

Diterima: 2019-12-18
Doi:955
Disetujui: 2020-01-02
Publis

ORIGINAL ARTIKEL

MEDICINA ,Volume 51 Nomor 3 September 2020
e-ISSN:2540-8321 p-ISSN 2540-8313

Prevalensi gen oxa-24 pada bakteri *acinetobacter baumannii* resisten antibiotik golongan carbapenem di Rumah Sakit Umum Pusat Sanglah Denpasar

Ida Ayu Ichwari Pradnya Dewi¹, Ni Nyoman Sri Budayanti², Made Agus Hendrayana³

¹ Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana

² Instalasi Mikrobiologi Klinik RSUP Sanglah Denpasar

³ Instalasi Mikrobiologi Klinik RSUP Sanglah Denpasar

E-mail: ichwaripradnyadewi@gmail.com

ABSTRAK

Latar Belakang: Sulitnya penanggulangan infeksi pneumonia nosokomial oleh *Acinetobacter baumannii* berhubungan dengan sifat *multi-drug resistant* *A. baumannii* melalui produksi enzim beta *lactamase*, khususnya *oxacillinases*. Sejumlah penelitian sebelumnya menemukan bahwa gen OXA-24 merupakan salah satu gen yang paling berperan dalam produksi enzim tersebut. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui gambaran resistensi *A. baumannii* secara genotip, yaitu dengan meneliti prevalensi gen OXA-24 pada bakteri *A.baumannii* resisten terhadap antibiotik golongan carbapenem di RSUP Sanglah Denpasar.

Metode: Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif *observational cross-sectional* dengan menggunakan teknik *polymerase chain reaction* (PCR) dan elektroforesis. Sampel berupa isolat klinis *A. baumannii* dikumpulkan dari RSUP Sanglah dengan kriteria resisten terhadap antibiotik golongan carbapenem, khususnya imipenem.

Hasil: Dari 30 isolat klinis yang diuji [Darah (n=4), Sputum (n=14), Urin (n=5), Pus (n=1), Luka (n=6)], didapatkan sebanyak 6 isolat klinis positif gen OXA-24. Isolat klinis yang ditemukan positif gen OXA-24 tersebut 2 diantaranya berasal dari sputum, 1 berasal dari darah, 1 berasal dari urin, dan 2 berasal dari luka. Dari hasil penelitian tersebut, dapat disimpulkan bahwa prevalensi gen OXA-24 pada *A. baumannii* resisten antibiotik golongan carbapenem di RSUP Sanglah Denpasar adalah 20%.

Kata kunci: *Acinetobacter baumannii*, resisten carbapenem, gen OXA-24

ABSTRACT

Background: The challenging management of pneumonia-related nosocomial infections by *Acinetobacter baumannii* is due to the nature of multi-drug resistant *A. baumannii* through the production of the beta-lactamase enzyme, especially oxacillinases. Previous studies have found that the gene OXA-24 is one of the most genes that play a role in the production of the enzyme. This study was conducted to describe the resistance of *A. baumannii* by genotype, by examining the prevalence of OXA-24 gene in carbapenem class of antibiotics -resistant bacteria *A.baumannii*.

Method: This research design is descriptive cross-sectional observational, using polymerase chain reaction (PCR) and electrophoresis. Samples in the form of clinical isolates of *A. baumannii* were collected from Sanglah Hospital with criteria that is resistant to antibiotic class carbapenem, particularly imipenem.

Result: Of the 30 clinical isolates tested [Blood (n = 4), sputum (n = 14), urine (n = 5), Pus (n = 1), wound (n = 6)], obtained as many as six clinical isolates positive of gene OXA-24. Clinical isolates that were found positive for the gene OXA-24, two of them derived from sputum, one derived from blood, one derived from the urine, and two are from the wound. From these results, it can be concluded that the prevalence of OXA-24 gene in *A. baumannii* resistant to carbapenem class of antibiotics in Sanglah General Hospital in Denpasar is 20%.

Keywords: *Acinetobacter baumannii*, carbapenem resistance, gene OXA-24

PENDAHULUAN

Infeksi nosokomial merupakan infeksi yang didapat di rumah sakit, yang tidak ada dan tidak sedang dalam masa inkubasi ketika pasien baru masuk ke rumah sakit atau infeksi yang baru terlihat ketika pasien sudah meninggalkan lingkungan rumah sakit, maupun infeksi yang terjadi antar pekerja di dalam lingkungan fasilitas kesehatan.¹ Salah satu contoh infeksi nosokomial pada saluran pernafasan adalah pneumonia yang disebabkan oleh bakteri gram negatif *Acinetobacter baumannii* melalui penggunaan ventilator mekanik, dimana penanggulangannya cukup sulit dikarenakan sifat *multi-drug resistant* (MDR) dari bakteri ini, yang tahan terhadap setidaknya tiga kelas dari agen antimikroba. Angka kematian kasar pneumonia nosokomial oleh *A. baumannii* mencapai 30 - 75%.²

Mekanisme resistensi *A. baumannii* adalah melalui produksi enzim *extended spectrum β -lactamase* (ESBL), khususnya kelas D (*serine oxacillinases*), yang melalui aktivitas carbapenemase dapat menghidrolisis carbapenem yang sebelumnya merupakan terapi pilihan terhadap infeksi *A. baumannii*.³ Menurut data RSUP Sanglah periode Juli-Desember 2014, tingkat resistensi terhadap antimikroba golongan carbapenem yaitu imipenem sebanyak 50 dari 217 bakteri.⁴

Sebuah penelitian yang dilakukan pada tahun 2013 di India, mengidentifikasi *cluster* gen *blaOXA-23-*, *blaOXA-24/40-*, dan *blaOXA-58-like* sebagai *cluster* gen yang paling berperan dalam produksi *oxacillinases*.³ Meskipun gen OXA-24 termasuk dalam 3 *cluster* gen utama yang berperan dalam produksi *oxacillinases*, namun penelitian serta data yang tersedia terhadap prevalensi gen tersebut masih sangat terbatas disbanding *cluster* gen lainnya. Maka dari itu, penulis ingin

melakukan studi prevalensi gen OXA-24 pada isolat *A. baumannii*, khususnya di Rumah Sakit Umum Pusat Sanglah Denpasar.

BAHAN DAN METODE

Studi ini merupakan studi deskriptif observasional dengan pendekatan *cross-sectional* dimana pengambilan data dilakukan pada satu waktu tertentu. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium

yaitu dengan memanaskan tabung pada heat block pada suhu 100°C selama 10 menit, dilanjutkan dengan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan elektroforesis dengan primer seperti yang tertera pada **Tabel 1**. Sampel dinyatakan positif memiliki gen OXA-24 apabila pada elektroforesis terbentuk pita sepanjang 249 bp. Data yang didapat kemudian dianalisa secara deskriptif dan di sajikan dalam bentuk jumlah absolut atau presentase secara keseluruhan.

Tabel 1. Primer gen OXA 24 yang digunakan pada studi ini.⁵

Primer	Sequence (5' – 3')	Amplicon size
OXA-24(F)	GGTTAGTTGGCCCCCTAAA	249
OXA-24(R)	AGTTG GCGAAAAGGGGATT	(oxa-24F/-24R)

Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana pada bulan Juni hingga Desember 2016 menggunakan

sampel berupa isolat bakteri *A. Baumannii* dari Rumah Sakit Umum Pusat Sanglah Denpasar yang resisten terhadap carbapenem dan diambil pada periode tahun 2014 – 2015. Variabel yang diteliti dalam studi ini terdiri atas resistensi isolat *A. baumannii* terhadap carbapenem dan prevalensi gen OXA-24. Isolat bakteri didapatkan melalui subkultur, kemudian data prevalensi gen OXA-24 didapatkan melalui isolasi DNA dengan teknik *boiling*,

HASIL

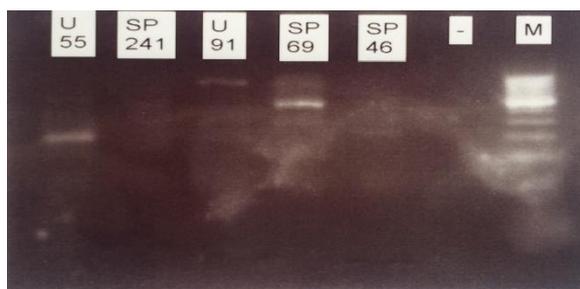
Pada studi ini, didapatkan sejumlah 30 isolat klinis *A. baumannii* dari beberapa jenis cairan tubuh [Darah (n=4), Sputum (n=14), Urin (n=5), Pus (n=1), Luka (n=6)]. Karena penelitian terhadap gen OXA-24 pada *A. baumannii* merupakan yang pertama kali di Indonesia, maka perlu dilakukan optimasi. Optimasi dilakukan sebanyak 3 kali, dimana pada optimasi pertama tidak terlihat pita sama sekali pada seluruh isolat klinis. Maka, dilakukan optimasi kedua terhadap 10 isolat klinis dengan hasil seperti yang terlihat pada

Gambar 1, dimana pada isolat U55 terbentuk pita sebesar 249bp sehingga digunakan sebagai kontrol positif. Karena terdapat beberapa isolat dengan pita kurang jelas dari, maka dilakukan optimasi ketiga terhadap isolat – isolat tersebut (SP 241, U 91, SP 69 dan SP 46). Optimasi ketiga mendapatkan hasil seperti yang terlihat pada **Gambar 2**, dengan program PCR seperti yang tertera pada **Tabel 1**.

Gambar 1. Hasil optimasi kedua PCR Uniplex gen OXA-24 pada isolat klinis *A. baumannii*.



Gambar 2. Hasil optimasi ketiga PCR Uniplex gen OXA-24 pada isolate klinis *A. baumannii*



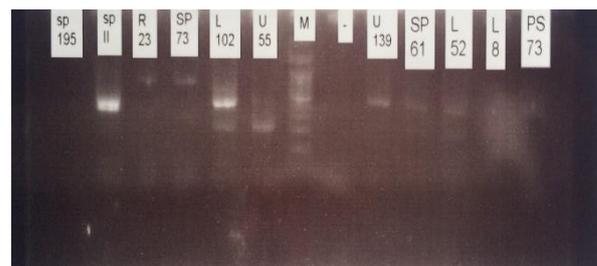
Tabel 2. Program PCR pada optimasi ketiga

Proses	Waktu	Temperatur
Pre-denaturasi	2 menit	95°C
Denaturasi	1 menit	95°C

Annealing	1 menit	48°C
Ekstensi	1 menit	72°C
Final Ekstensi	5 menit	72°C
Cycle	: 35x	

Selanjutnya dilakukan PCR dan elektroforesis terhadap 20 sampel berikutnya dengan menggunakan program PCR seperti pada optimasi ketiga, dan didapatkan hasil seperti yang terlihat pada **Gambar 3** dan **Gambar 4**.

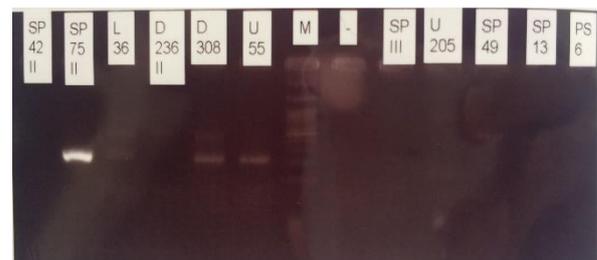
Gambar 3. Hasil PCR Uniplex gen OXA-



24 pada 10 isolat klinis *A. baumannii* kedua

Gambar 4. Hasil PCR Uniplex gen OXA-24 pada 10 isolat klinis *A. baumannii* ketiga

Dari 30 isolat klinis *A. baumannii* yang diuji, ditemukan sebanyak 6 isolat klinis memiliki gen OXA-24 yang menghasilkan angka prevalensi sebesar



20% dengan distribusi sampel sesuai yang tertera pada **Tabel 3**.

DISKUSI

Infeksi nosokomial *A. baumannii* yang resisten terhadap karbapenem, khususnya imipenem, menunjukkan angka mortalitas yang secara signifikan lebih tinggi jika dibandingkan dengan infeksi *A. baumannii* yang sensitif terhadap imipenem. Menurut penelitian yang

Tabel 3. Hasil PCR gen OXA-24 dari 30 isolat klinis *A. baumannii* di RSUP Sanglah Denpasar

Sampel	Positif Gen OXA-24	Total Sampel
Sputum	2 (6.67%)	14 (46.67%)
Darah	1 (3.33%)	4 (13.33%)
Urin	1 (3.33%)	5 (16.67%)
Luka	2 (6.67%)	6 (20%)
Pus	0 (0%)	1 (3.33%)
Total	6 (20%)	30 (100%)

dilakukan di Thailand, sebanyak 35 pasien (52.2%) yang terinfeksi *A. baumannii* resisten imipenem meninggal di rumah sakit dibandingkan dengan 26 pasien (19.9%) yang terinfeksi *A. baumannii* sensitif imipenem.⁷

Penelitian terhadap OXA-24 merupakan yang pertama di Indonesia, sehingga perlu dilakukan suatu optimasi. Pada optimasi pertama, waktu denaturasi, annealing dan ekstensi adalah selama 30 detik untuk masing – masing proses dengan suhu annealing 45°C, namun tidak terlihat

pita sama sekali pada seluruh isolat klinis yang diuji, sehingga waktu denaturasi, annealing dan ekstensi ditingkatkan menjadi 1 menit pada optimasi kedua, dimana pada isolat U55 terbentuk pita sebesar 249bp yang kemudian dijadikan kontrol positif. Dilakukan kembali optimasi ketiga untuk memperjelas hasil suhu annealing ditingkatkan menjadi 48°C. Pita paling jelas terbentuk pada optimasi ketiga, yang menunjukkan bahwa waktu yang digunakan untuk proses denaturasi, annealing, ekstensi serta suhu yang digunakan untuk proses annealing sangat mempengaruhi hasil akhir elektroforesis.

Angka prevalensi gen OXA-24 pada isolat klinis *A. baumannii* sebesar 20% pada studi ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan di India pada tahun 2011 bahwa dari total 62 isolat, sebanyak 22.9% memiliki gen OXA-24. Namun hasil penelitian ini berbeda dengan hasil penelitian yang dilakukan di Amerika Serikat pada tahun 2008 yang mencakup isolat klinis *Acinetobacter spp.* dari wilayah Asia Pasifik. Penelitian tersebut menemukan hanya sebanyak 5.6% isolat memiliki gen OXA-24. Perbedaan hasil tersebut dapat terjadi karena perbedaan beberapa faktor seperti lokasi cakupan pengambilan sampel, jumlah sampel, perbedaan spesies dan lain – lain.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil studi yang dilakukan terhadap 30 isolat klinis *A.baumannii* yang diperoleh dari Rumah Sakit Umum Pusat Sanglah Denpasar, ditemukan bahwa sejumlah 6 isolat klinis positif memiliki gen OXA-24, dimana 2 di antaranya berasal dari sputum, 1 berasal dari darah, 1 berasal dari urin dan 2 berasal dari luka, sehingga di dapatkan angka prevalensi sebesar 20%.

SARAN

Penelitian lanjutan pada prevalensi gen OXA lainnya yang berpotensi mengakibatkan resistensi pada beberapa golongan antibiotik khususnya di RSUP Sanglah Denpasar perlu dilakukan dengan jumlah sampel yang lebih besar agar data yang di dapat lebih mempresentasikan populasi sesungguhnya. Perlu juga dilakukannya penelitian secara analitikal untuk mengetahui kaitan antara faktor – faktor seperti pola penggunaan antibiotik dengan prevalensi gen OXA pada *A. baumannii*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Mohammed M, Mohammed A, Mirza M. Nosocomial Infections : An Overview. *International Research Journal of Pharmacy* 2014; 5(1): 7-12.
2. Chaudhary A, Pandya N. Emergence of Multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* as Nosocomial Pathogen: Clinical Significance and Antimicrobial Sensitivity. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences* 2015; 14(10): 40-44.
3. Singh H, Thangaraj P, Chakrabarti A. *Acinetobacter baumannii*: A Brief Account of Mechanisms of Multidrug Resistance and Current and Future Therapeutic Management. *Journal of Clinical and Diagnostic Research* 2013; 7(11): 2602-2605.
4. SMF Mikrobiologi Klinik FK UNUD/RSUP Sanglah. 2015. *Pola Bakteri dan Kepekaan Bakteri Terhadap Antibiotika di RSUP Sanglah Periode Juli – Desember 2014*. Denpasar.
5. Sari A, Bicmen M, Gulay Z. The First Report on the Outbreak of OXA-24/40-Like Carbapenemase-Producing *Acinetobacter baumannii* in Turkey. *Infectious Disease* 2013; 66: 439-442.

