

STUDI MOLEKULER GEN *oxa-23* PADA ISOLAT BAKTERI *Acinetobacter baumannii* RESISTEN TERHADAP ANTIBIOTIK KARBAPENEM DI RSUP SANGLAH DENPASAR

Nyoman Try Yuliani Pertiwi, Ni Nyoman Sri Budayanti²

¹Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Udayana

²Divisi Mikrobiologi Bagian / SMF Mikrobiologi Klinik / RSUP Sanglah Denpasar

ABSTRAK

Acinetobacter baumannii merupakan bakteri gram negatif yang berkaitan dengan resistensi berbagai jenis obat dan sebagian besar infeksi yang terjadi di rumah sakit termasuk penggunaan ventilator pada pasien pneumonia, meningitis, peritonitis, infeksi saluran kencing, dan infeksi luka. Proses resistensi antibiotik dimediasi oleh gen *oxa* terutama subtype gen *oxa-23* yang memiliki prevalensi tertinggi penyebab resistensi. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui prevalensi gen *oxa-23* pada isolat *A.baumannii* yang resisten di RSUP Sanglah Denpasar dengan menggunakan teknik molekuler. Penelitian ini menggunakan desain *cross sectional* dengan menggunakan 30 isolat yang diambil dari darah (11,76%) sputum (14,7%) sputum selang (35,29%) urin (17,65%) pus (2,94%) luka (5,88%) dan lain-lain (11,76%). Penelitian ini mendapatkan hasil sejumlah 16 isolat positif gen *oxa-23* dari total 30 isolat bakteri *Acinetobacter baumannii* sebanyak 5 isolat berasal dari sputum selang, 3 isolat berasal dari darah, 2 isolat berasal dari sputum, 1 isolat dari urin, 1 isolat berasal dari lukan dan 4 isolat berasal dari spesimen yang lainnya. Hasil penelitian ini adalah 47,05% isolat *Acinetobacter baumannii* yang resisten dengan antibiotik karbapenem positif menunjukkan gen *oxa-23*.

Kata kunci: *Acinetobacter baumannii*, *oxa-23*

ABSTRACT

Acinetobacter baumannii is a gram negative bacterial that connected with multidrugs-resistant and most of infection that happen in hospitals, included ventilator uses on pneumonia, meningitis, peritonitis, urinary bladder infection and wound infection. Antibiotic resistant is mediated by *oxa* gene and has subtype of *oxa-23* gene that founded as the highest prevalence of resistant. Aim of this study was to know the prevalence of *oxa-23* gene among *Acinetobacter baumannii* isolate that resistant in RSUP Sanglah Denpasar by molecular technical (PCR). A cross sectional study was conducted with total sample 30 isolates from blood (11.76%), sputum (14,7%), hose sputum (35.29%), urine (17.65%), puss (2.94%), wound (5.88%), and others (11.76%). A total of 16 isolated showed the presence of *oxa-23* gene from 30 isolates of *Acinetobacter baumannii* with a total amount of 5 isolates from hose sputum, 3 isolates from the blood, 2 isolates from sputum, 1 isolate from urine, 1 isolate from wound and 4 isolates from other specimens. The result of this experiment is 47,05% *Acinetobacter baumannii* isolate that resistant with carbapenem antibiotic positive gene *oxa-23*.

Keywords: *Acinetobacter baumannii*, *oxa-23*, PCR

PENDAHULUAN

Acinetobacter baumannii merupakan bakteri gram negatif yang berhubungan dengan resistensi berbagai jenis obat dan sebagian besar infeksi yang terjadi di rumah sakit termasuk

penggunaan ventilator pada pasien pneumonia, meningitis, peritonitis, infeksi saluran kencing, dan infeksi luka.¹ Bakteri *A.baumannii* menempati peringkat ketiga sebagai penyebab tersering dari penyakit pneumonia yang didapatkan di rumah

sakit pada 10 negara di benua Asia dan tersering ditemukan pada penggunaan ventilator pada infeksi pneumonia. Angka kematian kasus penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri *A.baumannii* mencapai 23% pada pasien rawat inap di rumah sakit dan 43% pada pasien dalam perawatan intensif.² Adanya peningkatan insiden infeksi *A.baumannii* juga disertai dengan peningkatan kejadian resistensi terhadap antibiotik, peningkatan morbiditas dan mortalitas akibat infeksi bakteri ini. Wabah infeksi nosokomial yang terjadi secara berulang dipercepat dengan beberapa faktor intrinsik seperti; toleransi bakteri terhadap pengeringan, kelangsungan hidup dan pertumbuhan pada berbagai suhu dan derajat keasaman, resistensi terhadap berbagai jenis antibiotik yang membantu pada penyebaran isolat antar pasien di lingkungan rumah sakit.

Bakteri *A.baumannii* telah dianggap sebagai organisme penyebab resistensi berbagai jenis obat karena meningkatnya kegagalan sebagian besar terapi utama. Kedua mekanisme resisten secara didapat atau intrinsik dapat menyebabkan resistensi berbagai jenis obat. Kemampuan untuk mendapatkan perlawanan terhadap mekanisme obat karena unsur genetik yang membawa

penentu resistensi obat atau mutasi yang mempengaruhi ekspresi dari porin atau bisa juga dengan mekanisme *efflux pump* yang dapat mengurangi aktifitas dari agen antimikroba terkait.³

Hal ini menunjukkan bahwa membrane luar bakteri *A. baumannii* berperan sebagai penghalang terhadap penetrasi antibiotik tersebut. Mekanisme utama yang mendasari resistensi berbagai jenis antibiotik dapat digabungkan menjadi ; produksi enzim yang terhidrolisasi seperti contohnya beta-laktamase terhidrolisis oleh berbagai jenis beta-laktamase (kelas A sampai D beta laktamase), perubahan pada protein pengikat penicillin yang menghalangi aktifitas beta-laktamase, perubahan pada struktur dan nomor protein porin yang menghasilkan penurunan permeabilitas terhadap antibiotik melalui membrane terluar dari sel bakteri dan aktifitas dari *efflux pump* yang kemudian mengurangi konsentrasi antibiotik pada sel bakteri. *A. baumannii* dapat dengan mudah mengekspresikan resistensi terhadap antibiotik berspektrum luas beta-laktam (generasi ketiga *cephalosporins*, *carboxypenicillins* dan karbapenems).⁴

Data di Rumah Sakit Umum Pusat (RSUP) Sanglah periode bulan Juli-Desember 2014 didapatkan tingkat

kepekaan bakteri *A. baumannii* sebesar 39 %, dengan tingkat resistensi terhadap obat golongan karbapenem yaitu imipenem sebanyak 50 dari 217 bakteri yang ditemukan dan pada meropenem sebanyak 37 dari 217 bakteri yang ditemukan. (SMF mikrobiologi klinik FK UNUD/RSUP Sanglah, 2015) Secara umum karbapenem lebih aktif dan resisten terhadap beta-laktamase spectrum luas dan kromosom *AmpC* beta-laktamase aktif karena memiliki karakteristik dari rantai lateral yang terkandung di struktur kimiawinya. Resistensi komponen ini di mediasi oleh enzim karbapenemases yang memiliki tiga kelas molekular berdasarkan klasifikasi Ambler. Ketiga kelas tersebut adalah kelas A yang termasuk beta-laktamase yang memiliki serin pada sisi yang aktif dan dihambat oleh asam klavulanat. Kelas A merupakan bagian dari kelompok fungsional Bush 2F dan telah terdeteksi terutama di *Enterobacteriaceae*. Kelas B meliputi metallo-beta-laktamase (MBL) yang merupakan bagian dari gugus fungsional 3. Kelas D yang merupakan kelas molekular ketiga disebut jenis *oxa*-karbapenemases yang termasuk dalam kelompok fungsional 2D. Penyebaran beta-laktamase dengan aktifitas karbapenemase pada bakteri *A. baumannii* dimediasi oleh

gen *oxa* yang paling spesifik pada spesies ini.^{2,3}

Saat ini telah ditemukan subgroup poligenik dari gen *oxa* pada bakteri *A. baumannii* yaitu ; *oxa-23-like*, *oxa-40-like*, *oxa-51-like*, dan *oxa-58-like*.⁵ Diantara gen *oxa* tersebut didapatkan data bahwa, gen *oxa* - 23 diakui sebagai sumber utama resistensi karbapenem karena penyebaran yang luas dari produksi *oxa-23* pada isolat *A. baumannii*. Berdasarkan tingginya resistensi bakteri *A. baumannii* terhadap antibiotik golongan karbapenem yang di dominasi oleh gen *oxa-23* maka penulis ingin melakukan studi prevalensi gen *oxa-23* pada isolat *A. baumannii* di Rumah Sakit Umum Pusat Sanglah Denpasar.

BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian ini adalah deskriptif observasional *cross sectional* yang dilakukan selama bulan Februari - November 2015. Penelitian dilakukan di Laboratorium Biomol Fakultas Kedokteran Universitas Udayana untuk proses *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Subkultur dilakukan di bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana.

Sampel penelitian diambil dari isolat bakteri *A. baumannii* yang resisten terhadap antibiotik golongan karbapenem di Laboratorium Mikrobiologi klinik Rumah Sakit Umum Sanglah Denpasar Bali. Kriteria inklusi yang digunakan yaitu stok isolat bakteri *A. baumannii* yang resisten pada tahun 2013-2015 di laboratorium mikrobiologi klinik RSUP Sanglah dan *non-duplicated* sampel. Kriteria eksklusi adalah Stok bakteri yang pada waktu ditumbuhkan tidak murni dan isolat bakteri yang *heterogen*.

Jumlah sampel yang dibutuhkan sejumlah 20 isolat yang diambil dari Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Umum Pusat Sanglah. Sampel yang didapat kemudian dilakukan subkultur dan isolasi DNA untuk mendapatkan DNA murni selanjutnya akan dilakukan proses PCR dengan menggunakan primer *oxa-23* (F) : GATGTGTCATAGTATTCGTCGT dan *oxa-23* (R) TCACAACAATAAAAGC ACTGT⁷. Cara kerja PCR dengan melalui

proses pre-denaturasi, denaturasi, annealing dan final ekstensi untuk menyempurnakan panjang pita. Proses selanjutnya adalah elektroforesis dan kemudian hasilnya dianalisis dengan menggunakan Gel Doc (UV *translumination*) dan hasilnya dikatakan positif jika ditemukan pita sebesar 1.058 bp.

HASIL

Sejumlah 30 isolat klinis bakteri *Acinetobacter* telah diuji dalam penelitian ini. Seluruh isolat didapatkan dari Instalasi Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Umum Pusat Sanglah pada tahun 2013 dan 2015. Distribusi data sampel tersedia dalam tabel 1 sebagai berikut

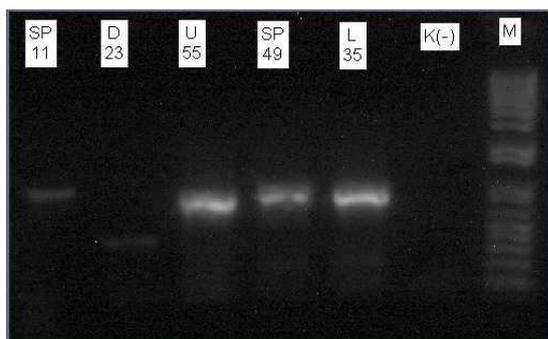
Jenis sampel	Total sampel
Sputum	11 (35,29%)
Darah	3 (14,7%)
Urin	4 (11,76%)
Luka	5 (17,65%)
Pus	2 (5,88%)
Lain-lain	1 (2,94%)
Total	30 (100%)

Tabel 2 Tabel optimasi

Optimasi	Temperatur	Waktu	Siklus	Hasil
I	Pre-denaturasi 94-95 ⁰ C	2 menit	1x	Dari 5 isolat yang dilakukan penelitian terdapat 4 isolat positif gen <i>oxa-23</i> . (Gambar 1)
	Denaturasi 94-95 ⁰ C	1 menit	} 35x	
	Analling 52 ⁰ C	1 menit		
	Ekstensi 72 ⁰ C	1,5 menit		
	Final ekstensi 72 ⁰ C	7 menit	1x	
II	Pre-denaturasi 94-95 ⁰ C	2 menit	1x	Dari 4 isolat yang dilakukan penelitian terdapat 4 isolat positif gen <i>oxa-23</i> . (Gambar 2)
	Denaturasi 94-95 ⁰ C	1 menit	} 35x	
	Analling 57 ⁰ C	1 menit		
	Ekstensi 72 ⁰ C	1,5 menit		
	Final ekstensi 72 ⁰ C	7 menit	1x	

PEMBAHASAN

Hasil penelitian dikatakan positif ditemukan band sebesar 1.058 bp. Pada gambar 1, hasil isolat positif gen *oxa-23* sejumlah 4 isolat dari total 5 isolat diteliti.



⁵Gambar 1. Optimasi

Sebuah penelitian yang dilakukan di Rumah Sakit Universitas Larissa di Thessaly, Yunani pada bulan Juli 2012 – Desember 2011 dengan jumlah sampel sebanyak 174 menunjukkan bahwa frekuensi isolat gen *oxa-23* mengalami peningkatan pada tingkat resistensi karbapenam di bakteri *A. baumannii*.⁶ Dari jumlah spesimen yang diteliti didapatkan hasil 16 isolat positif dari 30 total isolat dan menghasilkan prevalensi sebanyak 47,05%. Hasil ini mendukung penelitian yang dilakukan di UGD Rumah

Sakit Cipto Mangunkusumo Jakarta pada tahun 2011 yang ditemukan prevalensi resistensi antibiotik golongan karbapenem mencapai 50,5% dari 42 isolat resisten antibiotik karbapenem.⁸

Tabel 3. Hasil Penelitian

Jenis Sampel	Positif (%)
Sputum selang	5 (14,7%)
Sputum	2 (5,88%)
Darah	3 (8,82%)
Urin	1 (2,94%)
Luka	1 (2,94%)
Pus	0 (0%)
Lain- lain	4 (11,76%)
Total	16 (47,05%)

Dibandingkan dengan hasil penelitian yang dilakukan Byung-Chan Jeon dkk di Korea pada tahun 2005, mendapatkan hasil positif gen *oxa-23* sebanyak 36 dari 52 isolat yang resisten antibiotik karbapenem dan mendapatkan prevalensi sebesar 69,2%. Perbedaan jumlah prevalensi tersebut dipengaruhi oleh jumlah sampel yang berbeda dan lokasi dilakukannya penelitian memiliki beberapa faktor yang menyebabkan bakteri *Acinetobacter baumannii* memiliki daya tahan hidup lebih baik dan

dipengaruhi oleh tingkat kebersihan pada suatu tempat atau negara tersebut.

Bakteri *Acinetobacter baumannii* dapat menyebabkan resistensi terhadap berbagai antibiotik pada bermacam jenis infeksi seperti; bakterimia, infeksi saluran kemih, meningitis dan infeksi luka.⁹ Pada hasil penelitian ini, isolat yang menunjukkan hasil pita positif terdiri dari 3 isolat bersumber dari darah, 1 isolat bersumber dari urin, 2 isolat bersumber dari sputum, 5 isolat bersumber dari sputum selang, 1 isolat bersumber dari luka dan 4 isolat bersumber dari spesimen yang lain. Data tersebut sesuai dengan data surveilans yang dilakukan di benua eropa pada tahun 2009 yang menunjukkan bahwa *Acinetobacter spp* sebagai penyebab penyakit pneumonia sampai dengan 21,8%, infeksi aliran darah hingga 17,1% dan infeksi saluran kemih sejumlah 11,9%, dimana hasil menunjukkan bahwa sumber gen *oxa-23* paling banyak ditemukan pada sputum selang.

SIMPULAN

Simpulan penelitian ini adalah dari 30 isolat bakteri *Acinetobacter baumannii* dari instalasi klinis Laboratorium Mikrobiologi RSUP Sanglah didapatkan hasil bahwa 16 isolat positif gen *oxa-23* (47,05%).

Hasil positif didapatkan dari 3 isolat yang bersumber dari darah, 1 isolat bersumber dari urin, 2 isolat bersumber dari sputum, 5 isolat bersumber dari sputum selang, 1 isolat bersumber dari luka dan 4 isolat bersumber dari spesimen yang lain.

DAFTAR PUSTAKA

1. K. Prashanth, T. Vasanth, R. Saranathan, Abhijith R. Makki and Sudhakar Pagal. 2012. *Antibiotic Resistance, Biofilms and Quorum Sensing in Acinetobacter Species, Antibiotic Resistant Bacteria. A Continuous Challenge in the New Millennium*. 2012. p: 180-212.
2. Lisa L. Maragakis, Trish M. Perl. 2008. *Acinetobacter baumannii : Epidemiology, Antimicrobial, Resistance, and Treatment Options*. Antimicrobial Resistance. 2008. p:1254-1263.
3. Smith Clyde A., Antunes Nuno Tiago, K. Stewart Nichole, Toth Marta, Kumarasiri Malika, Chang Mayland, Mobashery Shahriar, Vakulenko Sergei B. 2013. *Structural Basis for Carbapenemase Activity of the OXA-23 β -Lactamase from Acinetobacter baumannii*. Chemistry & Biology .20. 2013. p: 1107–1115.
4. Rasmussen Jan Walther, Høiby Niels . 2006. *OXA-type carbapenemases*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy .57. 2013. p: 373–383
5. Higgins P, Dammhayn C, Hackel M, Seifert H . 2010. *Global spread of carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii*. J Antimicrob Chemother .65. 2010. p: 233-238.
6. Liakopoulos A, Miriagou V, Katsifas EA, Karagouni AD, Daikos GL, Tzouveleki LS, Petinaki E. 2012. *Identification of OXA-23-producing Acinetobacter baumannii in Greece, 2010 to 2011*. Euro Surveill. 17(11). 2012. p: 1-3
7. Byung-Chan Jeon, Seok Hoon Jeong, Il Kwon Bae, Su Bong Kwon, Kyungwon Lee, Dongeun Young, dkk. 2005. Investigation of a Nosocomial Outbreak of Imipenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* Producing the OXA-23 β -Lactamase in Korea. 2005. 43(5), p: 2241-2245.
8. Anis Karuniawati, Yulia R. Saharman, Delly C. Lestari. 2011. *Detection of Carbapenemase Encoding Genes in Enterobacteriaceae, Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii Isolated from Patients at Intensive Care Unit Cipto Mangunkusumo Hospital*. The Indonesian Journal of Internal Medicine. 2011. p:101-106.
9. Fournier PE, Richet H. 2006. *The epidemiology and control of Acinetobacter baumannii in health care facilities*. Clin Infect Dis. 42. 2006. p: 692–9.

