporins, carbapenems, but not aztreonam	EDTA

Sumber : Matsuura, 2015



mpok 1 (Ambler Kelas C)  $\beta$ -laktamase (juga dikenal sebagai enzim C)

Kelompok ini resisten terhadap inhibitor  $\beta$ -laktamase seperti klavulanat dan terutama ditemukan pada kromosom. Enzim pada kelas ini bersifat diinduksi, sehingga paparan bakteri terhadap antibiotik  $\beta$ -laktam menyebabkan peningkatan produksi enzim ini. Antibiotik beta-laktam berbeda-beda, sehingga antibiotik ini dapat merangsang produksi beta-laktamase dengan kadar yang berbeda-beda. Enzim kelompok 1 ditemukan pada famili *Enterobacteriaceae* dan *P.aeruginosa*. Penelitian juga menunjukkan bahwa terdapat perpindahan enzim dari kromosom ke plasmid pada beberapa strain seperti *E.coli* dan *Klebsiella* spp. Enzim beta-laktamase kelompok 1 resisten terhadap beta-laktam / kombinasi inhibitor beta-laktamase, penicillin, cephamycin, dan cephalosporin generasi 1, 2, dan 3. Enzim ini sensitif terhadap cefepime dan carbapenem (Ghafourian et al., 2015; Walsh, T.R., 2005; Livermore, D.M., 2002).

b.) Enzim Kelompok 2 (Ambler Kelas A dan D)

Enzim yang diklasifikasikan ke dalam kelompok 2 disimpan dalam plasmid, sehingga enzim ini dapat dengan mudah ditransmisikan ke sel-sel bakteri yang berbeda, menyebabkan penyebaran resistensi yang cepat dari enzim-enzim ini. Inhibitor beta-laktam seperti asam klavulanat, sulbactam, dan tazobactam menghambat enzim-enzim kelompok 2. Enzim-enzim kelompok 2 yang utama yaitu *Temoneira*

) dan *Sulphydril Variabel* (SHV). Selain kedua enzim ini, juga dapat enzim lain seperti VEB, PER, dan *Guiana Extended-Spectrum*



$\beta$ -Lactamase (GES). TEM-1 pertama kali diidentifikasi di tahun 1965 pada famili *Enterobacteriaceae* kemudian ditemukan pada bakteri *Haemophilus*, *Neisseria*, dan *Vibrio* spp.  $\beta$ -laktamase tipe TEM paling sering ditemukan pada *E.coli* dan *K.pneumoniae*, namun demikian, tipe ini juga semakin sering ditemukan pada spesies bakteri gram negatif yang lain. TEM-2, derivat pertama dari TEM-1, memiliki substitusi asam amino tunggal dari  $\beta$ -laktamase awal. TEM-3, yang dilaporkan pada tahun 1989, merupakan tipe TEM  $\beta$ -laktamase pertama yang menunjukkan fenotip ESBL. Beberapa tahun sejak laporan yang pertama, hingga saat ini telah terdapat >90 derivat TEM yang dilaporkan. TEM-42  $\beta$ -laktamase ditemukan pada strain *Pseudomonas aeruginosa* (Bradford, 2001; Ghafourian et al., 2015; Naas, T., 2008; Peymani et al., 2017; Walsh, T.R., 2005).

SHV-1 ditemukan di tahun 1979 dan sering pada *Klebsiella spp* dan *E.coli*. Mayoritas dari varian SHV memiliki fenotip ESBL yang dikarakteristikan dengan substitusi serin terhadap glisin pada posisi 238. Residu serin pada posisi 238 sangat penting untuk hidrolisis yang efisien pada ceftazidime dan residu lisin yang penting untuk hidrolisis cefotaxime yang efisien. Mayoritas dari derivat tipe SHV merupakan fenotip ESBL. Terdapat >25 tipe enzim SHV saat ini. Mayoritas ESBL tipe SHV ditemukan pada strain *K.pneumoniae*. Walaupun demikian,

ini juga dapat ditemukan pada *Citrobacter diversus*, *E.coli*, dan



*P.aeruginosa* (Bradford, 2001; Ghafourian et al., 2015; Walsh, T.R., 2005).

Kebanyakan ESBL ditemukan pada *E.coli*, *K.pneumoniae*, dan *Enterobacteriaceae* yang lain, namun ESBL tipe OXA terutama ditemukan pada *P.aeruginosa*. Beberapa enzim ESBL tipe OXA merupakan derivat dari OXA-10 (OXA-11, -14, -16, dan -17). OXA-14 berbeda satu residu asam amino dari OXA-10, OXA-11 dan OXA-16 berbeda dua residu, dan OXA-13 dan OXA-19 berbeda sembilan residu. Di antara enzim-enzim yang berhubungan dengan OXA-10, varian ESBL memiliki satu dari dua substitusi asam amino, yaitu : asparagin terhadap serin pada posisi 73 atau aspartat terhadap glisin pada posisi 157. Substitusi Gly157Asp berperan penting dalam resistensi tingkat tinggi terhadap ceftazidime. OXA-15 merupakan derivat dari OXA-2 (Bradford, 2001).

GES-1 pertama kali ditemukan pada isolat *K.pneumoniae* dari pasien neonatus yang ditransfer dari French Guiana ke Perancis. Enzim di kelompok 2 ini dapat menghidrolisis ampisillin dan cephalosporin generasi 1, 2, dan 3, juga monobactam (yaitu *Extended spectrum beta-lactamase* atau ESBL) (Ghafourian et al., 2015; Walsh, T.R., 2005; Livermore, D.M., 2002; Shaikh et al., 2014).

### c.) Enzim Kelompok 3 (Ambler Kelas B)

Kelompok ini merupakan metallo-enzim yang dapat menghancurkan karbapenem. Enzim ini sering ditemukan pada



*P.aeruginosa*, *Bacteriodes fragilis* dan *Stenotrophomonas maltophilia* (Ghafourian et al., 2015; Walsh, T.R., 2005; Livermore, D.M., 2002).

d.) Kelompok 4  $\beta$ -laktamase

Beta-laktamase kelompok 4 mengandung penisilinase yang tidak dapat dihambat oleh asam klavulanat. Enzim kelompok ini menunjukkan angka hidrolisis yang tinggi terhadap carbenicillin dan/atau cloxacillin. Beberapa menunjukkan sifat yang tidak biasanya dalam hubungan dengan ion metal. Belum diketahui apakah enzim-enzim ini menggambarkan kelas molekuler beta-laktamase yang lain (Ghafourian et al., 2015; Walsh, T.R., 2005; Livermore, D.M., 2002).

**b. OXA  $\beta$ -laktamase (*bla*<sub>OXA</sub>)**

Enzim  $\beta$ -laktamase tipe OXA-2 disandi oleh gen OXA-2 yang dapat dideteksi menggunakan PCR pada 700 *base pair* (bp). Enzim tipe OXA  $\beta$ -laktamase termasuk dalam kelas molekuler D dan kelompok fungsional 2d.  $\beta$ -laktamase tipe OXA menyebabkan resistensi terhadap ampicillin dan cephalothin dan dikarakteristikkan oleh aktivitas hidrolisisnya yang tinggi terhadap oxacillin dan cloxacillin, tipe ini tidak terlalu dapat dihambat oleh asam klavulanat.

ESBL tipe OXA-2 sering dideteksi pada *Pseudomonas*. Tipe ini pertama kali dilaporkan pada *E.coli* di Israel pada tahun 2005. ESBL

OXA-2 *like* mengalami mutasi dari enzim laktamase parentalnya. macam enzim ini yang memiliki mutasi pada posisi yang sama, pada OXA-15 terdapat substitusi glisin terhadap aspartat pada



posisi 149, dan OXA-36 terdapat substitusi tirosin terhadap aspartat pada posisi 149. Perbedaan substitusi asam amino glisin dan tirosin menunjukkan bahwa hilangnya asam amino aspartat merupakan aspek yang lebih penting dalam hidrolisis cefalosforin dibandingkan dengan substitusi kedua asam amino ini (Evans, 2014).

ESBL tipe OXA menyebabkan resistensi tingkat tinggi terhadap transkonjugan *P.aeruginosa*. Berbeda dengan mayoritas gen tipe OXA ESBL yang lain yang menyebabkan resistensi terhadap ceftazidime, OXA-17  $\beta$ -laktamase menyebabkan resistensi terhadap cefotaxime dan ceftriaxone dan hanya menyebabkan perlindungan marginal terhadap ceftazidime. Enzim OXA dikarakteristikan oleh kurangnya inhibisi dari asam klavulanat, namun terdapat laporan bahwa OXA-18  $\beta$ -laktamase dihambat oleh agen ini (Bradford, 2001, Al-Mijalli, S.H.S. 2016).

Tabel 3. Karakteristik ESBL tipe OXA

$\beta$ -Lactamase	Derivation	pI	Amino acid substitutions vs. OXA-10	Country of origin	Bacterial species
OXA-11	OXA-10	6.4	Asn143Ser, Gly157Asp	Turkey	<i>P. aeruginosa</i>
OXA-13	OXA-10	8.0	Ile10Thr, Gly20Ser, Asp55N, Asn73Ser, Thr107Ser, Tyr174Phe, Glu229Gly, Ser245Asn, Glu259Ala	France	<i>P. aeruginosa</i>
OXA-14	OXA-10	6.2	Gly157Asp	Turkey	<i>P. aeruginosa</i>
OXA-15	OXA-2	8.7, 8.9 doublet	NA <sup>a</sup>	Turkey	<i>P. aeruginosa</i>
OXA-16	OXA-10	6.2	Ala124Thr, Gly157Asp	Turkey	<i>P. aeruginosa</i>
OXA-17	OXA-10	6.1	Asn73Ser	Turkey	<i>P. aeruginosa</i>
OXA-18	OXA-9, OXA-12	5.5	NA	France	<i>P. aeruginosa</i>
OXA-19	OXA-10	7.6	Ile10Thr, Gly20Ser, Asp55Asn, Thr107Ser, Gly157Asp, Tyr174Phe, Glu229Gly, Ser245Asn, Glu259Ala	France	<i>P. aeruginosa</i>
OXA-28	OXA-10	7.6	Ile10Thr, Gly20Ser, Thr107Ser, Trp154Gly, Gly157Asp, Tyr174Phe, Glu229Gly, Ser245Asn, Glu259Ala	France	<i>P. aeruginosa</i>

<sup>a</sup> NA, not applicable; these enzymes do not originate from OXA-10.

Sumber : Bradford, 2001





### c. VEB $\beta$ -laktamase (*bla*<sub>VEB</sub>)

Enzim  $\beta$ -laktamase tipe VEB disandi oleh gen VEB yang dapat dideteksi menggunakan PCR pada 643 bp. VEB-1 pertama kali ditemukan pada isolat *E.coli* dan *Klebsiella* pada bayi Vietnam usia 4 bulan yang dirawat di Perancis. Isolasi VEB-1 selanjutnya ditemukan pada strain *P.aeruginosa* dari dua pasien Thailand yang dirawat di Perancis (Naas et al., 2008; Weldhagen et al., 2003). Studi yang dilakukan di rumah sakit universitas di Thailand menemukan gen *bla*<sub>VEB-like</sub> sebesar 93% pada isolat yang resisten ceftazidime, yang mana resistensi ceftazidime terjadi pada 24% isolat *P.aeruginosa*. Dalam studi ini juga diidentifikasi gen *bla*<sub>VEB-1-like</sub>, yaitu gen *bla*<sub>VEB-2</sub>, yang mengalami perubahan satu asam amino dari gen *bla*<sub>VEB-1</sub>. VEB-1 menghidrolisis cefotaxime lebih baik daripada ceftazidime. Tipe ESBL ini secara moderat diinhibisi oleh asam klavulanat dan imipenem, serta diinhibisi dengan baik oleh cefoxitin (Weldhagen et al., 2003)

### d. PER $\beta$ -laktamase (*bla*<sub>PER</sub>)

Enzim  $\beta$ -laktamase tipe PER disandi oleh gen PER yang dapat dideteksi menggunakan PCR pada 340 bp. PER-1  $\beta$ -laktamase efisien dalam menghidrolisis penicillin dan sefalosforin, namun tidak dapat menghidrolisis karbapenem dan cephamycin. ESBL tipe ini peka dapat inhibisi oleh asam klavulanat, cefoxitin, sulbaktam, dan baktam (Shaikh et al., 2014; Weldhagen et al., 2003;



Farshadzadeh et al., 2014). PER-1 pertama kali dideteksi pada *P.aeruginosa* pada pasien Turki yang dirawat di Perancis (Farshadzadeh et al., 2014; Neuhauser et al., 2003) dan kemudian ditemukan pada *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* dan isolat *Acinetobacter*. Di Turki, sebanyak 46% isolat *Acinetobacter spp.* dan 11% isolat *P.aeruginosa* ditemukan memproduksi PER-1. PER-2 homolog sebesar 86% terhadap PER-1 dan ditemukan pada *S.enterica* serovar *Typhimurium*, *E.coli*, *K.pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, dan *Vibrio cholerae* (Shaikh et al., 2014).

#### D. Mekanisme Resistensi Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

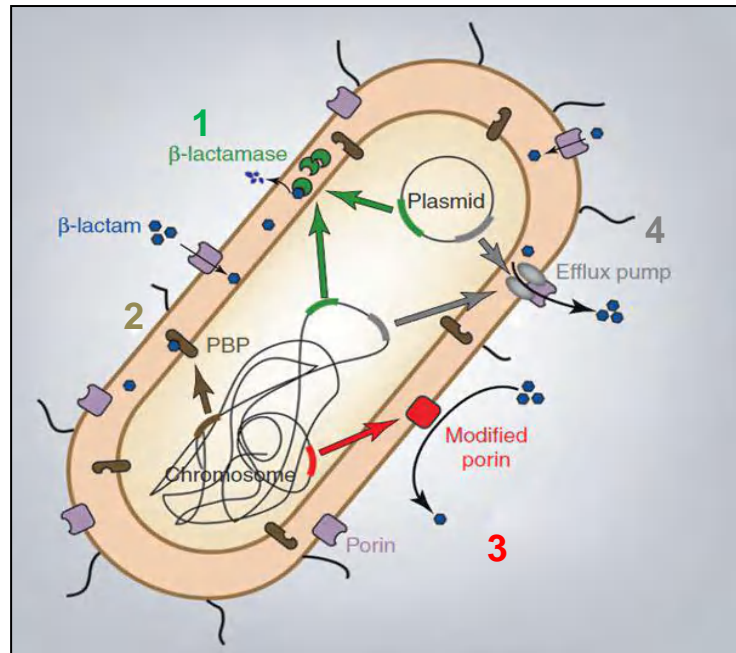
Mekanisme resistensi bakteri terhadap antibiotik  $\beta$ -lactam termasuk ceftazidime terdiri dari empat mekanisme seperti yang diperlihatkan pada Gambar 5 (Babic, M., 2006; Ryan, et al, 2014; Nordmann, 2012), yaitu :

- a. Produksi enzim  $\beta$ -lactamase yang merupakan mekanisme paling penting dan paling sering pada bakteri gram negatif.
- b. Perubahan pada *active site penicillin-binding protein* (PBP) dapat menurunkan afinitas terhadap antibiotik  $\beta$ -lactam dan akhirnya meningkatkan resistensi terhadap antibiotik tersebut.
- c. Penurunan ekspresi *outer membrane proteins* (OMP). Antibiotik  $\beta$ -

harus berdifusi atau langsung melalui saluran porin yang terdapat pada *outer membrane* dinding sel bakteri.



- d. *Efflux pumps* yang menyebabkan bakteri dapat mengeluarkan substrat antibiotik dari periplasma ke luar sel. Mekanisme ini merupakan penentu penting resistensi *multidrug* pada bakteri gram negatif.



Gambar 5. Mekanisme Resistensi Bakteri: (1) Produksi enzim  $\beta$ -lactamase, (2) Perubahan pada *active site* PBP, (3) Penurunan ekspresi OMP dan (4) *Efflux pumps* (Nordmann, 2012).