
 <p>UNIVERSITAS ABDURRAB</p>	<p>Klinikal Sains 12 (1) (2024)</p> <p>JURNAL ANALIS KESEHATAN</p> <p>KLINIKAL SAINS</p> <p>http://jurnal.univrab.ac.id/index.php/klinikal</p>	
<p>DETEKSI GEN TEM DAN GEN SHV PADA <i>Klebsiella pneumoniae</i> PADA SAMPEL URIN PASIEN RAWAT INAP</p> <p>Ade Irma¹, Indas Wari Rahman², Ka'bah³, Nurul Fathoana⁴ ¹Prodi Sains Biomedis, Universitas Megarezky Makassar ^{2,3,4}Prodi Teknologi Laboratorium Medis, Universitas Megarezky Makassar Jl. Antang Raya No. 43 Telp. (0411) 492401 – 496401 E-mail: adeirmabio93@unimerz.ac.id</p>		
<p>Info Artikel</p> <hr/> <p><i>Sejarah Artikel:</i> Diterima Desember 2023 Disetujui April 2024 Dipublikasikan Juni 2024</p> <hr/> <p><i>Keywords:</i> <i>Inpatient care; Klebsiella pneumoniae; TEM Gene; SHV Gene</i></p> <hr/>	<p>Abstrak</p> <hr/> <p>Salah satu penyebab utama infeksi terkait layanan kesehatan adalah kejadian infeksi akibat <i>Klebsiella pneumoniae</i> yang umumnya menyebabkan pneumonia, bakteremia, dan infeksi saluran kemih (ISK). Peningkatan risiko terinfeksi bakteri <i>K. pneumoniae</i> banyak dikaitkan dengan munculnya gen resistensi antibiotik. Kemunculan dan penyebaran gen resisten antibiotik, mengurangi kemungkinan pengobatan dan meningkatkan mortalitas dan morbiditas. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi gen TEM dan gen SHV pada <i>K. pneumoniae</i> pada urin pasien rawat inap. Jenis penelitian yang digunakan adalah observasi laboratorium dengan pendekatan <i>cross sectional study</i> menggunakan metode <i>Polymerase Chain Reaction</i> dengan 15 sampel urin pasien rawat inap. Adapun primer yang digunakan untuk mendeteksi bakteri <i>K. pneumoniae</i> dalam sampel yaitu primer KP16. Selain itu, primer blaTEM dan blaSHV digunakan untuk mendeteksi adanya gen resisten pada bakteri <i>K. pneumoniae</i>. Hasil penelitian ini ditemukan 6 sampel positif (40%) <i>K. pneumoniae</i> pada urin pasien rawat inap dengan ukuran target 260bp. Kemudian dilanjutkan dengan deteksi gen TEM dan gen SHV. Ditemukan 1 sampel positif gen TEM (16,6%) dengan ukuran target 445bp dan 4 sampel positif gen SHV (66,6%) dengan ukuran target 747bp. Kesimpulan pada penelitian ini, ditemukan gen TEM dan SHV pada <i>Klebsiella pneumoniae</i> yang resisten terhadap antibiotik golongan sefalosporin pada pasien rawat inap.</p> <p>Kata Kunci: Rawat Inap, <i>Klebsiella pneumoniae</i>, Gen TEM, Gen SHV</p> <p>Abstract</p> <p><i>One of the main causes of healthcare-related infections is the incidence of infections due to Klebsiella pneumonia which commonly causes pneumonia, bacteremia, and urinary tract infections (UTIs). An increased risk of infection with Klebsiella pneumonia bacteria is associated with the emergence of antibiotic resistance genes. The emergence and spread of antibiotic-resistant genes, reduces the chances of treatment and increases mortality and morbidity. This study aimed to detect the TEM gene and SHV gene in K. pneumoniae in the urine of hospitalized patients. The type of research used was laboratory observation with a cross sectional study approach</i></p>	

	<p>using the Polymerase Chain Reaction method with 15 urine samples of hospitalized patients. The primer used to detect <i>K. pneumoniae</i> bacteria in the sample is the KP16 primer. In addition, blaTEM and blaSHV primers were used to detect the presence of resistant genes in <i>K. pneumoniae</i> bacteria. The results of this study found 6 positive samples (40%) of <i>K. pneumoniae</i> in the urine of hospitalized patients with a target size of 260bp. Then proceed with the detection of the TEM gene and SHV gene. Found 1 positive sample of TEM gene (16.6%) with a target size of 445bp and 4 positive samples of SHV gene (66.6%) with a target size of 747bp. The conclusion of this study was that TEM and SHV genes were found in <i>Klebsiella pneumoniae</i> that were resistant to cephalosporin antibiotics in hospitalized patients.</p> <p>Keywords: Inpatient care, <i>Klebsiella pneumoniae</i>, TEM gene, SHV gene</p> <p style="text-align: right;">© 2024 Universitas Abdurrah</p>
□ Alamat korespondensi: Jl. Antang Raya No.43, Makassar E-mail: adeirmabio93@unimerz.ac.id	ISSN 2338-4921

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan masalah kesehatan pada beberapa negara berkembang khususnya di Indonesia. Salah satu infeksi yang umumnya terjadi pada pasien adalah infeksi oleh bakteri *Klebsiella pneumoniae*. Bakteri tersebut merupakan penyebab utama infeksi terkait layanan kesehatan, yang umumnya menyebabkan penyakit pneumonia, bakteremia, dan infeksi saluran kemih (ISK) (Rao *et al.*, 2021).

Klebsiella pneumoniae berpotensi menyebabkan *Healthcare-Acquired Infections* (HAIs) melalui berbagai media dan perawatan pasien yang tersedia di rumah sakit. HAIs adalah infeksi yang terjadi pada pasien selama perawatan kesehatan. HAIs yang disebabkan oleh *Klebsiella pneumoniae* biasanya ditemukan setelah pemantauan selama lebih dari 24 jam di rumah sakit. Ada beberapa jenis dan penyebab HAIs, termasuk pneumonia terkait ventilator (VAP), infeksi paru-paru selama operasi (ILO), infeksi saluran kemih (ISK) akibat infeksi kateter, infeksi darah, *dekubitus*, dan HAIs sebagai akibat dari penggunaan alat diagnostik seperti termometer dan sfigmomanometer. Selain itu, infeksi *Klebsiella pneumoniae* juga dapat terjadi di lingkungan masyarakat atau dalam waktu 48 jam setelah pasien dirawat di rumah sakit, fasilitas perawatan atau sistem kesehatan lainnya yang disebut dengan *Community acquired infections* (CAIs) (Ahmad *et al.*, 2022).

Kasus infeksi saluran kemih sebagian besar berhubungan dengan peningkatan resistensi terhadap agen antimikroba. Permasalahan terkait infeksi saluran kemih saat ini mengalami peningkatan.

Kondisi tersebut dikaitkan dengan meningkatnya angka kejadian resistensi oleh bakteri *K. pneumoniae*. Bakteri *K. pneumoniae* mampu menghasilkan enzim β laktamase sehingga dapat menonaktifkan antibiotik betalaktam dengan cara menghidrolisis atau memecah cincin betalaktam. Adanya pemecahan cincin betalaktam sehingga antibiotik tidak dapat berikatan dengan reseptor pada bakteri. Enzim β laktamase ini paling banyak diproduksi oleh bakteri terutama dari kelompok *Enterobacteriaceae* seperti *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumoniae* (Latifpour *et al.*, 2016).

Salah satu gen yang dianggap sebagai penyebab utama resistensi antibiotik adalah gen *extended-spectrum β -lactamase* (ESBLs). ESBLs merupakan enzim β -laktamase yang dapat menyebabkan bakteri resisten terhadap beberapa antibiotik penisilin, sefalosporin generasi 1,2 dan 3, serta aztreonam (Biutifasari, 2018). Kemampuan galur ESBLs memecah antibiotik betalaktam secara luas disebabkan adanya mutasi pada beberapa gen seperti jenis *sulphydryl variable* (SHV), *temoniera* (TEM), OXA dan sebagainya. Prevalensi bakteri *Enterobacteriaceae* penghasil ESBLs terutama oleh gen SHV dan TEM. Adanya kemampuan bakteri *K. pneumoniae* menghasilkan β laktamase sehingga bakteri tersebut resisten terhadap beberapa golongan antibiotik seperti aztreonam, ceftazidime, dan ciprofloxacin (Latifpour *et al.*, 2016).

Kemunculan dan penyebaran gen resisten antibiotik menjadi masalah kesehatan karena dapat mengurangi keberhasilan pengobatan, meningkatkan mortalitas dan morbiditas pasien dengan rawat inap yang berkepanjangan dan biaya yang tinggi. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Al-Mahfoodh *et al.*, (2021) menjelaskan bahwa gen TEM, SHV, dan CTX-M ditemukan pada bakteri *E. coli* dan *K. pneumoniae* dari sampel urin pasien ISK. Mohammed dan Anwar (2022) menjelaskan bahwa prevalensi strain *Klebsiella pneumoniae* penghasil ESBLs pada sampel klinis menunjukkan adanya perbedaan pada setiap jenis sampel klinis dan kondisi yang berbeda.

Adanya permasalahan terkait resistensi antimikroba sehingga perlu perhatian khusus untuk mengurangi prevalensi ESBLs. Perawatan pasien perlu ditegakkan seperti pasien dengan pemberian antimikroba yang efektif, menegakkan aturan kebersihan yang tepat, dan untuk mempertimbangkan mengakhiri sifat invasif seperti kateterisasi (Ghenea *et al.*, 2022). Hasil penelitian terdahulu terkait gen ESBLs banyak menggunakan sampel klinis pasien ISK dan menunjukkan adanya sifat resistensi bakteri *K. pneumoniae* terhadap antibiotik (Rajivgandhi *et al.*, 2018). Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian terkait deteksi gen TEM dan gen SHV

bakteri *Klebsiella pneumoniae* pada urin pasien umum rawat inap sehingga dapat membantu pasien dalam pencegahan dan pengendalian HAIs.

METODE

Penelitian dilaksanakan dengan menggunakan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*) yang umum digunakan untuk mengidentifikasi patogen dari spesimen yang tersedia. Metode ini juga menguntungkan dalam identifikasi gen resisten seperti gen TEM dan gen SHV pada bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang sulit dibedakan antara patotipe yang satu dengan yang lain jika menggunakan metode konvensional, misalnya dengan mengamati koloni bakterinya saja, serta lebih efisien. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli-Agustus 2023, bertempat di Laboratorium Biologi Molekuler HUM-RC (*Hasanuddin University Medical Research Center*). Adapun alat yang digunakan yaitu sentrifuse, BSC Tipe II, mikropipet 100-1000 μ l, 20-200 μ l, 2-20 μ l (*Bio-Rad*), rak tabung PCR, cetakan *agarosa* dan sisir, sendok tanduk, neraca analitik (*Kern*), botol *Schott Duran*, *Laminar Air Flow* (*ESCO*), *Microwave* (*Electrolux*), *vortex* (*Profuge 6k*), inkubator (*Titramax-1000*), *stopwatch*, gelas ukur (*IWAKI*), *spin down* (*profuge*), sentrifuge mini (*Biofuge Pico*), PCR (*Bio-Rad*), *freezer*, chamber elektroforesis (*Bio-Rad*), dan perangkat *Bio-rad Geldoc* computer (SOP HUM-RC). Bahan yang digunakan yaitu sampel urin pasien rawat inap di RSUD Labuang Baji dan RSUD Daya Kota Makassar, Kit Ekstraksi DNA (*Geneaid*), tabung *Eppendorf* 1,5ml, tabung PCR, *Ethidium Bromida* (*EtBr*), tisu, tip (1.000 μ l, 200 μ l, 20 μ l), Enzim PCR (*Taq DNA polymerase*), $MgCl_2$, *Agarosa 1,5% molecular grade*, DNA leader/marker, *Tris Borate EDTA* (*TBE*) 0,5%, dan *Nuclease Free Water* (*ddH2O*). Adapun primer PCR yang digunakan dalam penelitian ini yaitu ada 3 set. Primer KP16 digunakan untuk mendeteksi adanya *Klebsiella pneumoniae* pada sampel sedangkan primer spesifik blaTEM dan blaSHV untuk mendeteksi gen penyandi ESBLs. Primer tersebut dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 1. Primer PCR

<i>Primer Name</i>	<i>Sequence 5'→3'</i>	<i>Amplicon Size (bp)</i>
KP16-F*	GCAAGTCGAGCGGTAGCACAG	260bp
KP16-R	CAGTGTGGCTGGTCATCCTCTC	
TEM-164.SE**	TCGCCGCATACACTATTCTCAGAATG	445bp
TEM-165AS	ACGCTCACCGGCTCCAGATTTAT	
bla-SHV.SE**	ATGCGTTATATTCGCCTGTG	747bp

bla-SHV.AS TGCTTTGTTTCGGGCCAA

Sumber: *(Tayebeh *et al.*, 2016), ***(Ehlers *et al.*, 2009)

Prosedur Kerja

1. Preparasi Sampel

Sebelum melakukan pengambilan sampel, mengarahkan pasien untuk terlebih dahulu mencuci tangan hingga bersih. Kemudian bersihkan organ kelamin dengan air mengalir. Bagi wanita, bilas organ kelamin dari arah vagina menuju anus. Urin ditampung pada wadah steril dan sudah diberi label kemudian diisi dengan volume sekitar 10-20 ml. Simpan sampel di lemari pendingin dengan suhu 2 sampai 8°C.

2. Ekstraksi DNA

Sampel sebanyak 200 µl urin dimasukkan ke dalam tabung *mikrosentrifuge* steril, kemudian ditambahkan 20 ml proteinase K, lalu dihomogenkan dengan cara *pipetting*. Kemudian diinkubasi pada suhu 60°C selama 5 menit. Setelah itu, ditambahkan 200 µl buffer GSB (*Geneaid*) lalu *vortex* kemudian diinkubasi kembali pada temperatur yang sama selama 5 menit. Setelah di *vortex* ditambahkan etanol absolut (96%) 200µl dan di *vortex* selama 10 detik. Kemudian dipindahkan semua campuran tersebut ke dalam *spin column*, sentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm selama 1 menit (SOP HUM-RC).

Tahapan berikutnya dilakukan pembuangan *collection tube* yang berada di bawah *spin column* dan ganti dengan *collection tube* yang baru. Selanjutnya, tambahkan 400 µl *wash buffer* (W1) lalu sentrifugasi selama 30 detik dengan kecepatan 10.000 rpm, kemudian buang cairan yang ada pada *collection tube*. Lalu ditambahkan 600 µl *wash buffer* (W2) sentrifugasi selama 30 detik, lalu buang cairan pada *collection tube* dan letakkan mikrocentrifuge pada bagian bawah *spin column*. Kemudian, tambahkan 100 µl *Elution buffer*, diamkan selama 3 menit kemudian sentrifugasi dengan kecepatan 13.000 rpm selama 30 detik (SOP HUM-RC).

3. Amplifikasi

Pastikan semua pengerjaan dilakukan di *laminary airflow* untuk mencegah adanya kontaminasi. Untuk 15 sampel dan 2 kontrol (positif dan negatif), dipipet *Enzym Taq polymerase* sebanyak 6,25 µl pada masing-masing tabung *eppendorf*. Kemudian tambahkan 10 mM primer *forward* dan *reverse* masing-masing sebanyak 0,625 µl. Lalu ditambahkan 2,5 µl NFW ke dalam tabung tersebut. Di *vortex* selama 5 detik, lalu pipet 10 µl larutan ke dalam masing-masing tabung PCR. Setelah itu, tambahkan 5 µl DNA (hasil ekstraksi) masing-

masing ke dalam tabung PCR. Kemudian di *spin down* untuk homogenisasi sebelum dimasukkan ke dalam mesin PCR.

Masukkan tabung PCR lalu disetting temperatur mesin PCR sesuai protokol (Tayebeh *et al.*, 2016). Tahap awal proses PCR adalah tahap *denaturasi* awal, kemudian masuk ke program siklus PCR dengan masing-masing siklus terdiri tiga tahap yaitu tahap denaturasi, tahap penempelan primer (*annealing*) dan tahap perpanjangan primer (*extention*). Akhir dari semua siklus dilakukan tambahan proses *extension*.

Kondisi PCR deteksi *Klebsiella pneumoniae* yaitu denaturasi pada suhu 95°C selama 3 menit, diikuti 28 siklus selama 45 detik pada suhu 95°C, *annealing* pada suhu 58°C selama 45 detik, *extention* pada suhu 72°C selama 1 menit, kemudian di ikuti *extention* terakhir selama 5 menit pada suhu 72°C (Tayebeh *et al.*, 2016). Kondisi PCR deteksi gen TEM dan gen SHV pada *K. pneumoniae* yaitu denaturasi pada suhu 95°C selama 5 menit, diikuti 30 siklus selama 30 detik pada suhu 95°C, *annealing* pada suhu 55°C selama 30 detik, *extention* pada suhu 72°C selama 4 menit, kemudian di ikuti *extention* terakhir selama 7 menit pada suhu 72°C (Ehlers *et al.*, 2009).

4. Elektroforesis

Gel agarosa dibuat dengan menambahkan 1,5 gr bubuk agarosa dalam botol *Schott Duran* kemudian tambahkan 100 ml TBE. Lalu dipanaskan di dalam microwave sampai seluruh bubuk larut sempurna. Setelah itu, didiamkan hingga panasnya sekitar 60°C. Kemudian tambahkan 10µl *ethidium bromide*. Lalu dituangkan dalam cetakan yang telah disiapkan. Tahap selanjutnya yaitu diamkan gel selama 1 jam hingga memadat (SOP HUM-RC).

Lepaskan sisir sehingga terbentuk well. Lalu pindahkan gel ke dalam *chamber* elektrofoesis yang berisi TBE 0,5x. Masukkan 8µl hasil amplifikasi yang telah di PCR, kontrol positif, dan kontrol negatif ke dalam well. Kemudian 6µl DNA Ladder sebagai penanda. Lalu dijalankan elektroforesisnya dengan menyalakan powerpac dari aliran negatif ke positif. Tunggu sampai 40-60 menit sehingga warna loading buffer yang biru berpindah ke tengah gel. Setelah itu, matikan *powerpac*, selanjutnya pembacaan hasil elektroforesis dilakukan pada UV Transluminator atau *Geldoc* (SOP HUM-RC).

5. Gel Documentation System

Gel dokumetation system atau yang sering disebut dengan *Geldoc* merupakan alat yang berfungsi untuk mendokumentasikan pita (*band*) DNA pada gel dari *running* elektroforesis.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan sampel sebanyak 15 sampel dimana kriteria sampel yang diambil yaitu pasien rawat inap yang mengonsumsi antibiotik. *Klebsiella pneumoniae* dapat menyebabkan masalah serius pada kesehatan manusia, berdasarkan terjadinya peningkatan penyakit infeksi saluran kemih (ISK) dan terjadinya resistensi antibiotik. *K. pneumoniae* termasuk kedalam kelompok bakteri *Enterobacteriaceae* yang merupakan salah satu penghasil enzim *Extended Spectrum β -lactamase* (ESBLs). Hasil penelitian (Fadil *et al.*, 2022) menjelaskan bahwa prevalensi terbanyak bakteri penghasil ESBLs adalah *Klebsiella pneumoniae* diikuti oleh *Escherichia coli* dan *Acinetobacter sp.*

Adapun karakteristik subjek penelitian dalam penelitian ini dapat dilihat pada tabel 2.

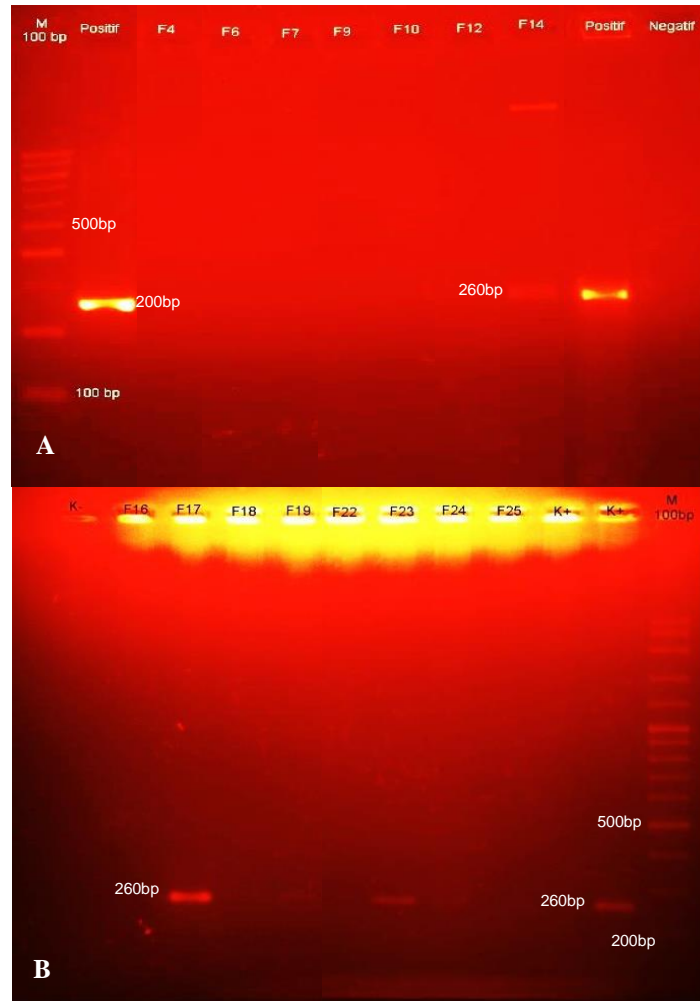
Tabel 2. Distribusi Karakteristik Subjek Penelitian

Karakteristik	Responden	Persentase (%)
Jenis Kelamin		
Laki-Laki	4	26,7 %
Perempuan	11	73,3 %
Usia		
40 – 55 Tahun	9	60%
56 – 70 Tahun	6	40%
Lama Rawat Inap		
≤ 2 hari	-	0%
> 3 hari	15	100%
Total	15	100 %

Sumber: Data penelitian

Berdasarkan tabel 2, penelitian ini memiliki 4 karakteristik subjek penelitian yaitu jenis kelamin, usia, dan lama rawat inap. Total responden sebanyak 15 sampel yang menjadi subjek penelitian berdasarkan jenis kelamin, terdiri dari laki-laki sebanyak 4 orang (26,7%) dan perempuan sebanyak 11 orang (73,3%). Berdasarkan usia responden menunjukkan bahwa usia 40 – 55 tahun sebanyak 9 orang (60%) dan usia 56 – 70 tahun sebanyak 6 orang (40%). Berdasarkan lama rawat inap, menunjukkan bahwa pasien yang dirawat selama kurang dari 2 hari sebanyak 0 orang (0%) dan pasien yang dirawat selama > 3 hari sebanyak 15 orang (100%).

Adapun hasil elektroforesis deteksi *Klebsiella pneumoniae* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil Visualisasi Elektroforesis Deteksi *Klebsiella pneumoniae* terlihat pada Gambar A dan B

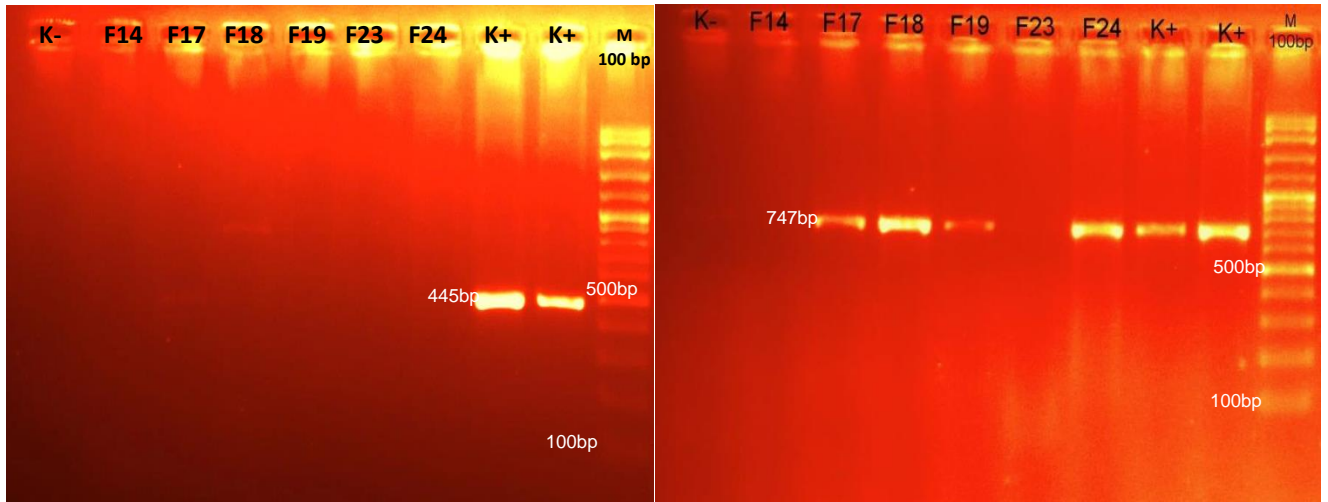
Berdasarkan hasil elektroforesis yang telah divisualisasikan menggunakan *Geldoc* UV *Transilluminator* menunjukkan bahwa dari 15 sampel yang teterdeteksi positif (+) adanya bakteri *Klebsiella pneumoniae* sebanyak 6 sampel positif (40%) yaitu F14, F17, F18, F19, F23, dan F24 dengan ukuran target 260 bp (Gambar 1). Hasil positif (+) akan dilanjutkan untuk deteksi gen yaitu gen *Temoneira* (TEM) dan gen *Sulphydryl Variable* (SHV) untuk melihat resistensi antibiotik pada pasien rawat inap.

Tabel 2. Interpretasi Hasil Amplifikasi

No.	Sampel	Hasil
1	F4	-
2	F6	-
3	F7	-
4	F9	-
5	F10	-
6	F12	-
7	F14	+
8	F16	-
9	F17	+
10	F18	+
11	F19	+
12	F22	-
13	F23	+
14	F24	+
15	F25	-

Ket: - = tidak terdeteksi *Klebsiella pneumoniae*
+ = terdeteksi *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae merupakan bakteri penghasil ESBLs yang bertanggung jawab atas strain resisten antibiotik. Doosti *et al.*, (2015) menjelaskan bahwa produksi enzim β -laktamase merupakan mekanisme utama resistensi bakteri terhadap berbagai antibiotik. Beberapa genotif yang terdeteksi mengkode bakteri penghasil ESBLs adalah gen *temoniera* (TEM) dan *sulphydryl variable* (SHV). Gen TEM dan SHV merupakan gen pembawa ESBLs yang di dapat dari mutasi yang mengubah konfigurasi asam amino di sekitar daerah sisi aktif enzim β -laktamase (Rahmadhan *et al.*, 2019). Yuwono (2013) menyatakan bahwa gen TEM dan SHV merupakan gen penyandi dari ESBLs yang diproduksi oleh bakteri golongan *Enterobacteriaceae* khususnya *K. pneumoniae* yang di dapatkan dari mutasi yang mengubah konfigurasi asam amino di sekitar daerah aktif dari β -laktamase. ESBLs tipe TEM adalah varian dari plasmid asli yang dimediasi β -laktamase yang paling umum ditemukan pada *E. coli* dan *K. pneumoniae*. β -laktamase tipe SHV (dinamakan demikian untuk variabel reagen *sulphhidril*) berasal dari enzim yang dikodekan oleh *K. pneumoniae*. Mekanisme resistensi antibiotik betalaktam disebabkan oleh adanya produksi enzim β -laktamase pada bakteri. Enzim tersebut dikodekan oleh plasmid bakteri sehingga mampu menghidrolisis ikatan cincin β -laktam dari antibiotik seperti penisilin, sefalosporin, dan aztreonam.



Gambar 2. Hasil Visualisasi Elektroforesis Deteksi Gen ESBLs pada *Klebsiella pneumoniae*

A. Gen TEM dan B. Gen SHV

Keterangan : M = Marker
 F4-F25 = Kode Sampel
 K+ = Kontrol Positif
 K- = Kontrol Negatif
 260bp = Ukuran target *Klebsiella pneumoniae*
 445bp = Ukuran target gen TEM
 747bp = Ukuran target gen SHV

Tabel 3. Hasil deteksi gen TEM dan gen SHV pada *Klebsiella pneumoniae*

No.	Kode Sampel	Gen TEM	Gen SHV
1.	F14	-	-
2.	F17	+	+
3.	F18	-	+
4.	F19	-	+
5.	F23	-	-
6.	F24	-	+

Sumber: Data Penelitian

Ket: - = tidak terdeteksi gen TEM dan SHV
 + = terdeteksi gen TEM dan SHV

Berdasarkan hasil deteksi Gen TEM dan Gen SHV pada *Klebsiella pneumoniae* dari sampel urin pasien rawat inap ditemukan 1 positif adanya Gen TEM pada kode sampel F17 dan 4 positif adanya Gen SHV pada kode sampel F17, F18, F19, dan F24.

Tabel 5. Persentase deteksi gen TEM dan gen SHV pada *Klebsiella pneumoniae*

No.	Jenis Gen	Jumlah (n)	Persentase (%)
1.	Gen TEM	1	16,6%
2.	Gen SHV	4	66,6%

Sumber: Data Penelitian

Hasil penelitian ini menunjukkan adanya sampel positif *Klebsiella pneumoniae* dengan gen TEM dan SHV (gen resistansi antibiotik). Hasil yang diperoleh sesuai dengan penelitian (Ervina *et al.*, 2021) bahwa bakteri *Klebsiella pneumoniae* sebagai salah satu bakteri gram negatif yang menduduki jumlah terbanyak bakteri patogen di ruang rawat inap, diikuti *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, dan *Enterobacter cloacae*. Selain itu, juga diperkuat oleh hasil penelitian (Bajpai *et al.*, 2017) bahwa prevalensi TEM1, SHV1 pada isolat penghasil ESBL terutama *K. pneumoniae* pada pasien nosokomial adalah 24%, dan 29,3%, dan pada pasien yang didapat dari komunitas masing-masing 17,3%, dan 22,7%.

Pada sampel kode F17 ditemukan adanya gen TEM yang diproduksi oleh bakteri *K. pneumoniae* yang ditandai dengan adanya pita DNA sebesar 454 bp. Menurut Angria *et al.*, (2022) menjelaskan bahwa adanya sifat resistensi oleh bakteri *K. pneumoniae* disebabkan oleh enzim ESBLs yang dikode oleh gen TEM. Adapun sampel dengan kode F17, F18, F19 dan F24 ditemukan adanya gen SHV yang diproduksi oleh bakteri *K. pneumoniae*. Hasil yang diperoleh sesuai dengan hasil penelitian Yuwono (2013) bahwa ESBLs dengan gen SHV lebih dominan ditemukan pada spesies bakteri *K. pneumoniae*. Terdapatnya gen SHV pada *Enterobacteriaceae* yang memproduksi ESBL menunjukkan bahwa sudah terjadi penyebaran bakteri yang memiliki enzim yang dapat melisis cincin betalaktam dari antibiotik golongan sefalosporin. Setyowati dan Silviani (2020) menyatakan bahwa faktor yang mempengaruhi terjadinya resistensi bakteri *K. pneumoniae* terhadap antibiotik sefalosporin khususnya Ceftriaxone yaitu penggunaan antibiotik empiris yang paling banyak diberikan serta penggunaan antibiotik yang ekstensif (digunakan secara luas kepada pasien). Hasil negatif gen TEM dan gen SHV pada sampel (kode F14 dan F23) dapat disebabkan oleh proses pengerjaan sampel dan genetik dari bakteri tersebut seperti terjadi mutasi gen lainnya.

Berdasarkan karakteristik sampel, pasien sedang dalam perawatan dan mengonsumsi antibiotik golongan sefalosporin yaitu ceftriaxone. Fakta bahwa lama rawat inap dan usia lanjut diakui sebagai faktor risiko isolasi *K. pneumoniae* penghasil ESBLs. Sebagai patogen infeksi nosokomial, *K. pneumoniae* terutama membahayakan orang dengan sistem kekebalan tubuh lemah. Oleh karena itu, seringkali memerlukan rawat inap yang berkepanjangan dan prosedur invasif (penggunaan kateter dan lain sebagainya) yang melanggar pertahanan normal pejamu dan meningkatkan kolonisasi dan infeksi bakteri.

Prevalensi infeksi *Klebsiella pneumoniae* pada pasien rawat inap tiga kali lipat lebih tinggi pada wanita dibandingkan pada laki-laki. Hal ini sesuai dengan penelitian Novayanti *et al.*, (2020) bahwa infeksi bakteri *K. pneumoniae* lebih sering terjadi pada wanita daripada laki-laki karena secara anatomis uretra perempuan yang lebih pendek serta vagina dan orifisium uretra merupakan daerah kolonisasi bakteri. Hilangnya mikroflora yang resisten terhadap antibiotik juga dapat meningkatkan resistensi seseorang terhadap antibiotik dengan akuisisi strain baru. Hal ini dapat meningkatkan risiko kolonisasi oleh bakteri resisten jika paparan terjadi selama atau segera setelah pengobatan antibiotik. Kebanyakan dari isolat *K. pneumoniae* penghasil ESBLs telah resisten terhadap antibiotik fluoroquinolon. Oleh karena itu, terapi dengan menggunakan jenis antibiotik tersebut perlu dikurangi untuk infeksi yang disebabkan oleh bakteri penghasil ESBLs. Menurut Tumbarello *et al.*, (2006) menjelaskan bahwa infeksi oleh bakteri *K. pneumoniae* yang memproduksi ESBL menunjukkan hasil yang lebih baik ketika obat carbapenem dimasukkan dalam terapi awal.

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ditemukan gen TEM dan SHV pada *Klebsiella pneumoniae* yang resisten terhadap antibiotik golongan *sefalosporin* pada pasien rawat inap. Didapatkan hasil 6 sampel (40%) positif dari 15 sampel urin yang diteliti yang terdeteksi adanya *Klebsiella pneumoniae*. Setelah dilanjutkan dengan deteksi gen TEM dan SHV pada *Klebsiella pneumoniae*, didapatkan hasil positif gen TEM pada 1 sampel (16,6%) dan positif gen SHV pada 4 sampel (66,6%).

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada semua pihak yang telah memberikan dukungan, membantu dan bekerjasama dalam penyelesaian penelitian ini dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, Q., Sabrina, T., Diba, M.F., Amelia, E., Putra, R.A. (2022). Gambaran Infeksi *Klebsiella pneumoniae* Penghasil Extended-spectrum β -lactamase (ESBL) Pada Pasien COVID-19 di RSUP Dr. Mohammad Hoesin Periode Januari 2021- Juni 2021. *JAMBI MEDICAL JOURNAL:Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan*. 10(2):186–198.
- Al-Mahfoodh WJ., Pekacar, FS., Abbsa, AH. (2021). The Molecular Study for Evaluation The Antibiotic Resistance of *Escherichia coli* And *Klebsiella pneumoniae* Bacteria Isolated From Urinary Tract Infection Patients. *Gene Report*. 25(4): 101423. <https://doi.org/10.1016/j.genrep.2021.101423>.

- Angria, N., Kinanti, D., Apriyani, N., Aspalela, S. (2022). Deteksi Gen Temoneira (TEM) dan Sulfhydryl Variabel (SHV) pada Bakteri Golongan Enterobacteriaceae Penghasil ESBL Pada Pasien Infeksi Saluran Kemih (ISK). *Prosiding Asosiasi Institusi Pendidikan Tinggi Teknologi Laboratorium Medik Indonesia*, pp. 108–119.
- Bajpai, T., Pandey, M., Varma, M., Bhatambare, GS. (2017). Prevalence of TEM, SHV, and CTX-M Beta-Lactamase Genes in The Urinary Isolates of a Tertiary Care Hospital. *Avicenna Journal of Medicine*. 7(1):12–16. Available at: <https://doi.org/10.4103/2231-0770.197508>.
- Biutifasari, V. (2018). Extended Spectrum Beta- Lactamase (ESBL). *Oceana Biomedicina Journal*. 1(1): 1–11.
- Doosti, A., Pourabbas, M., Arshi, A., Chehegerdhi, M., Kabiri, M. (2015). TEM and SHV Genes in *Klebsiella pneumoniae* Isolated from Cockroaches and Their Antimicrobial Resistance Pattern. *Osong Public Health and Research Perspectives*. 6(1): pp. 3–8. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.phrp.2014.10.011>.
- Ehlers, M.M., Veldsman. C., Makgotlho, E.P., Dove, M.G., Hoosen, A.A., Kock, M.M. (2009). Detection of blaSHV, blaTEM and blaCTX-M antibiotic resistance genes in randomly selected bacterial pathogens from the Steve Biko Academic Hospital. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*. 56(3), pp. 191–196.
- Ervina, T., Dharmawan, A., Harahap, E.D., Tan, H.T., Latifah R. (2021). Gambaran Pola Bakteri dan Kepekaan Antibiotik Pada Pasien Rawat Inap dengan Pneumonia di Rumah Sakit Paru Dr. M. Goenawan Partowidigdo Periode Januari – Juni 2019. *Jurnal Kedokteran Meditek*. 27(2), pp. 102–108. Available at: <https://doi.org/10.36452/jkdoktmeditek.v27i2.1936>.
- Fadil, M.F. (2022). Gambaran Sensitivitas Bakteri Penghasil Enzim ESBL terhadap Beberapa Antimikroba di RSUP Dr. M. Djamil Padang Periode 2018-2019. *Jurnal Ilmu Kesehatan Indonesia*. 2(2), pp. 87–94. Available at: <https://doi.org/10.25077/jikesi.v2i2.448>.
- Ghenea, A.E., Zlatian, O.M., Ungureanu, A., BalasoIU, A.T., Vasile, C.M., Salan, A., Iluta, D., Popescu, M., Udriș, A., BalasoIU, M. (2022). TEM, CTX-M, SHV Genes in ESBL-Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* Isolated from Clinical Samples in a County Clinical Emergency Hospital Romania-Predominance of CTX-M-15. *Antibiotics*. 11(4), p. 503. Available at: <https://doi.org/10.3390/antibiotics11040503>.
- Latifpour, M., Gholipour, A., Damavandi, M.S. 2016. Prevalence of Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Klebsiella pneumoniae* Isolates in Nosocomial and Community-Acquired Urinary Tract Infections. *Jundishapur Journal of Microbiology*. 9(3). Available at: <https://doi.org/10.5812/jjm.31179>.
- Mohammed, A.B. and Anwar, K.A. (2022). Phenotypic and Genotypic Detection Of Extended Spectrum Beta Lactamase Enzyme In *Klebsiella pneumoniae*. *PLOS ONE*. 17(9), p. e0267221. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0267221>.
- Novayanti, D., Loesnihari, R. and Muzahar, M. (2020). Perbedaan jenis kuman pada pasien Diabetes Mellitus Tipe-2 (DM-2) dengan infeksi saluran kemih dan bakteriuria

Ade Irma, Indas Wari Rahman, Ka'bah, Nurul Fathoana / Jurnal Analisis Kesehatan Klinikal Sains 12 (1) (2024)

asimtomatik di RSUP H. Adam Malik, Medan, Indonesia. *Intisari Sains Medis*. 11(1), pp. 333–339. Available at: <https://doi.org/10.15562/ism.v11i1.569>.

Rahmadhan D., Sari, R., Apridamayanti, P. (2019). Pengaruh Suhu annealing terhadap Amplifikasi Gen TEM menggunakan Primer dengan %GC Rendah. *Jurnal UNTAN*. 4(1), pp. 1–7.

Rajivgandhi, G., Maruthupandy, M., Govindan, R., Muthu, P. (2018). Detection of ESBL Genes From Ciprofloxacin Resistant Gram Negative Bacteria Isolated From Urinary Tract Infections (UTIs). *Frontiers in Laboratory Medicine*. 2(1), pp. 5–13. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.flm.2018.01.001>.

Rao, K., Patel, A., Sun, Y. (2021). Risk Factors for Klebsiella Infections among Hospitalized Patients with Preexisting Colonization. *ASM Journal*. 6(3). Available at: <https://doi.org/10.1128/mSphere.00132-21>.

Setyowati, M.E., and Silviani, Y. (2020). Pola Kepekaan *Klebsiella pneumoniae* terhadap Antibiotik Cefotaxime, Ceftazidime dan Ceftriaxone pada Pasien Pneumonia. Proceeding 1 st Setia Budi Conference on Innovation in Health, Accounting, and Management. 1: 1-5. <https://doi.org/10.31001/cihams.v1i.21>.

Tayebeh, F., Amani, J., Nazarian, S., Moradyar, M., Mirhosseini, S.A. (2016). Molecular Diagnosis of Clinically Isolated *Klebsiella pneumoniae* Strains by PCR-ELISA. *Journal of Applied Biotechnology Reports*. 3(4): 501-505.

Tumbarello, M., Spanu, T., Sanguinetti, M., Citton, R., Montuori, E., Leone, F., Fadda, G., Cauda, R. (2006). Bloodstream Infections Caused by Extended-Spectrum- β -Lactamase-Producing *Klebsiella pneumoniae* : Risk Factors, Molecular Epidemiology, and Clinical Outcome. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 50(2), pp. 498–504. Available at: <https://doi.org/10.1128/AAC.50.2.498-504.2006>.

Yuwono. (2013). Identifikasi Gen SHV pada Enterobacteriaceae Produsen Extended-Spectrum Beta-Lactamases (ESBLs). *Syifa' MEDIKA*. 4(1): 1-7.