

LAPORAN PENELITIAN

DETEKSI BAKTERI *KLEBSIELLA SPP.* PENGHASIL ESBL (*EXTENDED SPECTRUM β -LACTAMASE*) DARI ISOLAT *ENTEROBACTERIACEAE* DI LABORATORIUM MIKROBIOLOGI RSAL DR.RAMELAN SURABAYA



R.Varidianto Yudo T., dr, M. Kes
NIK.01259

PENELITIAN INI DIDANAI OLEH
UNIVERSITAS HANG TUAH SURABAYA

BAGIAN MIKROBIOLOGI FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HANG TUAH SURABAYA

2012

LAPORAN PENELITIAN

DETEKSI BAKTERI *KLEBSIELLA SPP.* PENGHASIL ESBL (*EXTENDED SPECTRUM β -LACTAMASE*) DARI ISOLAT *ENTEROBACTERIACEAE* DI LABORATORIUM MIKROBIOLOGI RSAL DR.RAMELAN SURABAYA



**R.Varidianto Yudo T., dr, M. Kes
NIK.01259**

**PENELITIAN INI DIDANAI OLEH
UNIVERSITAS HANG TUAH SURABAYA**

**BAGIAN MIKROBIOLOGI FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HANG TUAH SURABAYA**

2012

**HALAMAN PENGESAHAN
LAPORAN PENELITIAN DOSEN**

- | | |
|-----------------------------------|--|
| 1. Judul Penelitian | : Deteksi Bakteri <i>Klebsiella sp.</i> Penghasil ESBL (<i>Extended Spectrum β-Lactamase</i>) Dari Isolat <i>Enterobacteriaceae</i> Di Laboratorium Mikrobiologi RSAL Dr.Ramelan Surabaya |
| 2. a. Bidang Ilmu | : Mikrobiologi |
| b. Kategori Penelitian | : Deskriptif Observasional |
| 3. Ketua Peneliti | : dr.R.Varidianto Yudo T., M.Kes. |
| 4. Jumlah Anggota Peneliti | : - |
| 5. Lokasi Penelitian | : Laboratorium Mikrobiologi RSAL Dr.Ramelan Surabaya dan Fakultas Kedokteran Universitas Hang Tuah Surabaya. |
| 6. Kerjasama dengan Instansi Lain | : - |
| 7. Lama Penelitian | : 6 bulan |
| 8. Biaya yang Diperlukan | : - |
| a. Sumber dari Depdiknas | : - |
| b. Sumber lain, LPPM FK UHT | : Rp. 15.000.000,- |
| Jumlah | : Rp. 15.000.000,-
(Lima belas juta rupiah) |

Menyetujui :
Dekan Fakultas Kedokteran



dr.Sureh A. Tjandra, SpPK.
NIK 02269

Surabaya, 27 Agustus 2012
Ketua Peneliti,

dr.R.Varidianto Yudo T., M.Kes.
NIK 01259

RINGKASAN

Bakteri *Klebsiella* sering menyebabkan infeksi nosokomial (*hospital-acquired infections*). Umumnya pasien-pasien yang menderita penyakit infeksi akan diberikan antibiotika untuk membunuh bakteri penyebab. Akan tetapi bakteri-bakteri telah menunjukkan resistensinya terhadap antibiotika. Sefalosporin generasi ketiga (*expanded-spectrum cephalosporins*) berguna untuk mematikan bakteri yang resisten terhadap penisilin. Tetapi tak lama kemudian bakteri telah mengembangkan diri dengan membentuk enzim beta laktamase yang sanggup menghidrolisa sefalosporin generasi ketiga tersebut. Enzim ini dinamakan *extended-spectrum β -lactamases* (ESBL). Infeksi yang disebabkan oleh bakteri yang menghasilkan enzim ESBL berhubungan dengan resiko peningkatan angka kegagalan pengobatan menggunakan antibiotik sefalosporin generasi tiga dan empat.

Penelitian ini adalah penelitian observasional secara cross-sectional untuk mengetahui adanya bakteri *Klebsiella spp.* penghasil ESBL dari isolat *Enterobacteriaceae* di laboratorium mikrobiologi RSAL Dr.Ramelan Surabaya. Dari 30 sampel penderita dengan berbagai diagnosis dari seluruh bagian RSAL Dr.Ramelan Surabaya yang menunjukkan bakteri *Klebsiella spp.* sebagai penyebab utama penyakit dilakukan uji resistensi terhadap Cefotaxime, Cefotaxime-Clavulanic Acid, Ceftazidime dan Ceftazidime-Clavulanic Acid. Peningkatan zona hambat setelah pemberian Clavulanic Acid dari uji-uji ini menunjukkan bakteri penghasil enzim *Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL).

Dari hasil penelitian didapatkan proporsi bakteri *Klebsiella spp.* ESBL lebih besar dari pada bakteri *Klebsiella spp.* non ESBL dan enzim penghambat antibiotik yang dihasilkan bakteri *Klebsiella spp.* rata-rata lebih dari satu jenis. Terdapat perbedaan pada uji sensitivitas menggunakan Cefotaxime-Clavulanic Acid dengan uji sensitivitas menggunakan Ceftazidime-Clavulanic Acid sebagai indikator ESBL ($p=0,023$; $p < \alpha$). Terlihat uji menggunakan Ceftazidime-Clavulanic Acid lebih sensitif mendeteksi bakteri penghasil ESBL. Penelitian ini memberikan gambaran tentang pentingnya uji sensitivitas yang rutin dilakukan di rumah sakit untuk menunjukkan bahwa bakteri masih sensitif/resisten terhadap antibiotik maupun dengan penambahan inhibitor.

PRAKATA

Bismillahirrahmanirrahim

Puji syukur kami panjatkan kepada Allah SWT, yang atas rahmat dan karuniaNya sehingga kami dapat menyelesaikan laporan akhir penelitian dosen yang berjudul "Deteksi Bakteri *Klebsiella spp.* Penghasil ESBL (*Extended Spectrum β -Lactamase*) dari Isolat *Enterobacteriaceae* Di Laboratorium Mikrobiologi RSAL Dr.Ramelan Surabaya".

Bersama ini kami juga mengucapkan terima kasih kepada Rektorat, Dekanat dan LPPM Universitas Hang Tuah atas kesempatan yang diberikan kepada kami. Kami juga mengucapkan terima kasih kepada Mbak Yayuk dari Laboratorium Mikrobiologi RSAL Dr.Ramelan Surabaya dan Mbak Rizky serta Mas Aziz dari Laboratorium Mikrobiologi FK UHT Surabaya yang sangat membantu selama kami bekerja dalam pengumpulan sampel penelitian. Dan tak lupa kami mengucapkan banyak terima kasih kepada pihak-pihak yang terlibat secara langsung maupun tidak langsung yang ikut andil dalam terselesaikannya penelitian ini.

Penelitian ini diharapkan memberikan gambaran epidemiologis penyebaran *Klebsiella spp* ESBL. Selain itu diharapkan menjadi masukan bagi kebijakan penggunaan obat antibiotik di RSAL Dr.Ramelan sehingga membawa manfaat kepada para pasien yang datang berobat dan rawat inap.

Sebagai manusia biasa, maka kami tak luput dari kesalahan-kesalahan. Bilamana berkenan, kami mengharapkan saran-saran dan masukan bagi kesempurnaan tulisan ini.

Akhirulkalam, kami mengucapkan Alhamdulillah. Dan semoga tulisan ini menjadi manfaat. Amin.

Surabaya, 27 Agustus 2012

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
Halaman Pengesahan	ii
Ringkasan	iii
Prakata	iv
Daftar Isi	v
Daftar Tabel	vii
Daftar Gambar	viii
Daftar Lampiran	ix
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1. Perumusan Masalah.....	2
1.2. Kerangka Konseptual.....	3
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. <i>Enterobacteriaceae</i> dan <i>Klebsiella</i>	4
2.2. ESBL (<i>Extended Spectrum Beta Lactamase</i>).....	6
2.3. Plasmid	6
2.4. Epidemiologi	7
2.5. Metode Identifikasi	7
BAB 3 TUJUAN PENELITIAN	9
3.1. Tujuan Umum	9
3.2. Tujuan Khusus	9
3.3. Manfaat Penelitian	9
BAB 4 MATERI DAN METODE PENELITIAN.....	10
4.1. Rancangan Penelitian	10
4.2. Populasi, Sampel dan Besar Sampel	10
4.3. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	10
4.4. Alur Penelitian.....	11

4.5. Bahan, Alat dan Cara Kerja.....	12
4.6. Lokasi dan Waktu	14
4.7. Pengolahan dan Analisa Data	14
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	15
5.1. Hasil Uji Resistensi terhadap Cefotaxime dan Cefotaxime-Clavulanic Acid	15
5.2. Hasil Uji Resistensi terhadap Ceftazidime dan Ceftazidime- Clavulanic Acid	19
5.3. Gambaran terhadap uji menggunakan Cefotaxime dan uji menggunakan Ceftazidime sebagai indikator ESBL.....	23
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN	28
6.1. Kesimpulan	28
6.2. Saran	28
DAFTAR PUSTAKA	29
LAMPIRAN	30

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Uji Biokimia Kuman-Kuman Batang Gram Negatif	4
Tabel 2.2. Uji Biokimia Bakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i> dan subspeciesnya	5
Tabel 2.3. Uji Biokimia Bakteri <i>Klebsiella</i> Lain	5
Tabel 5.1. Gambaran Hasil Uji Resistensi terhadap Cefotaxime dan Cefotaxime-Clavulanic Acid	15
Tabel 5.2. Gambaran Hasil Uji Resistensi terhadap Ceftazidime dan Ceftazidime-Clavulanic Acid	19
Tabel 5.3. Gambaran Hasil Uji Resistensi menggunakan Cefotaxime dan Ceftazidime (dalam mm)	24

DAFTAR GAMBAR

- Gambar 5.1.** Gambar Diagram proporsi antara *Escherichia* spp. non ESBL dengan *Escherichia* spp. ESBL dari uji Cefotaxime dan Cefotaxime-Clovalanic Acid 17
- Gambar 5.2.** Gambar Diagram proporsi antara *Escherichia* spp. non ESBL dengan *Escherichia* spp. ESBL dari uji Cefaclor dan Cefaclor-Clovalanic Acid 21

DAFTAR LAMPIRAN

Medium McConkey	30
Microbact 12 A dan B	31
Uji Double Disk Diffusion	32

BAB 1 PENDAHULUAN

Klebsiella adalah bakteri yang tergolong dalam family *Enterobacteriaceae* bersama-sama bakteri *E.coli*, *Enterobacter*, *Salmonella*, *Shigella* dan lain-lainnya. Dua jenis *Klebsiella* yaitu *Klebsiella pneumoniae* dan *Klebsiella oxytoca* sering menyebabkan infeksi nosokomial (*hospital-acquired infections*). (Jawetz). Yang terpenting adalah *Klebsiella pneumoniae* sebagai patogen utama dari infeksi yang disebabkan oleh golongan *Klebsiella spp.(species)*. Permasalahan dari infeksi *Klebsiella* ini adalah akibat kemampuan bakteri ini untuk menghindari sistem imun tubuh penderita dengan adanya kapsul yang dimilikinya. (Levinson,2004)

Sebagai patogen oportunistik, *Klebsiella* menyerang pasien yang mengalami penurunan daya tahan tubuh saat berada di rumah sakit. Biasanya patogen ini menyerang pasien yang menderita penyakit seperti kencing manis atau penyakit paru obstruktif kronik. Selain itu *Klebsiella* cenderung menyerang pada pasien yang mempunyai kebiasaan meminum alkohol secara kronis (Podschun & Ullman, 1998 ; Levinson, 2004).

Umumnya pasien-pasien yang menderita penyakit infeksi akan diberikan antibiotika untuk membunuh bakteri penyebab. Antibiotika telah mengalami masa yang panjang dalam perkembangannya. Antibiotika termasuk obat yang digunakan dalam menyelamatkan nyawa pasien-pasien yang terinfeksi oleh bakteri patogen, dan nampaknya akan tetap menjadi obat utama dalam penanganan infeksi dalam beberapa dekade mendatang. (Drawz, 2010)

Akan tetapi bakteri-bakteri telah menunjukkan resistensinya terhadap antibiotika. Beberapa bakteri ternyata menghasilkan enzim yang sanggup menghambat daya kerja antibiotika. Enzim-enzim ini kemungkinan besar telah ada sebelum ditemukannya penisilin. Salah satu yang terlihat pada awal resistensi bakteri adalah ditemukannya enzim penisilinase dari bakteri *Staphylococcus aureus*. (Bradford, 2001)

Selanjutnya ditemukan banyak resistensi terhadap penisilin pada bakteri-bakteri lain, yang kesemuanya diakibatkan oleh enzim golongan beta laktamase yang dihasilkan oleh plasmid, utamanya, maupun oleh mutasi. Hal ini dapat membahayakan dalam hal penanganan keselamatan pasien. Maka para ahli berusaha menemukan antibiotika yang tahan terhadap enzim beta laktamase (penisilinase). Salah satu penemuan yang cukup spektakuler adalah ditemukannya sefalosporin generasi ketiga yang tahan terhadap efek beta laktamase. (Paterson & Bonomo, 2005))

Sefalosporin generasi ketiga (*expanded-spectrum cephalosporins*) berguna untuk mematikan bakteri yang resisten terhadap penisilin. Tetapi tak lama kemudian bakteri telah mengembangkan diri dengan membentuk enzim beta laktamase yang sanggup menghidrolisa sefalosporin generasi ketiga tersebut. Enzim ini dinamakan *extended-spectrum β -lactamases* (ESBL). Kehadiran enzim ini ini diketahui dari isolat *Klebsiella ozaenae* dari penelitian epidemiologi di Jerman. Hingga saat ini ditemukan lebih dari 150 jenis ESBL di seluruh dunia. (Bradford, 2001)

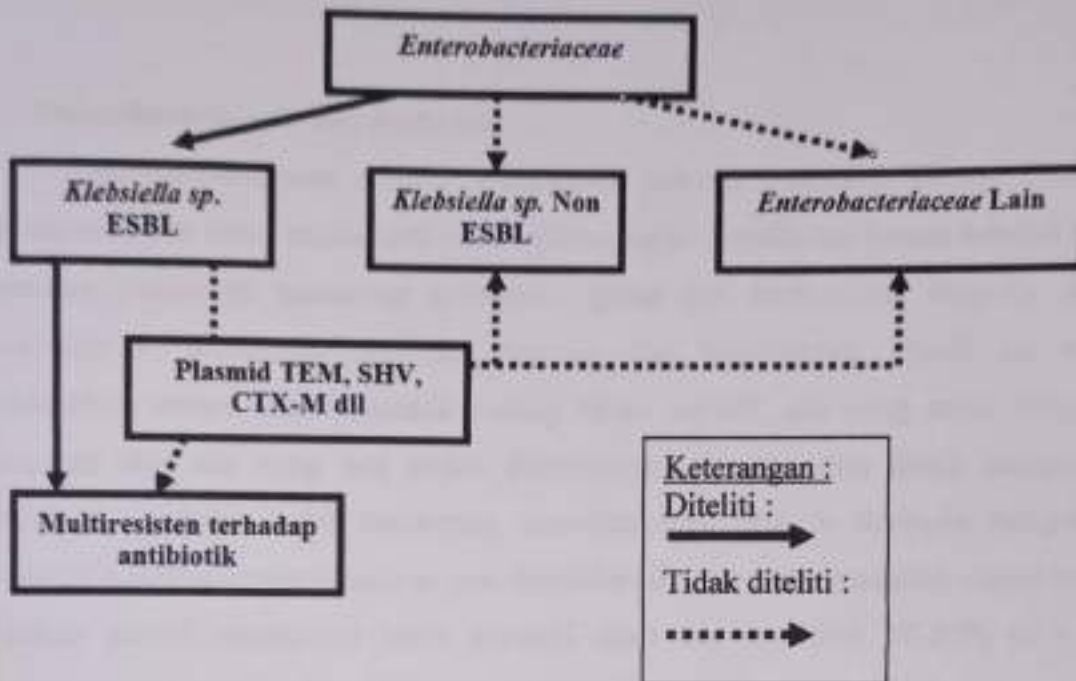
Infeksi yang disebabkan oleh bakteri yang menghasilkan enzim ESBL berhubungan dengan resiko peningkatan angka kegagalan pengobatan menggunakan antibiotik sefalosporin generasi tiga dan empat. Selain resiko diatas, bakteri ESBL cenderung memperparah kasus infeksi nosokomial akibat transfer gen plasmid antar mikroba. Resiko tertinggi untuk terkena infeksi bakteri ESBL adalah pasien dengan penyakit parah dan memerlukan alat medis yang invasif serta waktu tinggal yang lama di rumah sakit. (Paterson & Bonomo, 2005)

Beberapa metode untuk identifikasi bakteri ESBL telah banyak dikembangkan oleh para peneliti. Secara garis besar terdapat dua cara identifikasi yaitu secara konvensional dengan uji resistensi / sensitivitas dan deteksi secara molekuler. Identifikasi secara konvensional dapat berupa tes double disk dan tiga dimensi, dan terdapat uji yang telah dikomersialkan seperti Etest ESBL strips dan Vitek ESBL test. Masing-masing memiliki kelebihan dan kekurangan. Sedangkan deteksi secara molekuler dapat berupa DNA probe, PCR dan sekuensing nukleotida. Kebanyakan laboratorium klinis memakai cara konvensional. Sedangkan teknik molekuler cenderung untuk studi epidemiologi. (Bradford, 2001)

1.1. Perumusan Masalah

Apakah bakteri *Klebsiella* sp. dari isolat *Enterobacteriaceae* dari spesimen klinik laboratorium mikrobiologi RSAL Dr. Ramelan terdapat jenis penghasil ESBL (*Extended Spectrum Beta Lactamase*) ?

2.2. Kerangka Konseptual



Keterangan Kerangka Konseptual

Dari populasi *Enterobacteriaceae*, spesies yang banyak menghasilkan enzim Extended Spectrum beta Lactamase (ESBL) adalah dari golongan *Escherichia coli* dan *Klebsiella spp.* Adanya kemampuan memproduksi ESBL ini dikarenakan adanya gen plasmid seperti CTX, PER, TEM, SHV dan lain-lain. Identifikasi adanya bakteri ESBL menunjukkan bahwa infeksi yang terjadi disebabkan bakteri yang tahan terhadap antibiotik sefalosporin generasi ketiga dan keempat, selain dari antibiotik beta laktam konvensional, dimana efek resistensi ini dapat dihambat oleh penambahan inhibitor seperti Clavulanic Acid.

Identifikasi ESBL menunjukkan bakteri resisten terhadap antibiotik akibat beta laktamase dan bukan disebabkan oleh mekanisme lain seperti yang ditunjukkan oleh *Enterobacteriaceae* yang non ESBL atau bakteri yang resisten inhibitor. Bahaya dari adanya bakteri ESBL adalah kemungkinan penyebaran resistensi obat akibat penyebaran plasmid kepada bakteri lain (non ESBL). Hal ini dapat menyebabkan banyaknya bakteri yang resisten terhadap antibiotik beta lactam yang konvensional dan yang *extended*.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Enterobacteriaceae* dan *Klebsiella*

Enterobacteriaceae adalah sekelompok bakteri berbentuk batang Gram negatif, dimana sebagian besar menempati sistem pencernaan manusia dan hewan sebagai lingkungan alaminya. Famili ini mencakup golongan / genus dari *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus*, dan lain-lainnya. Famili ini mempunyai karakteristik antara lain berbentuk batang Gram negatif, ada yang motil dengan flagela peritrikus dan ada yang non motil. Metabolisme dapat secara aerob maupun anaerob (fakultatif anaerob). Lebih cenderung memfermentasi glukosa daripada mengoksidasinya sehingga cenderung menghasilkan gas. Karakteristik lain yaitu memiliki enzim katalase, tes oksidase positif, mereduksi nitrat menjadi nitrit dan memiliki 39–59% G + C DNA. Perbedaan antar spesies dapat dilihat pada Tabel 2.1. (Jawetz *et al.*, 2004)

Tabel 2.1. Uji Biokimia Kuman-Kuman Batang Gram Negatif

	Lactose	Sucrose	Glucose	TSI	Gas	H ₂ S	Indol	MR	VP	Citrat	Motility - 37°C	Urea	Oxidase	Keterangan
Family Enterobacteriaceae														
<i>Escherichia coli</i>	+	+	+	A/A	+	-	+	+	-	-	+	-	-	
<i>Enterobacter aerogenes</i>	+	+	+	A/A	+	-	-	-	+	+	+	-	-	
<i>Klebsiella oxytoca</i>	+	+	+	A/A	+	-	+	-	+	+	-	+	-	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	+	+	A/A	+	-	-	-	+	+	-	+	-	
<i>Proteus mirabilis</i>	-	-	+	Alk/A	+	+	-	+	-	+	+	+	-	
<i>Proteus vulgaris</i>	-	+	+	A/A	+	+	+	+	-	-	+	+	-	
<i>Salmonella paratyphi A</i>	-	-	+	Alk/A	+	-	-	+	-	-	+	-	-	
<i>Salmonella paratyphi B</i>	-	-	+	Alk/A	+	+	-	+	-	+	+	-	-	
<i>Salmonella typhi</i>	-	-	+	Alk/A	-	+	-	+	-	-	+	-	-	
<i>Shigella dysenteriae</i>	-	-	+	Alk/A	-	-	-	+	-	-	-	-	-	
<i>Shigella flexneri</i>	-	-	+	Alk/A	-	-	±	+	-	-	-	-	-	
<i>Shigella boydii</i>	-	-	+	Alk/A	-	-	-	+	-	-	-	-	-	
<i>Shigella sonnei</i>	-	-	+	Alk/A	-	-	-	+	-	-	-	-	-	
<i>Yersinia enterocolitica</i>	-	+	+	A/A	-	-	±	+	-	-	-	+	-	
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	-	-	+	Alk/A	-	-	-	+	-	-	-	+	-	
<i>Yersinia pestis</i>	-	-	+	Alk/A	-	-	-	+	-	-	-	-	-	
Family Pseudomonadaceae														
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	Alk/Alk	-	-	-	-	-	+	+	-	+	
Family Vibrionaceae														
<i>Vibrio cholerae</i> biotipe classic	-	+	+	A/A	-	-	+	+	-	+	+	-	+	
<i>Vibrio cholerae</i> biotipe eltor	-	+	+	A/A	-	-	+	+	+	+	+	-	+	
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-	-	+	Alk/A	-	-	+	+	-	-	+	-	+	

Spesies *Klebsiella* (*Klebsiella spp.*) adalah bakteri batang Gram negatif yang masuk dalam famili *Enterobacteriaceae*. Saat ini pembagian taksonomi yang populer adalah

mengikuti klasifikasi Orskov. Dalam klasifikasi ini *Klebsiella* terbagi menjadi spesies *K.pneumoniae*, *K.oxytoca*, *K.terrigena*, *K.planticola* (syn.*K.trevisanii*) dan *K.ornithinolytica*. Sedangkan *K.pneumoniae* terbagi lagi menjadi tiga subspecies yaitu subsp. *pneumoniae*, subsp. *ozaenae* dan subsp. *rhinoscleromatis*. Perbedaan spesies dan subspecies dari *Klebsiella* ditunjukkan pada tabel 2.2. dan 2.3. (Podschun & Ullman, 1998)

Tabel 2.2. Uji Biokimia Bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan subspeciesnya

Characteristic	<i>Klebsiella pneumoniae</i>		
	subsp. <i>pneumoniae</i>	subsp. <i>ozaenae</i>	subsp. <i>rhinoscleromatis</i>
Indole	-	-	-
Ornithine decarboxylase	-	-	-
Lysine decarboxylase	+	v	-
Pectate degradation	-	-	-
Gas from lactose at 44.5°C	+	-	-
Growth at 10°C	-	-	-
Acid from:			
D-Melezitose	-	-	-
L-Sorbose	v		
Utilization of:			
<i>m</i> -Hydroxybenzoate	-	-	-
Hydroxy-L-proline	v		
Malonate	+	-	+
Methyl red test	-	+	+
Voges-Proskauer reaction	+	-	-

Tabel 2.3. Uji Biokimia Bakteri *Klebsiella* lain

Characteristic	<i>K. oxytoca</i>	<i>K. terrigena</i>	<i>K. planticola</i>	<i>K. ornithinolytica</i>
Indole	+	-	v ^b	+
Ornithine decarboxylase	-	-	-	+
Lysine decarboxylase	+	+	+	+
Pectate degradation	+	-	-	-
Gas from lactose at 44.5°C	-	-	-	-
Growth at 10°C	+	+	+	+
Acid from:				
D-Melezitose	v	+	-	-
L-Sorbose	+	+	+	
Utilization of:				
<i>m</i> -Hydroxybenzoate	+	+	-	-
Hydroxy-L-proline	v	v	+	
Malonate	+	+	+	+
Methyl red test	-	+	v	+
Voges-Proskauer reaction	+	+	+	+

Saat ini telah muncul *Klebsiella* yang memproduksi ESBL yang diketahui sejak 1982. Saat itu yang terlihat adalah kemampuan *Klebsiella* ini dalam menghadapi sefalosporin generasi ke tiga yaitu Cefotaxime. *Klebsiella* yang ketika itu diketahui memproduksi ESBL

adalah dari golongan *K.pneumoniae* dan *K.oxytoca*. Semenjak diketahuinya *Klebsiella* yang memproduksi ESBL pertama kali, selanjutnya bermunculan laporan-laporan studi epidemiologi dari berbagai negara. Dikarenakan ESBL diproduksi oleh plasmid, maka penyebaran resistensi antibiotik di golongan *Klebsiella* terjadi cukup cepat. Permasalahan lain yaitu plasmid pengkode ESBL pada golongan *Klebsiella* ternyata tipe yang stabil. Faktor-faktor yang menyebabkan pasien dapat terinfeksi oleh *Klebsiella* penghasil ESBL ini adalah lamanya pasien rawat inap di rumah sakit dan jenis *Klebsiella* penghasil ESBL sendiri serta faktor host lainnya. (Podschun & Ullman, 1998)

2.2. ESBL (*Extended Spectrum Beta Lactamase*)

Bakteri *extended spectrum beta lactamase* (ESBL) adalah bakteri spesifik yang memproduksi enzim beta laktamase yang dapat memecah antibiotik beta laktam baru seperti sefalosporin generasi tiga dan empat (*oxymino-cephalosporin*) (Paterson & Bonomo, 2005)

Beta laktamase kebanyakan diklasifikasikan menurut dua cara yaitu skema klasifikasi molekuler Ambler dan klasifikasi fungsional Bush-Jacoby-Medeiros. Banyak juga klasifikasi lain contohnya skema klasifikasi Richmond and Sykes.

Skema Ambler membagi beta laktamase menjadi empat klas utama (A sampai D). Dasar pembagian skema klasifikasi ini berdasarkan homologi protein (kesamaan asam amino) dan bukan berdasar karakteristik fenotip. Beta laktamase klas A,C dan D adalah serin beta laktamase (mempunyai asam amino serin pada sisi aktif / active site) yang sangat berbeda dengan klas B yang merupakan metalo beta laktamase.

Skema klasifikasi Bush-Jacoby-Medeiros berdasarkan kesamaan fungsional (profil inhibitor dan substrat) membagi menjadi empat grup utama dan banyak subgrup.

Berdasarkan kedua klasifikasi ini bakteri ESBL kebanyakan masuk dalam klas A skema Ambler dan klas 2be dalam skema Bush-Jacoby-Medeiros. Dengan demikian ESBL adalah beta laktamase yang mampu menghidrolisa oxymino-cephalosporin dan dapat diinhibisi oleh asam klavulanat. (Bradford, 2001)

2.3. Plasmid

Terdapat banyak plasmid yang mengkode beta laktamase. Beberapa plasmid utama yaitu TEM, SHV dan CTX-M dan beberapa lagi seperti OXA, PER dan lain-lain. Terdapat lebih dari 100 macam beta laktamase tipe TEM. Beta laktamase tipe TEM ini merupakan populasi terbanyak dari kalangan ESBL yang teridentifikasi. Beta laktamase tipe SHV juga sering ditemukan dalam isolat klinis. Jenis-jenis beta laktamase tipe SHV dibedakan dari

daerah sulhidril. Beta laktamase jenis CTX merupakan beta laktamase yang menunjukkan aktivitas terhadap antibiotik sefotaksim. (Bradford, 2001)

2.4. Epidemiologi

ESBL sekarang merupakan masalah bagi pasien-pasien rumah sakit di seluruh dunia. Kemunculan atau identifikasi pertama kali di Eropa barat kemungkinan disebabkan karena antibiotik expanded-spectrum beta lactam pertama kali digunakan disana. Dan tidak mengherankan bila kemunculan di berbagai daerah lain di dunia terdeteksi secara cepat. Dan variasi bakteri ESBL bervariasi di tiap negara maupun di daerah penelitian. Pemerintah maupun instansi yang berkepentingan harus memantau perkembangan resistensi pada rumah sakit-rumah sakit harus waspada akan kenaikan prevalensi resistensi.

Laporan tersering dan kesamaan dari rumah sakit – rumah sakit yang mengalami serangan organisme yang memproduksi ESBL adalah tingginya pemberian sefalosporin yang expanded spectrum dan tanpa perhitungan. Beberapa faktor resiko lain yang meningkatkan tingginya prevalensi ESBL adalah lamanya perawatan, beratnya penyakit, perawatan di ICU, intubasi dan ventilasi mekanik, kateter urin maupun arteri, dan paparan terhadap antibiotik sebelumnya. Banyak pasien terinfeksi bakteri ESBL yang ditemukan di ICU, tetapi dapat juga ditemukan di daerah operasi maupun di tempat lain di rumah sakit. Pendekatan terbaik ini untuk penanggulangan penyebaran organisme ESBL melibatkan penggantian antibiotik broad spectrum ke klas yang berbeda untuk mengobati infeksi yang berat. Dua pengganti antibiotik yang dianggap berhasil yaitu imipenem dan piperacillin-tazobactam. (Bradford 2001)

2.5. Metode Identifikasi

Beberapa tes deteksi ESBL konvensional yang dilakukan oleh para peneliti adalah berdasarkan methodology tes disk diffusion Kirby-Bauer. Salah satu dari tes ini adalah berupa double-disk approximation test yang dilakukan oleh Jarlier et. al. Metode lain yang disarankan adalah metode three-dimensional test yang dilakukan oleh Thomson & Sanders. Seluruh tes yang menggunakan teknik disk diffusion dan variasinya memerlukan interpretasi yang baik. Jika sebuah ESBL terdeteksi, maka strain bakteri tersebut harus dilaporkan sebagai resisten terhadap seluruh expanded-spectrum cephalosporins dan aztreonam menurut hasil tes sensitivitas.

Beberapa pabrik komersial telah mengembangkan tes deteksi ESBL yang dapat digunakan bersamaan dengan tes MIC (Minimal Inhibitory Concentration) di laboratorium

klinis. Etest ESBL strips adalah strip dua sisi yang mengandung beberapa kadar ceftazidime pada salah satu ujung dan ceftazidime plus clavulanate pada ujung yang lain. Metode lain adalah tes sensitivitas mikroba otomatis Vitek system yang menggunakan ceftazidime atau cefotaxime sendiri maupun dengan kombinasi bersama clavulanic acid. Kesemua tes ini hanyalah identifikasi presumtif akan adanya enzim ESBL pada bakteri.

Metode identifikasi terbaru menggunakan teknik molekuler. Deteksi awal gen beta laktamase adalah menggunakan DNA probe yang spesifik untuk enzim-enzim yang dihasilkan TEM dan SHV. Metode molekuler pertama untuk identifikasi beta laktamase adalah metode oligotyping. Metode molekuler saat ini yang merupakan golden standard adalah nucleotide sequencing untuk menentukan gen beta laktamase spesifik pada sebuah strain bakteri. (Bradford 2001)

BAB 3 TUJUAN PENELITIAN

3.1. Tujuan Umum

Mendeteksi bakteri *Klebsiella spp.* penghasil ESBL dari isolat *Enterobacteriaceae* dari berbagai macam spesimen klinik yang diindikasikan terinfeksi kuman Gram negatif di laboratorium mikrobiologi RSAL Dr.Ramelan Surabaya.

3.2. Tujuan Khusus

1. Melakukan isolasi kuman *Enterobacteriaceae*
2. Melakukan isolasi kuman *Klebsiella spp.*
3. Melakukan isolasi kuman *Klebsiella spp.* ESBL

3.3. Manfaat Penelitian

1. Menemukan isolat *Klebsiella spp.* yang memproduksi ESBL
2. Memberikan gambaran epidemiologis penyebaran *Klebsiella spp.* ESBL di RSAL Dr.Ramelan Surabaya.
3. Memberi masukan bagi kebijakan penggunaan obat antibiotik di RSAL Dr.Ramelan Surabaya

BAB 4

MATERI DAN METODE PENELITIAN

4.1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian observasional secara cross-sectional untuk mengetahui adanya bakteri *Klebsiella spp.* penghasil ESBL dari isolat *Enterobacteriaceae* di laboratorium mikrobiologi RSAL Dr.Ramelan Surabaya.

4.2. Populasi, Sampel dan Besar sampel

4.2.1. Populasi Penelitian

Populasi penelitian adalah semua penderita yang diindikasikan terinfeksi kuman Gram negatif di semua bagian RSAL Dr.Ramelan yang memerlukan uji sensitivitas antibiotika dan identifikasi bakteri. Indikasi infeksi kuman Gram negatif ditentukan di bagian klinik masing-masing. Uji sensitivitas antibiotika dan identifikasi bakteri dilakukan di laboratorium mikrobiologi RSAL Dr.Ramelan dan Fakultas Kedokteran Universitas Hang Tuah Surabaya.

4.2.2. Sampel Penelitian dan Besar Sampel

Sampel penelitian adalah semua penderita infeksi Gram negatif dari golongan *Enterobacteriaceae* terutama *Klebsiella spp.* dari semua bagian klinik RSAL Dr.Ramelan Surabaya yang diidentifikasi di laboratorium mikrobiologi. Besar sampel dalam penelitian ini diambil secara total sampling selama 3 bulan.

4.3. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

a. Bakteri *Enterobacteriaceae*

Bakteri batang Gram negatif yang terisolasi pada medium agar *Mc.Conkey*. Koloni berwarna merah merupakan bakteri yang memfermentasi laktosa. Sedangkan koloni yang tidak berwarna merupakan bakteri yang tidak memfermentasi laktosa.

b. Bakteri *Klebsiella spp.*

Bakteri golongan *Enterobacteriaceae* yang diidentifikasi sebagai *Klebsiella spp.* menurut *Microtest Multisystem Microbact 12A-12B* atau 12E

c. Bakteri *Klebsiella spp. ESBL*

Bakteri golongan *Klebsiella spp.* yang memiliki resistensi terhadap sefalosporin generasi ketiga atau empat.

Dan bakteri ini menjadi sensitif bila terpapar golongan inhibitor beta laktamase (clavulanic acid) menurut tes double disk diffusion

d. Bakteri sensitif antibiotik

Bakteri yang mengalami hambatan atau mati bila terpapar oleh antibiotik.

e. Bakteri resisten antibiotik

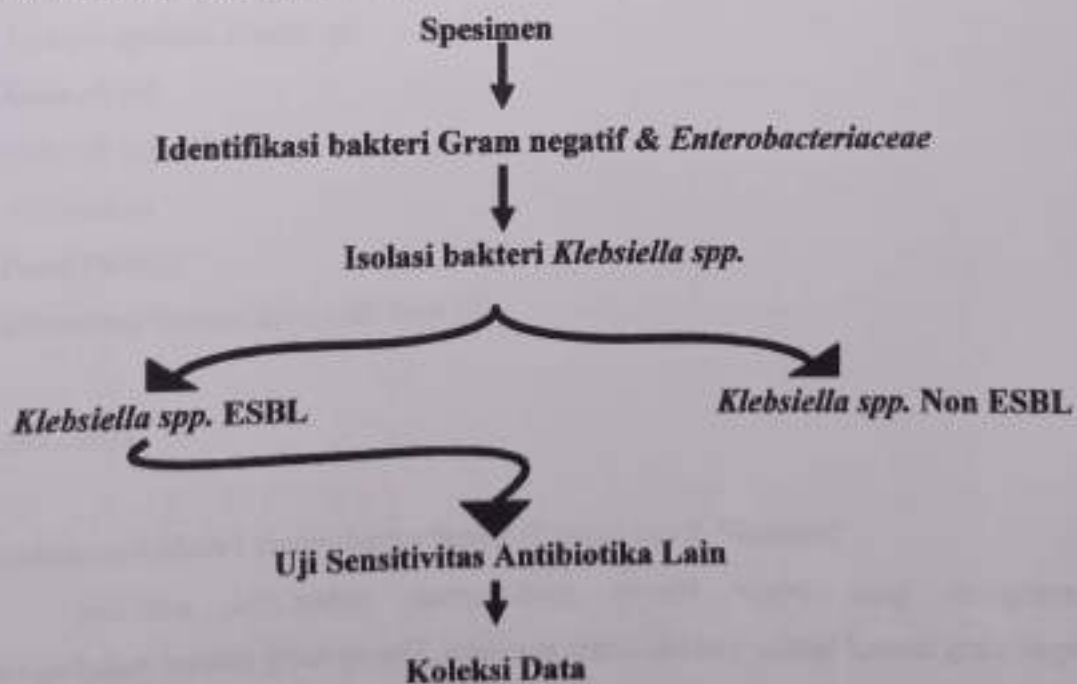
Bakteri yang tidak mengalami hambatan atau tidak mati bila terpapar oleh antibiotik.

f. Zona inhibisi

Daerah medium agar disekitar disk antibiotik dimana bakteri terhambat atau mati sehingga membuat daerah itu menjadi jernih. Zona inhibisi harus diukur untuk menentukan sensitif tidaknya antibiotik yang dipakai.

4.4. Alur Penelitian

Alur penelitian ini dimulai dengan penerimaan spesimen penderita yang diduga terinfeksi kuman Gram negatif dari bagian klinik RSAL Dr.Ramelan Surabaya yang selanjutnya dilakukan identifikasi kuman Gram Negatif dan *Enterobacteriaceae*. Dengan metode *Microtest Multisystem Microbact 12A-12B* atau *12E* akan dicari isolat *Klebsiella spp.* Isolat *Klebsiella spp.* yang teridentifikasi akan diuji dengan metode double disk menurut *Jarlier et.al.* untuk penentuan apakah bakteri ini termasuk ESBL atau Non ESBL.



4.5. Bahan, Alat dan Cara Kerja

4.5.1. Bahan dan Alat yang diperlukan

Bahan :

- a. Cat Gram
- b. Medium Mc Conkey
- c. Medium Mueller Hinton
- e. Co-Amoxiclav disk
- f. Ceftazidime disk
- g. Cefotaxime disk
- h. Meropenem disk
- i. Levofloxacin disk
- j. Ciprofloxacin disk
- k. Gentamycin disk
- l. Ceftriaxone disk

Alat yang diperlukan :

- a. Petri disk
- b. Tabung Reaksi 16 x 100
- c. Ose
- d. Sarung tangan
- e. Lampu spiritus, Korek api
- f. Kaca obyek
- g. Minyak emersi
- h. Mikroskop
- i. Pipet Pasteur
- j. Microbact System 12A-12B atau 12E

4.5.2. Cara kerja

Penentuan bakteri *Enterobacteriaceae* (Cappucino & Sherman)

Medium *McConkey* mengandung crystal violet yang menghambat pertumbuhan kuman gram positif, sehingga memudahkan isolasi kuman gram negatif. Medium ini mengandung laktosa dan indikator pH methil red. Kuman yang memfermentasi laktosa akan menghasilkan asam sehingga koloni kuman akan

berwarna merah (medium sekitarnya juga akan berwarna : merah). Kuman yang tidak memfermentasi laktosa, tidak menghasilkan asam dan koloni kuman tidak berwarna. Medium ini termasuk medium differensial.

Spesimen yang didapat dari bagian klinik RSAL Dr.Ramelan dilakukan streaking pada medium *McConkey*. Koloni yang tumbuh diidentifikasi sebagai bakteri peragi laktosa atau tidak. Diperlukan koloni bakteri peragi laktosa untuk dilakukan identifikasi *Klebsiella spp.* memakai metode *Microtest Multisystem Microbact 12A-12B* atau *12 E*.

Penentuan bakteri *Klebsiella spp.* dengan *Microbact System 12 A-12 B* atau *12 E* (Oxoid)

Diambil 1 sampai 3 koloni dari biakan 18-24 jam dan diemulsifikasi dengan 2,5 ml larutan saline steril jika menggunakan *12 A* atau 0,5 ml bila menggunakan *12 B*. Campur sebagai persiapan suspensi homogen.

Sumur-sumur alat substrat dapat dibuka dengan memotong ujung pita pelindung dan perlahan-lahan ditarik. Alat substrat ini diletakkan pada holding tray dan dengan menggunakan pipet Pasteur empat tetes (sekitar 100 µl) suspensi bakteri, atau setengah tiap set sumur. Menggunakan pipet steril atau botol tetes masukkan mineral oil steril untuk melapisi substrat (sumur 1,2 dan 3 untuk *12 A* ; sumur 8 dan 12 untuk *12B*). Tutup kembali sumur-sumur dengan pelindung dan tuliskan kode spesimen ujung alat substrat. Inkubasikan pada suhu $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 18-24 jam. Setelah 24 jam keluarkan alat substrat dari inkubator, buka kembali pelindung. Dicatat semua hasil yang positif. Hasil positif dan negatif disesuaikan dengan tabel warna. Catatlah hasilnya pada lembar laporan.

Masukkan hasil kedalam program identifikasi menggunakan *Microbact™ Computer Aided Identification Package*. Masukkan bersama hasil dari tes oxidase, reduksi nitrat dan motilitas. Hasil lemah akan dibaca negatif oleh program.

Penentuan presumtif bakteri *Klebsiella spp.* penghasil ESBL dengan metode double disk

Bakteri *Klebsiella sp.* yang telah teridentifikasi dilakukan swab kedalam plate agar *Mueller Hinton*. Sebuah disk untuk tes sensitivitas yang mengandung amoksisilin-asam klavulanat diletakkan di tengah dari plate, dan sebuah disk yang

mengandung antibiotik oxymino-cephalosporin diletakkan 30 mm (centre to centre) dari disk amoksisilin-asam klavulanat. Peningkatan zona inhibisi pada daerah disk antibiotik oxymino cephalosporin menunjukkan hasil yang positif. (Jarlier et.al.)

4.6. Lokasi dan Waktu

4.6.1. Lokasi penelitian

Pengambilan spesimen dilakukan RSAL Dr.Ramelan Surabaya. Penentuan kuman *Enterobacteriaceae*, *Klebsiella spp.* dan *Klebsiella spp.* ESBL serta pembuatan medium dasar dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi RSAL Dr.Ramelan dan Fakultas Kedokteran Universitas Hang Tuah Surabaya.

4.6.2. Waktu penelitian

Waktu penelitian dimulai pada bulan April 2011 sampai Juni 2011.

4.7. Pengolahan dan Analisa Data

- a. Mengisi data pada Lembar Pengumpul Data
- b. Data dicatat, diolah dan dianalisa
- c. Dilakukan analisa data secara analitik

Kegiatan	Februari 2011	Maret 2011	April 2011	Mei 2011	Juni 2011	Juli 2011
Perijinan						
Pengumpulan sampel						
Analisa data						
Laporan akhir						

BAB 5
HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

5.1. Hasil Uji Resistensi terhadap Cefotaxime dan Cefotaxime - Clavulanic Acid

Dari 30 sampel penderita dengan berbagai diagnosis dari seluruh bagian RSAL Dr. Ramelan Surabaya yang menunjukkan bakteri *Klebsiella spp.* sebagai penyebab utama penyakit didapatkan hasil uji resistensi terhadap Cefotaxime dan Cefotaxime – Clavulanic Acid seperti tabel 5.1. Peningkatan zona hambat dari uji Cefotaxime ke uji Cefotaxime – Clavulanic Acid menunjukkan bakteri penghasil enzim *Extended Spectrum Beta Lactamase (ESBL)*.

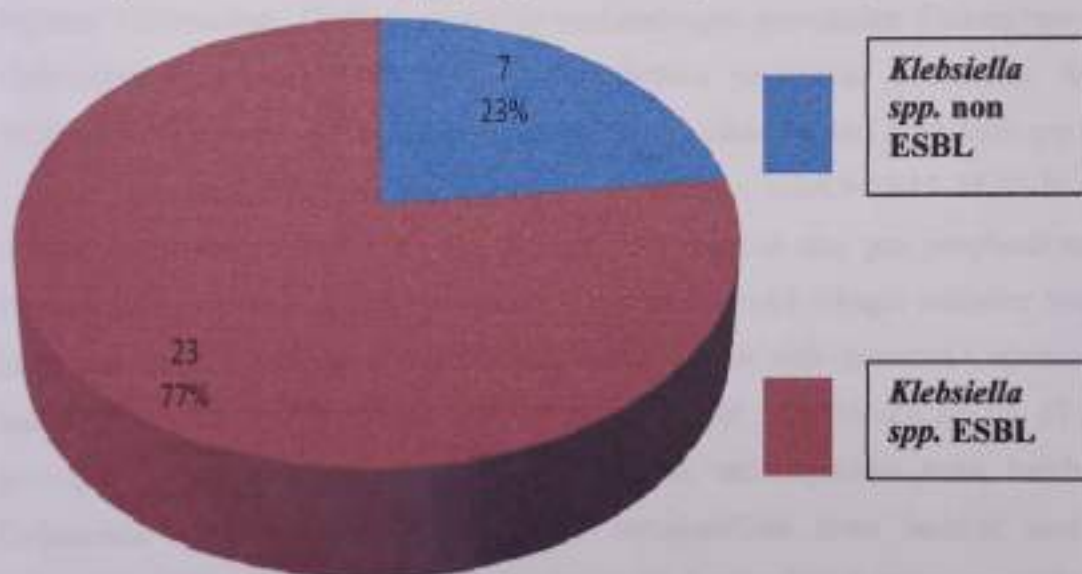
Tabel 5.1. Gambaran Hasil Uji Resistensi terhadap Cefotaxime dan Cefotaxime – Clavulanic Acid

No. Sampel	Jenis <i>Klebsiella</i>	CTX (mm)	CTX + AMC (mm)	ESBL
1	<i>Klebsiella spp.</i>	20	25	+
2	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	24	25	+
3	<i>Klebsiella ozaenae</i>	20	31.5	+
4	<i>Klebsiella ozaenae</i>	13	8.5	-
5	<i>Klebsiella oxytoca</i>	7.5	0	-
6	<i>Klebsiella ozaenae</i>	0	6.5	+
7	<i>Klebsiella spp.</i>	0	0	-
8	<i>Klebsiella ozaenae</i>	31.5	29.5	-

9	<i>Klebsiella ozaenae</i>	10	14.5	+
10	<i>Klebsiella ozaenae</i>	10.5	18.5	+
11	<i>Klebsiella ozaenae</i>	14	21	+
12	<i>Klebsiella spp.</i>	12	13	+
13	<i>Klebsiella spp.</i>	14	28	+
14	<i>Klebsiella ozaenae</i>	15	12	-
15	<i>Klebsiella ozaenae</i>	15	16	+
16	<i>Klebsiella spp.</i>	0	15	+
17	<i>Klebsiella ozaenae</i>	1.4	18	+
18	<i>Klebsiella oxytoca</i>	15	16	+
19	<i>Klebsiella oxytoca</i>	9	12	+
20	<i>Klebsiella ozaenae</i>	17	15	-
21	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	14	14	-
22	<i>Klebsiella oxytoca</i>	0	18	+
23	<i>Klebsiella oxytoca</i>	0	12	+
24	<i>Klebsiella ozaenae</i>	13	15	+

25	<i>Klebsiella ozaenae</i>	0	12	+
26	<i>Klebsiella ozaenae</i>	10	12	+
27	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0	9	+
28	<i>Klebsiella oxytoca</i>	10	13	+
29	<i>Klebsiella oxytoca</i>	0	12	+
30	<i>Klebsiella ozaenae</i>	15	17	+

Dari 30 sampel spesimen penderita menunjukkan 23% (7 sampel) tidak menunjukkan adanya bakteri *Klebsiella spp.* penghasil ESBL dan 77% (23 sampel) menunjukkan adanya bakteri *Klebsiella spp.* penghasil ESBL. (Gambar 5.1)



Gambar 5.1. Gambar Diagram proporsi antara *Klebsiella spp.* non ESBL dengan *Klebsiella spp.* ESBL dari uji Cefotaxime dan Cefotaxime – Clavulanic Acid

Dari gambar 5.1. maka proporsi bakteri *Klebsiella spp* penghasil ESBL lebih besar daripada bakteri *Klebsiella spp* non ESBL. Hasil positif ini menunjukkan bahwa *Klebsiella spp* tersebut mempunyai salah satu plasmid atau gen pengkode ESBL. Sedangkan hasil negatif menunjukkan bahwa *Klebsiella spp* tersebut mempunyai salah satu plasmid atau gen

penghasil β -lactamase non ESBL ataupun plasmid atau gen penghasil β -lactamase ESBL yang resisten inhibitor.

Rata-rata golongan *Klebsiella spp* (ESBL dan non ESBL) masih menunjukkan sensitivitas terhadap Cefotaxime dan Cefotaxime-Clavulanic Acid. Hal ini menunjukkan enzim yang dihasilkan tidak sepenuhnya dapat memblokade Cefotaxime dan Cefotaxime-Clavulanic Acid. Hasil yang menggembirakan dari uji in vitro ini diharapkan berlaku pada penerapan pemberian antibiotik Cefotaxime dan Cefotaxime-Clavulanic Acid pada pasien-pasien rawat inap di RSAL Dr.Ramelan. Terdapat delapan sampel (sampel no.6, 7, 16, 22, 23, 25, 27 dan 29) dari golongan *Klebsiella spp* yang tidak menunjukkan zona hambat terhadap Cefotaxime. Hal ini menunjukkan enzim yang dihasilkan (ESBL maupun non ESBL) mampu memblokade Cefotaxime. Proporsi bakteri resisten Cefotaxime ini sebesar 26,6 %. Terdapat dua sampel (sampel no.5 dan 7) dari golongan *Klebsiella spp* yang tidak menunjukkan zona hambat terhadap Cefotaxime-Clavulanic Acid. Hal ini menunjukkan enzim yang dihasilkan (ESBL maupun non ESBL) mampu memblokade Cefotaxime-Clavulanic Acid. Proporsi bakteri resisten Cefotaxime-Clavulanic Acid ini sebesar 6,6 %. Penambahan Clavulanic Acid terlihat menurunkan proporsi bakteri *Klebsiella spp* yang resisten Cefotaxime. Dengan demikian perbandingan pemakaian Cefotaxime sendiri dan Cefotaxime-Clavulanic Acid menunjukkan bahwa pemberian Clavulanic Acid sebagai inhibitor beta laktamase sangat membantu dalam eradikasi bakteri *Klebsiella spp*.

Golongan *Klebsiella spp* ESBL dari sampel no. 1-3,6,9-13,15-19,22-30 (23 sampel) menunjukkan bahwa *Klebsiella spp* ini memiliki plasmid atau gen penghasil enzim ESBL. Peningkatan zona hambat saat pemberian Clavulanic Acid sebagai inhibitor beta laktamase membuat enzim ESBL ini terhambat dan meningkatkan efek destruksi Cefotaxime terhadap bakteri *Klebsiella spp*. Terdapat tujuh sampel (sampel no.6, 16, 22, 23, 25, 27 dan 29) dari golongan *Klebsiella spp* ESBL ini yang tidak menunjukkan zona hambat terhadap Cefotaxime (resisten Cefotaxime) tetapi menghasilkan zona hambat saat pemberian Cefotaxime-Clavulanic Acid. Ketujuh sampel ini kemungkinan besar memiliki mekanisme resistensi ESBL tanpa ada mekanisme resistensi lain. Sedangkan *Klebsiella spp* ESBL lainnya masih sensitif terhadap Cefotaxime, tetapi pemberian Clavulanic Acid memperbesar zona hambat. *Klebsiella spp* ini menunjukkan bahwa mereka menghasilkan ESBL dalam jumlah yang tidak dapat memblokade Cefotaxime. Pemberian Clavulanic Acid memperbesar efek destruksi dengan menghambat ESBL.

Sementara *Klebsiella spp* non ESBL dari sampel no. 4,5,7,8,14,20 dan 21 menunjukkan bahwa *Klebsiella spp* ini memiliki resistensi dengan mekanisme lain.

Penurunan zona hambat pada sampel-sampel non ESBL ini dapat diakibatkan mekanisme hiperproduksi beta laktamase lain yang resisten inhibitor beta laktamase (contoh, inhibitor-resistant TEM β -laktamase / IRT, inhibitor-resistant SHV-10 β -laktamase, dan lain-lain). Akan tetapi bakteri *Klebsiella spp* non ESBL ini terlihat masih sensitif terhadap antibiotika Cefotaxime-Clavulanic Acid, kecuali sampel no.7. Sampel no.7 ini tampaknya memiliki plasmid CTX dan resisten inhibitor yang sangat kuat.

5.2. Hasil Uji Resistensi terhadap Ceftazidime dan Ceftazidime - Clavulanic Acid

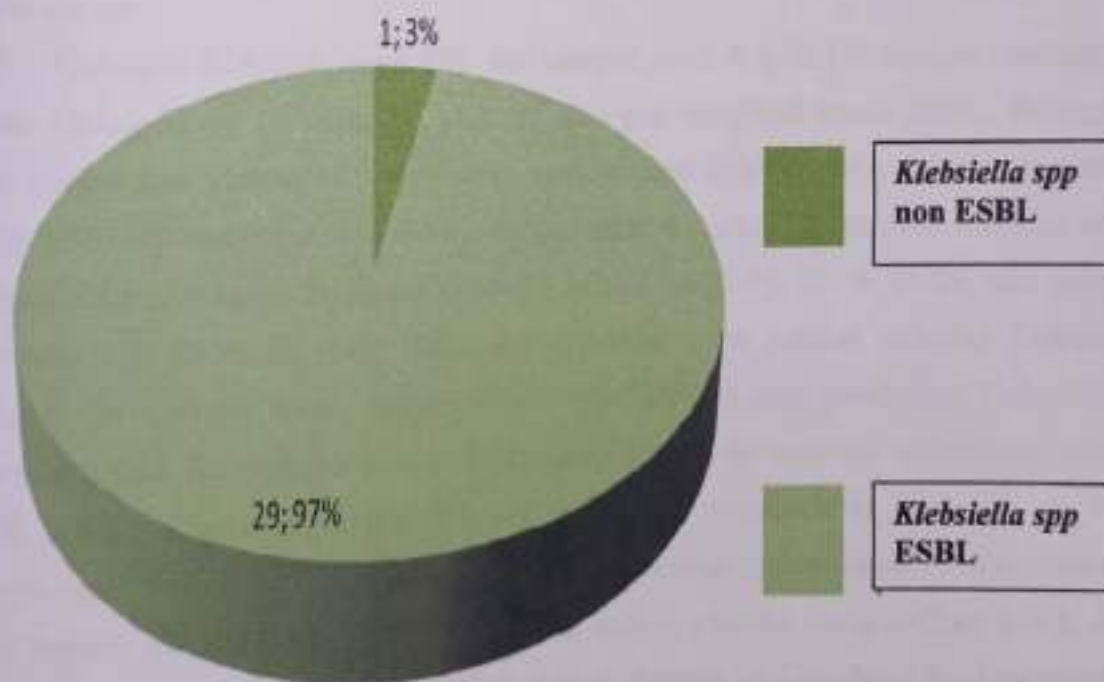
Dari 30 sampel penderita dengan berbagai diagnosis dari seluruh bagian RSAL Dr.Ramelan Surabaya yang menunjukkan bakteri *Klebsiella spp.* sebagai penyebab utama penyakit didapatkan hasil uji resistensi terhadap Ceftazidime dan Ceftazidime - Clavulanic Acid seperti tabel 5.2. Peningkatan zona hambat dari uji Ceftazidime ke uji Ceftazidime – Clavulanic Acid menunjukkan bakteri penghasil enzim *Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL).

Tabel 5.2. Gambaran Hasil Uji Resistensi terhadap Ceftazidime dan Ceftazidime - Clavulanic Acid

No. Sampel	Jenis <i>Klebsiella</i>	CAZ (mm)	AMC + CAZ (mm)	ESBL
1	<i>Klebsiella spp.</i>	20	25	+
2	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	24	26	+
3	<i>Klebsiella ozaenae</i>	20	27.5	+
4	<i>Klebsiella ozaenae</i>	9.5	11.5	+
5	<i>Klebsiella oxytoca</i>	7.5	0	-
6	<i>Klebsiella ozaenae</i>	8.5	11	+

7	<i>Klebsiella</i> <i>spp.</i>	14.5	21.5	+
8	<i>Klebsiella</i> <i>ozaenae</i>	24	24.5	+
9	<i>Klebsiella</i> <i>ozaenae</i>	8.5	12.5	+
10	<i>Klebsiella</i> <i>ozaenae</i>	19	20	+
11	<i>Klebsiella</i> <i>ozaenae</i>	14.5	21.5	+
12	<i>Klebsiella</i> <i>spp.</i>	0	12	+
13	<i>Klebsiella</i> <i>spp.</i>	0	12	+
14	<i>Klebsiella</i> <i>ozaenae</i>	24	26	+
15	<i>Klebsiella</i> <i>ozaenae</i>	0	15	+
16	<i>Klebsiella</i> <i>spp.</i>	0	15	+
17	<i>Klebsiella</i> <i>ozaenae</i>	0	13	+
18	<i>Klebsiella</i> <i>oxytoca</i>	0	9	+
19	<i>Klebsiella</i> <i>oxytoca</i>	8	11	+
20	<i>Klebsiella</i> <i>ozaenae</i>	13	14	+
21	<i>Klebsiella</i> <i>pneumoniae</i>	0	10	+
22	<i>Klebsiella</i> <i>oxytoca</i>	0	15	+

23	<i>Klebsiella oxytoca</i>	0	14	+
24	<i>Klebsiella ozaenae</i>	0	12	+
25	<i>Klebsiella ozaenae</i>	0	10	+
26	<i>Klebsiella ozaenae</i>	0	11	+
27	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0	10	+
28	<i>Klebsiella oxytoca</i>	0	12	+
29	<i>Klebsiella oxytoca</i>	0	14	+
30	<i>Klebsiella ozaenae</i>	11	12	+



Gambar 5.2. Gambar Diagram proporsi antara *Klebsiella spp.* non ESBL dengan *Klebsiella spp.* ESBL dari uji Cefotaxime dan Cefotaxime – CoAmoxiclav

Dari 30 sampel spesimen penderita menunjukkan 3% (1 sampel) tidak menunjukkan adanya bakteri *Klebsiella spp.* penghasil ESBL dan 97% (29 sampel) menunjukkan adanya bakteri *Klebsiella spp.* penghasil ESBL. (Gambar 5.2.)

Dari gambar 5.2. maka proporsi bakteri *Klebsiella spp* penghasil ESBL lebih besar daripada bakteri *Klebsiella spp* non ESBL. Hasil positif ini menunjukkan bahwa *Klebsiella spp* tersebut mempunyai salah satu plasmid atau gen pengkode ESBL. Sedangkan hasil negatif menunjukkan bahwa *Klebsiella spp* tersebut mempunyai salah satu plasmid atau gen penghasil β -lactamase non ESBL ataupun plasmid atau gen penghasil β -lactamase ESBL yang resisten inhibitor.

Setengah (50%) golongan *Klebsiella spp* (ESBL dan non ESBL) masih menunjukkan sensitivitas terhadap Cefotaxime. Hal ini menunjukkan enzim yang dihasilkan tidak sepenuhnya dapat memblokir Cefotaxime. Setengahnya lagi golongan *Klebsiella spp* tidak menunjukkan zona hambat terhadap Cefotaxime. Hal ini menunjukkan enzim yang dihasilkan (ESBL maupun non ESBL) mampu memblokir Cefotaxime. Pemberian Cefotaxime dan Clavulanic Acid menunjukkan hanya satu sampel (1%) dari *Klebsiella spp* (ESBL dan non ESBL) yang resisten. Perbandingan proporsi antara pemberian Cefotaxime sendiri dengan pemberian Cefotaxime-Clavulanic Acid menunjukkan bahwa pemberian Clavulanic Acid sebagai inhibitor beta laktamase sangat membantu dalam eradikasi bakteri *Klebsiella spp*.

Golongan *Klebsiella spp* ESBL dari sampel no. 1-4, 6-30 (39 sampel) menunjukkan bahwa *Klebsiella spp* ini memiliki plasmid atau gen penghasil enzim ESBL. Peningkatan zona hambat saat pemberian Clavulanic Acid sebagai inhibitor beta laktamase membuat enzim ESBL ini terhambat dan meningkatkan efek destruksi Cefotaxime terhadap bakteri *Klebsiella spp*. Terdapat limabelas sampel (sampel no.12-13, 15-18, 21-29) dari golongan *Klebsiella spp* ESBL ini yang tidak menunjukkan zona hambat terhadap Cefotaxime (resisten Cefotaxime) tetapi menghasilkan zona hambat saat pemberian Cefotaxime - Clavulanic Acid. Kelimabelas sampel ini kemungkinan besar memiliki mekanisme resistensi ESBL tanpa ada mekanisme resistensi lain. Sedangkan keempatbelas *Klebsiella spp* ESBL lainnya masih sensitif terhadap Cefotaxime, tetapi pemberian Clavulanic Acid memperbesar zona hambat. *Klebsiella spp* ini menunjukkan bahwa mereka menghasilkan ESBL dalam jumlah yang tidak dapat memblokir Cefotaxime. Pemberian Clavulanic Acid memperbesar efek destruksi dengan menghambat ESBL.

Sementara itu satu *Klebsiella spp* non ESBL (sampel no. 5) menunjukkan bahwa *Klebsiella spp* ini memiliki resistensi dengan mekanisme lain. Penurunan zona hambat pada

bakteri non ESBL ini dapat diakibatkan mekanisme hiperproduksi beta laktamase lain yang resisten inhibitor beta laktamase. Kemungkinan besar resistensi ini diakibatkan plasmid jenis PER yang resisten inhibitor beta laktamase. Plasmid PER ini menghasilkan beta laktamase yang lebih mudah menghidrolisis antibiotika Cefotaxime.

5.3. Gambaran terhadap uji menggunakan Cefotaxime dan uji menggunakan Ceftazidime sebagai indikator ESBL

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
CTX	30	0	1	.77	.430
CAZ	30	0	1	.97	.183
Valid N (listwise)	30				

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	3.399(b)	1	.065		
Continuity Correction(a)	.411	1	.521		
Likelihood Ratio	3.027	1	.082		
Fisher's Exact Test				.023	.023
Linear-by-Linear Association	3.286	1	.070		
N of Valid Cases	30				

a Computed only for a 2x2 table

b 2 cells (50.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .23.

Dari perhitungan menggunakan *Fisher's Exact Test* didapatkan adanya perbedaan antara uji menggunakan Cefotaxime dengan uji menggunakan Ceftazidime sebagai indikator ESBL ($p=0,023$; $p < \alpha$). Terlihat uji menggunakan Ceftazidime-Clavulanic Acid lebih sensitif mendeteksi bakteri penghasil ESBL dibandingkan uji menggunakan Cefotaxime-Clavulanic Acid bila dihubungkan dengan proporsi pada gambar 5.1 dan 5.2. Gambaran ini juga menunjukkan bahwa rata-rata bakteri *Klebsiella spp* membawa plasmid atau gen penghasil ESBL yang bekerja pada Ceftazidime. Hal ini juga didukung oleh banyaknya bakteri *Klebsiella spp* yang resisten terhadap Ceftazidime. Kemungkinan bakteri-bakteri ini membawa plasmid jenis PER-1 dan turunannya atau plasmid yang berhubungan dengan PER-1. (Bradford, 2001).

Tabel 5.3. Gambaran Hasil Uji Resistensi menggunakan Cefotaxime dan Ceftazidime (dalam mm)

No. Sampel	Jenis <i>Klebsiella</i>	CTX (mm)	CTX + AMC (mm)	CAZ (mm)	AMC + CAZ (mm)
1	<i>Klebsiella spp.</i>	20	25	20	25
2	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	24	25	24	26
3	<i>Klebsiella ozaenae</i>	20	31.5	20	27.5
4	<i>Klebsiella ozaenae</i>	13	8.5	9.5	11.5
5	<i>Klebsiella oxytoca</i>	7.5	0	7.5	0
6	<i>Klebsiella ozaenae</i>	0	6.5	8.5	11
7	<i>Klebsiella spp.</i>	0	0	14.5	21.5
8	<i>Klebsiella ozaenae</i>	31.5	29.5	24	24.5
9	<i>Klebsiella ozaenae</i>	10	14.5	8.5	12.5
10	<i>Klebsiella ozaenae</i>	10.5	18.5	19	20
11	<i>Klebsiella ozaenae</i>	14	21	14.5	21.5
12	<i>Klebsiella spp.</i>	12	13	0	12
13	<i>Klebsiella spp.</i>	14	28	0	12

14	<i>Klebsiella ozaenae</i>	15	12	24	26
15	<i>Klebsiella ozaenae</i>	15	16	0	15
16	<i>Klebsiella spp.</i>	0	15	0	15
17	<i>Klebsiella ozaenae</i>	1.4	18	0	13
18	<i>Klebsiella oxytoca</i>	15	16	0	9
19	<i>Klebsiella oxytoca</i>	9	12	8	11
20	<i>Klebsiella ozaenae</i>	17	15	13	14
21	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	14	14	0	10
22	<i>Klebsiella oxytoca</i>	0	18	0	15
23	<i>Klebsiella oxytoca</i>	0	12	0	14
24	<i>Klebsiella ozaenae</i>	13	15	0	12
25	<i>Klebsiella ozaenae</i>	0	12	0	10
26	<i>Klebsiella ozaenae</i>	10	12	0	11
27	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0	9	0	10
28	<i>Klebsiella oxytoca</i>	10	13	0	12
29	<i>Klebsiella oxytoca</i>	0	12	0	14

30	<i>Klebsiella ozaenae</i>	15	17	11	12
----	-------------------------------	----	----	----	----

Dari tabel 5.3. pada sampel no.4,8,14 dan 20 terlihat penambahan Clavulanic Acid pada Cefotaxime malah menurunkan zona hambat, sedangkan pemberian Ceftazidime-Clavulanic Acid meningkatkan zona hambat. Enzim yang mampu mengurangi kinerja Cefotaxime ini, meskipun bakteri masih terlihat sensitif, terhambat oleh Clavulanic Acid tetapi meningkatkan enzim lain yang mampu menghambat kinerja Cefotaxime dengan lebih kuat (resisten inhibitor), sehingga bakteri lebih mudah berkembang biak (zona hambat mengecil). Sedangkan pada uji Ceftazidime-Clavulanic Acid menunjukkan dominasi enzim ESBL pada bakteri ini. Gambaran kedua uji ini menunjukkan setidaknya-tidaknya terdapat tiga macam enzim yang dihasilkan oleh keempat bakteri ini, yaitu enzim penghambat Cefotaxime jenis ESBL, enzim penghambat Cefotaxime resisten inhibitor dan enzim penghambat Ceftazidime jenis ESBL.

Pada sampel no.5 menunjukkan seakan-akan penambahan Clavulanic Acid malah membuat bakteri semakin resisten. Tetapi, bilamana tidak ada bias dalam perlakuan terhadap sampel, ini menunjukkan kemungkinan bakteri menghasilkan enzim jenis ESBL yang dominan (mampu menekan enzim lain non ESBL) meskipun mempunyai kinerja yang lemah terhadap Cefotaxime dan Ceftazidime, dan menunjukkan kinerja enzim yang resisten inhibitor yang sangat kuat terhadap Cefotaxime dan Ceftazidime. Dalam hal ini perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang kadar enzim resisten inhibitor ini sebelum dan sesudah pemberian Clavulanic Acid.

Pada sampel no.7 tampak bakteri memproduksi enzim yang menghambat Cefotaxime dan resisten inhibitor (non ESBL) yang sangat kuat, serta enzim yang mampu menghambat Ceftazidime jenis ESBL (meskipun bakteri terlihat masih sensitif terhadap Ceftazidime).

Pada sampel no.21 terlihat bakteri masih sensitif terhadap Cefotaxime dan Cefotaxime-Clavulanic Acid. Hal ini menunjukkan enzim-enzim untuk menghambat Cefotaxime kurang bekerja atau tidak dihasilkan. Sedangkan enzim untuk melawan Ceftazidime termasuk jenis ESBL.

Sampel-sampel lain menunjukkan dominasi enzim ESBL terhadap Cefotaxime dan Ceftazidime. Sebagian menunjukkan kinerja yang kuat sementara sebagian menunjukkan kinerja yang kurang cukup untuk menghambat efek destruksi Cefotaxime dan Ceftazidime.

Penelitian ini menunjukkan gambaran yang menggembirakan secara keseluruhan, dimana bakteri-bakteri yang resisten terhadap Cefotaxime dan Ceftazidime sebagian dapat dibuat menjadi sensitif dengan penambahan Clavulanic Acid. Sementara bakteri-bakteri yang terlihat menghasilkan enzim yang resisten inhibitor ternyata banyak yang sensitif dengan pemberian Cefotaxime dan Ceftazidime sendiri. Ini menunjukkan pentingnya peranan uji sensitifitas dalam dunia kedokteran. Serunit apapun hasil penelitian ini, tetapi hasil uji sensitifitas akan memberikan banyak manfaat bagi pasien dan dokter sendiri dalam hal pemakaian antibiotika.

BAB 6

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

- Proporsi bakteri *Klebsiella spp.* ESBL lebih besar dari pada bakteri *Klebsiella spp.* non ESBL.
- Enzim penghambat antibiotik yang dihasilkan bakteri *Klebsiella spp.* rata-rata lebih dari satu jenis.
- Terdapat perbedaan pada uji sensitivitas menggunakan Cefotaxime-Clavulanic Acid dengan uji sensitivitas menggunakan Ceftazidime-Clavulanic Acid sebagai indikator ESBL ($p=0,023$; $p < \alpha$). Terlihat uji menggunakan Ceftazidime-Clavulanic Acid lebih sensitif mendeteksi bakteri penghasil ESBL.
- Penambahan inhibitor beta laktamase seperti Clavulanic Acid sangat membantu antibiotika dalam menghancurkan bakteri *Klebsiella spp.*

6.2. Saran

- Perlunya uji sensitivitas yang rutin dilakukan di rumah sakit. Meskipun bakteri-bakteri dalam penelitian ini menghasilkan enzim-enzim penghambat antibiotik, tetapi uji sensitivitas banyak menunjukkan bahwa bakteri masih sensitif terhadap antibiotik maupun dengan penambahan inhibitor.
- Perlunya penelitian lebih lanjut untuk sampel yang diduga memiliki enzim penghambat antibiotik yang resisten inhibitor.

DAFTAR PUSTAKA

Bradford P.A.; Extended Spectrum β -Lactamases in the 21st Century : Characterization, Epidemiology, and Detection of This Important Resistance Threat, 2001. Clin.Microbiol.Rev. 14(4) p.933-951.

Brooks G.F., Butel J.S., Morse S.A.; Jawetz, Melnick and Adelberg's Medical Microbiology (22nd ed.). USA. Appleton & Lange. p.218-230.

Cappuccino J.G., Sherman N.; Microbiology A Laboratory Manual. 6th ed. Pearson Education Inc. - Benjamin Cummings. San Francisco, USA. p. 13-16

Drawz S.M., Bonomo R.A.; Three Decades of β -Lactamase Inhibitors. 2010. Clin.Microbiol.Rev. 23(1) p.160-201

Levinson W.; Medical Microbiology & Immunology: Examination & Board Review, Eighth Edition. 2004. McGraw-Hill Companies, Inc., USA. p.128-146.

OXOID ; Microbact Biochemical Identification Kits. In.http://www.oxid.com/UK/blue/prod_detail/prod_detail.asp?pr=MB1130&c=UK&lang=EN

Paterson D.L., Bonomo R.A.; Extended Spectrum β -Lactamases : a Clinical Update. 2005. Clin.Microbiol.Rev. 18(4) p.657-686

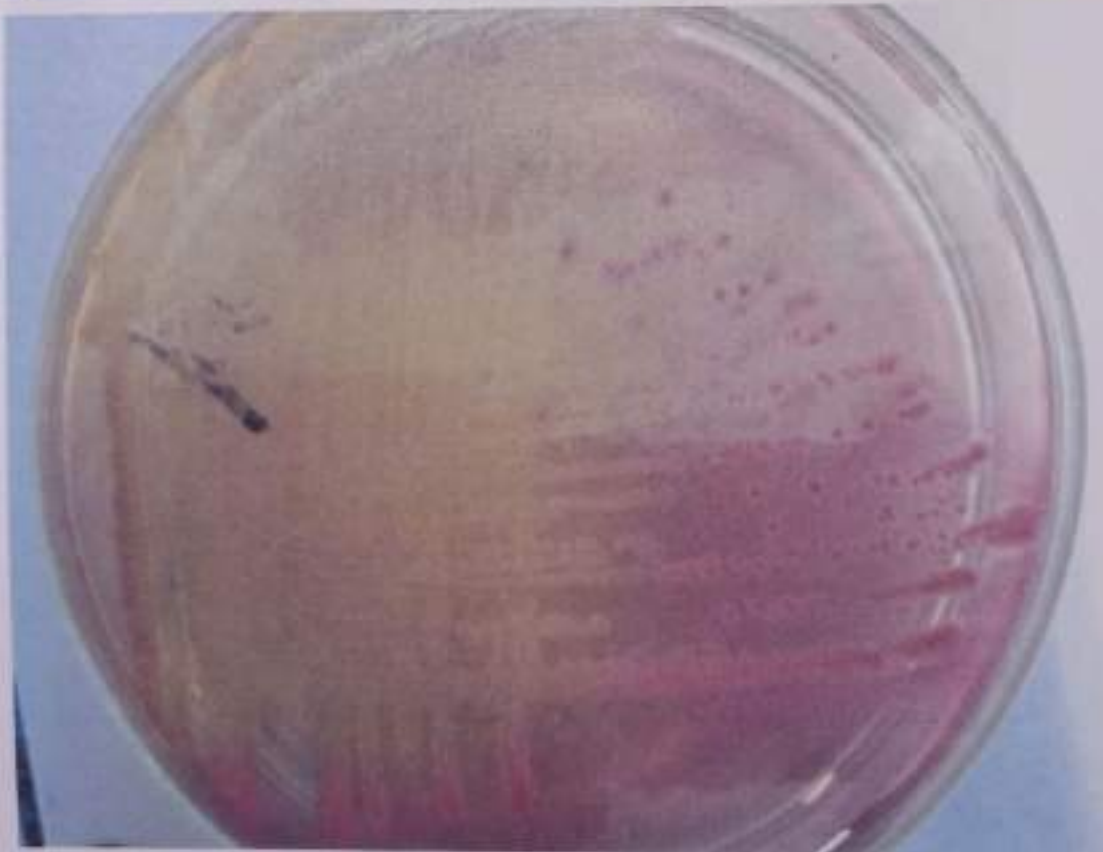
Podschun R., Ullman U.; *Klebsiella spp.* as Nosocomial Pathogens: Epidemiology, Taxonomy, Typing Methods, and Pathogenicity Factors. 1998. Clin. Microbiol. Rev. : 11(4) p.589-603

Talaro K., Talaro A.; Foundations in Microbiology 2nd ed. 1996.Wm.C.Brown Publisher. Dubuque, USA. p.353

WHO EUROPE; WHO Workshop on the Containment of Antimicrobial Resistance in Europe, 2004. Wernigerode, Germany. p. 9-10

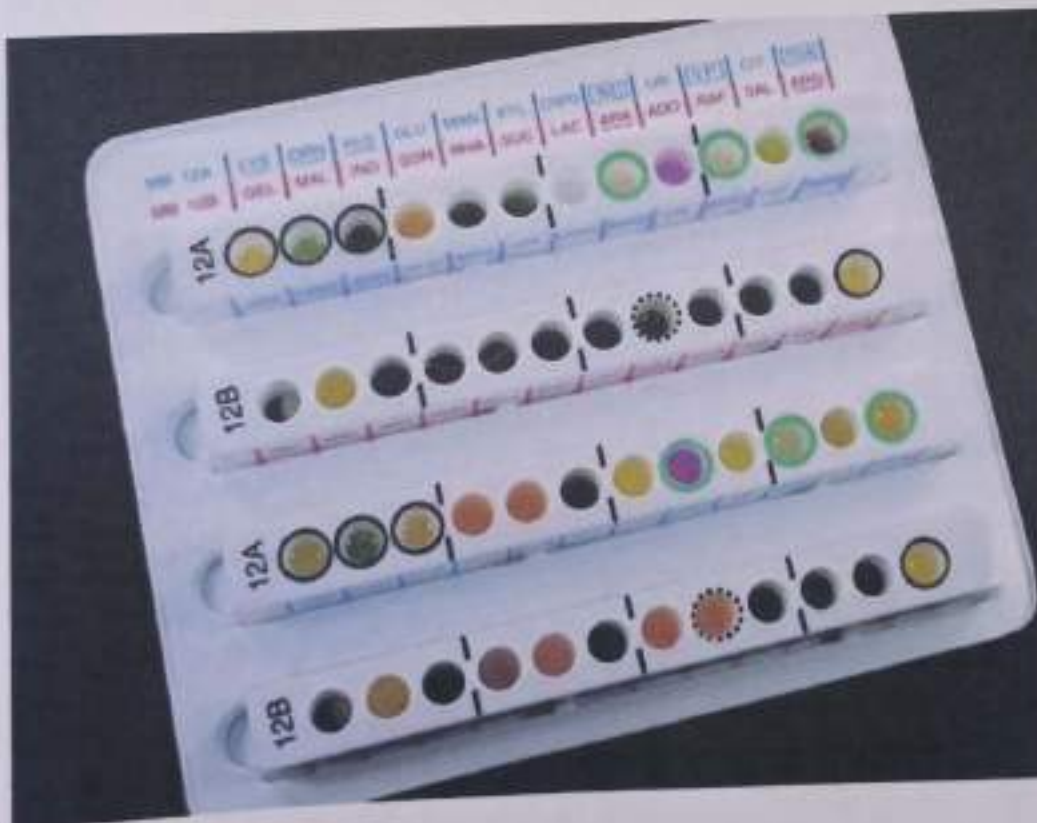
LAMPIRAN

Medium McConkey



LAMPIRAN

Microbact 12 A dan B



LAMPIRAN

Uji Double Disk Diffusion

