

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Resistensi bakteri terhadap antibiotik merupakan ancaman bagi kesehatan baik di Indonesia maupun di dunia, hal ini terjadi karena penggunaan antibiotik yang relatif tinggi. Resistensi ini selain berdampak pada morbiditas dan mortalitas, juga memberi dampak negatif terhadap ekonomi dan sosial yang sangat tinggi. Pada awalnya resistensi terjadi di tingkat rumah sakit, tetapi lambat laun juga berkembang di lingkungan masyarakat, khususnya *Streptococcus pneumoniae* (SP), *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli* (Kemenkes, 2011).

Beberapa kuman resisten antibiotik sudah banyak ditemukan di seluruh dunia, yaitu *Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus* (MRSA), *Vancomycin-Resistant Enterococci* (VRE), *Penicillin Resistant Pneumococci*, *Klebsiella pneumoniae* yang menghasilkan *Extended-Spectrum Beta-Lactamase* (ESBL), *Carbapenem-Resistant Acinetobacter baumannii* dan *Multiresistant Mycobacterium tuberculosis* (Severin *et al*, 2010).

Di Eropa diperkirakan 25 ribu orang meninggal setiap tahun akibat infeksi yang disebabkan bakteri yang multiresisten. Sekitar 2 juta orang di Amerika Serikat terinfeksi oleh bakteri yang resisten terhadap antibiotik setiap tahunnya dan paling sedikit 23.000 orang meninggal tiap tahunnya akibat infeksi tersebut (CDC, 2014). Hasil Penelitian *Antimicrobial Resistance in Indonesia, Prevalence and Prevention (AMRIN Study)* yang merupakan penelitian kolaborasi Indonesia dan Belanda di RSUD Dr. Soetomo Surabaya dan RSUP Dr. Kariadi Semarang

pada tahun 2001-2005 menunjukkan terdapat bakteri multi-resisten, seperti MRSA (Methicillin Resistant Staphylococcus aureus) dan bakteri penghasil ESBL (*Extended Spectrum Beta Lactamases*) (Severin *et al.*, 2010)

Hasil penelitian di RSUP dr. M. Djamil Padang, dari 6387 spesimen yang dilakukan uji sensitivitas, 3689 isolat termasuk ke dalam MDR (*Multi Drug Resistance*). Bakteri yang termasuk ke dalam MDR adalah *Klebsiella sp*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter sp*, *Pseudomonas sp*, *E. Coli*, *Proteus sp*. Persentase resistensi pada tahun 2010 (62%), 2011 (55%) dan 2012 (58%) (Sjahjadi N R *et al.*, 2015). Dari hasil penelitian diatas *Pseudomonas sp* termasuk bakteri MDR, salah satu *Pseudomonas sp* yang patogen adalah *P. aeruginosa*.

Bakteri *P. aeruginosa* bersifat oportunistik, dapat menyebabkan berbagai jenis infeksi pada manusia di komunitas maupun di tempat perawatan. Bakteri ini penyebab utama infeksi nosokomial dengan prevalensi yang bervariasi (Tokajin *et al.*, 2012). Menurut Chi *et al* (2012) *P. aeruginosa* menyebabkan 12 % dari infeksi nosokomial. Pada tahun 2003, di rumah sakit Dr. Moewardi Fakultas Kedokteran UNS Surakarta, penyebab tertinggi infeksi nosokomial adalah *P. aeruginosa* (13 %). Di bangsal syaraf RSUP Dr. M. Djamil Padang, *P. aeruginosa* salah satu penyebab infeksi nosokomial, 13,3 % dari pasien yang dirawat terinfeksi *P. aeruginosa* (Umami, 2011).

Bakteri ini dapat menyebabkan infeksi pada luka dan luka bakar, menghasilkan nanah warna hijau biru; meningitis jika masuk melalui fungsi lumbal; dan infeksi saluran kencing jika masuk melalui kateter dan instrument atau karena larutan irigasi. Menyebabkan pneumonia akibat penggunaan alat

respirator yang tercemar; otitis eksterna ringan pada perenang dan otitis eksterna ganas pada pasien diabetes; pada bayi mungkin masuk ke aliran darah dan mengakibatkan sepsis (Jawets *et al*, 2007).

Hasil isolasi dari sputum, darah dan urin pasien yang dirawat di Intensive Care Unit rumah sakit Iran serta dari alat antara lain *foley catheters*, *nasogastric tubes* dan *endotracheal tubes* didapatkan isolat *P. aeruginosa* 43.2% (Jamshidi *et al.*, 2009). Pada pasien luka bakar di Tohid Hospital Iran, ditemukan dari 176 spesimen klinik, 145 positif mengandung *P. aeruginosa* (Kalantar *et al.*, 2012). Bakteri ini juga penyebab utama infeksi pada luka terutama di negara berkembang. Dari 300 spesimen luka ditemukan 100 yang mengandung *P. aeruginosa* (Akingbade *et al.*, 2012). Dari urin pasien di Uttar Pradesh India ditemukan 132 dari 174 sampel mengandung *P. aeruginosa* (Prakash & Saxena, 2013).

Pengobatan infeksi *P. aeruginosa* dilakukan dengan menggunakan antibiotik antipseudomonas yaitu golongan penisilin, sefalosporin, karbapenem aminoglikosida, dan fluorokuinolon (Golshami & Ali, 2013). Selain itu digunakan juga kombinasi antibiotik yang sinergis (Prinsloo, Straten & Weldhagen, 2008). Pengobatan infeksi *P. aeruginosa* sekarang menjadi masalah yang serius di seluruh dunia terutama pada negara berkembang. Hal ini terjadi karena bakteri ini banyak yang sudah resisten terhadap antibiotik. Resistensi ini meningkat secara drastis pada beberapa tahun terakhir. Prevalensi resistensi antibiotik sangat bervariasi antar dan dalam satu negara. Faktor yang menyebabkan terjadinya resistensi pada negara berkembang ini antara lain terjadinya penurunan potensi antibiotik karena degradasi obat atau rendahnya konsentrasi zat aktif, seperti

Ampisillin dan Tetrasiklin yang ditemukan di Nigeria atau karena transportasi dan penyimpanan yang tidak sesuai. Selain itu juga karena jeleknya diagnosa infeksi, sebagian besar rumah sakit tidak memiliki laboratorium mikrobiologi sehingga tidak dapat memberikan informasi etiologi infeksi dan sensitivitas patogen terhadap antibiotik yang akan diresepkan dokter, sehingga pengobatan dilakukan secara empirik dengan antibiotik spektrum luas (Jordi & Pal, 2010).

Khan *et al* (2008) mengisolasi *P. aeruginosa* dari berbagai ruangan rumah sakit di Afganistan, dari 4709 isolat, 6,6 % *P. aeruginosa*. Isolat paling resisten terhadap ampisilin (98,4%), diikuti oleh ampisilin/sulbaktam (85,3%), co-amoksiklav (83,8%) dan ofloksasin (68,4%) dan amikasin (24%). Ramana & Chaudhury (2012) mengisolasi *P. aeruginosa* dari kateter urin, tip tabung endotracheal, dan *central venous catheter*, didapatkan 290 isolat dengan resistensi tertinggi terhadap sefotaksim dan gentamisin (40%), diikuti siprofloksasin (39%), amikasin (26%), sefoperazon-sulbaktam (22%), piperasilin-tazobaktam (16%) dan imipenem (14%). Sebanyak 33 isolat *P. aeruginosa* yang diisolasi dari darah pasien di rumah sakit Houston multi resisten. Semua resisten terhadap karbapenem dan aminoglikosida, 91 % resisten penisillin/sefalosporin dan 21 % resisten terhadap aminoglikosida (Tam *et al.*, 2010).

Di RSUP dr. M. Djamil Padang juga ditemukan *P. aeruginosa* yang resisten terhadap antipseudomonas. Isolat yang diisolasi dari 12 orang pasien luka pasca operasi di bangsal bedah yang diuji resistensinya terhadap beberapa antibiotik (Gentamisin, Siprofloksasin, Sefotaksim, Seftriakson, Seftazidim dan Meropenem) didapatkan Meropenem yang paling sensitif dan Seftazidim yang paling resisten (Rustini dkk., 2011). Sedangkan dari sputum dan swab tenggorok

pasien yang dirawat di bangsal syaraf sensitif tertinggi terhadap meropenem dan resisten terhadap sefotaksim (Umami., 2011).

Resistensi *P. aeruginosa* terhadap antibiotik dengan beberapa mekanisme antara lain dengan memproduksi enzim  $\beta$ -laktamase yang dapat mendestruksi antibiotik, mengurangi permeabilitas membran terluar dan membran sitoplasma, memproduksi enzim yang dapat memodifikasi aminoglikosida, kehilangan porin  $D_2$  membran terluar (OprD), penekanan mutasi kromosom AmpC, mendapat plasmid/transposon, memodifikasi DNA gyrase, dan multi substrat efflux pumps (Tokajian *et al.*, 2012; Prinsloo, Straten & Weldhagen., 2008).

Untuk pengobatan infeksi *P. aeruginosa* dapat digunakan antibiotik golongan  $\beta$ -laktam, aminoglikosida dan fluorokuinolon, yang paling banyak digunakan adalah golongan  $\beta$ -laktam. Antibiotik ini bekerja pada dinding sel bakteri dengan cara menghambat sintesis dinding sel bakteri. Pada proses pembentukan dinding sel, terjadi reaksi transpeptidasi yang dikatalis oleh enzim transpeptidase dan menghasilkan ikatan silang antara dua rantai peptida-glukan. Enzim ini dapat mengikat antibiotik  $\beta$ -laktam sehingga menyebabkan enzim tidak mampu mengkatalisis reaksi transpeptidase walaupun dinding sel tetap terus dibentuk. Dinding sel yang terbentuk tidak memiliki ikatan silang dan peptidoglikan yang terbentuk tidak sempurna sehingga lebih lemah dan mudah terdegradasi. Pada kondisi normal, perbedaan tekanan osmotik antara lingkungan dan sel bakteri Gram negatif juga dapat menyebabkan terjadinya lisis sel. Selain itu, kompleks protein transpeptidase dan antibiotik  $\beta$ -laktam akan menstimulasi

senyawa autolisin yang dapat mendigesti dinding sel bakteri tersebut. Bakteri yang kehilangan dinding sel maupun mengalami lisis akan mati (Poole, 2011).

Bakteri *P. aeruginosa* salah satu bakteri Gram negatif yang dapat menghasilkan enzim  $\beta$ -laktamase yang dapat memecah cincin  $\beta$ -laktam pada antibiotik tersebut dan membuatnya menjadi tidak aktif. Enzim  $\beta$ -laktamase dapat memutus ikatan C-N pada cincin  $\beta$ -laktam sehingga antibiotik tidak dapat berikatan dengan protein transpeptidase akibatnya terjadi kehilangan kemampuan untuk menginhibisi pembentukan dinding sel bakteri. Gen penyandi enzim  $\beta$ -laktamase ditemukan pada kromosom dan plasmid sehingga dapat ditransfer antar spesies bakteri, hal ini yang menyebabkan resistensi terhadap antibiotik  $\beta$ -laktam dapat menyebar dengan cepat (Basak *et al.*, 2013).

Enzim  $\beta$ -laktamase pertama kali ditemukan di Yunani pada tahun 1960, diberi nama TEM sesuai dengan nama pasien yang pertama terinfeksi bakteri ini yaitu Temoniera. Bakteri ini resisten terhadap penisilin dan sefalosporin generasi I. Selanjutnya terjadi mutasi pada nukleotida dari gen yang mengkode enzim tersebut sehingga bakteri menjadi resisten terhadap golongan antibiotik yang lebih luas yaitu terhadap sefalosporin generasi II dan III serta monobaktam (Aztreonam) (Chika *et al.*, 2015).

ESBL pertama kali ditemukan pada tahun 1983 di Jerman pada bakteri *Klebsiella pneumoniae*. ESBL adalah mutan dari  $\beta$ -laktamase, mutasi merubah konfigurasi asam amino disekitar tempat aktif  $\beta$ -laktamase (Ghafourian *et al.*, 2014). Untuk menghalangi kerja ESBL telah ditemukan inhibitorynya yaitu asam

klavulanat, sulbaktam dan tazobaktam, kerja inhibitor ini memberikan hasil yang bervariasi.

Bakteri *P. aeruginosa* yang menghasilkan ESBL umumnya bersifat *multi drug resisten* (MDR). Akibat dari MDR ini maka pengobatannya lebih sulit karena terbatasnya jumlah antibiotik yang dapat digunakan sehingga dapat meningkatkan angka morbiditas dan mortalitas. ESBL juga menyebabkan resisten terhadap antibiotik golongan aminoglikosida dan fluoroquinolon (Viedma *et al.*, 2012).

ESBL tidak dapat dideteksi dengan uji sensitifitas antibiotik difusi agar yang rutin dilakukan. Enzim ini dapat ditentukan dengan metode fenotip dan genotip. Metode fenotip menggunakan *double disc synergy tests* dengan antibiotik Sefotaksim 30 µg atau Seftazidim 30 µg dengan atau tanpa asam klavulanat (Fazeli *et al.*, 2012). Metode genotip ditentukan dengan PCR menggunakan primer untuk masing-masing var gen yang akan dideteksi. Var gen pengkode ESBL yang banyak ditemukan adalah var gen blaTEM, blaCTX, blaOXA, blaSHV, blaKPC dan blaPER (Fazeli *et al.*, 2012; Sadehi *et al.*, 2010).

Persentase resistensi *P. aeruginosa* yang menghasilkan ESBL lebih besar dari yang tidak menghasilkan, Selain itu juga memperlihatkan sifat virulen yang berbeda, yang menghasilkan ESBL lebih bersifat virulen dari yang tidak menghasilkan ESBL (Mansouri *et al.*, 2012).

Pemeriksaan ESBL jarang dilakukan sehingga banyak menyebabkan kegagalan pengobatan dengan menggunakan β-laktam (Begum *et al.*, 2013). Hal ini sangat perlu dilakukan untuk mencegah penyebaran resistensi di dalam dan di luar rumah sakit. Prevalensi bakteri penghasil ESBL dari material darah di RSUP

Dr. Kariadi tahun 2004-2005 adalah 34,76%. Persentase tertinggi bakteri penghasil ESBL adalah *P. aeruginosa*, *Escherichia aerogenes* dan *Escherichia coli* (Winarto, 2009)

Hasil penelitian Husaina (2015), bakteri penghasil ESBL di RSUP dr. M. Djamil Padang tahun 2011-2013, 28% Gram positif dan 72% Gram negatif. Prevalensi terbanyak ditemukan pada ruang penyakit dalam sebanyak 32,2% dengan spesies terbanyak *Klebsiella* sp 61,2%, *Pseudomonas aeruginosa* 17,1%, *Proteus* sp 10,3%, *Escherichia coli* 9,7% dan *Enterobacter* sp 1,7% dengan jumlah spesimen yang diperiksa 5202.

ESBL dihasilkan oleh *P. aeruginosa* secara alami dan induksi, sehingga sulit untuk pengobatannya. Isolat *P. aeruginosa* dari sputum dan urin, 22,2 % memproduksi ESBL, dari sputum 40 % dan urine 60 %. *P. aeruginosa* penghasil ESBL sensitif 100 % terhadap imipenem, meropenem dan amikasin, terhadap siprofloksasin 50%, gentamisin 30 %, seftiazon 0 %, septazidim 50 % dan sefepim 40 % (Okesom & Oni, 2012). Dari 176 spesimen klinik pasien luka bakar di Tohid Hospital, Iran ditemukan gen penghasil var gen blaPER-1 (48 %) dan blaOXA-10 (52 %). *P. aeruginosa* yang menghasilkan ESBL meningkat dari 30 % menjadi 75 % dari total isolat di ICU (Kalantar *et al.*, 2012).

Plasmid merupakan sarana dalam mekanisme resistensi yang berkontribusi mengakibatkan terjadinya MDRPA (Odumosu *et al.*, 2013), sebagai mediator yang memfasilitasi dengan cepat penyebaran resistensi bakteri (Raj, 2012). Fungsi penting plasmid bakteri pertama kali diakui pada awal tahun 1960an, saat diketahui bahwa resistensi obat dapat berpindah (Jayanthi & Jeya, 2014). Umumnya bakteri yang resisten terhadap antibiotik disebabkan adanya gen

resisten yang terletak pada plasmid R. Resistensi yang dikode gen di dalam plasmid R disebabkan oleh enzim yang menginaktivasi obat atau enzim yang secara aktif memompa obat keluar sel (Tolan, 2008). Transfer plasmid R terjadi secara horizontal dengan mekanisme konjugasi, dimana proses transfer bahan genetik terjadi dari sel yang satu ke sel lainnya melalui kontak langsung (Pratiwi, 2008). Transfer plasmid R dapat meningkatkan populasi bakteri resisten di alam dan mengurangi efektivitas pengobatan karena transfer plasmid R terjadi tidak hanya dalam satu spesies tetapi dapat terjadi di dalam satu genus (Wibowo *et al.*, 2011). Plasmid R dari strain bakteri yang resisten dapat mentransfer DNANYa melalui pillus ke bakteri lain yang sensitif, sehingga dapat menimbulkan resistensi obat yang sama dengan strain pendonor resistensi (Elias *et al.*, 2013).

Mekanisme lain dari timbulnya resistensi pada *P. aeruginosa* karena adanya *efflux pump* yaitu suatu sistem yang terdiri dari tiga komponen protein, yang dapat memompa keluar antibiotik yang masuk ke dalam sel bakteri dan merusak aksesibilitas menuju target. *Efflux pump* tidak hanya dapat memompa antibiotik tetapi juga dapat memompa senyawa non-antibiotik seperti pewarna, deterjen, logam berat, dan pelarut organik. Bakteri memiliki 3 sistem efflux yaitu MexAB-OprM, MexAB-oprN dan MexCD-oprJ. MexAB-OprM *efflux pump* adalah sistem efflux yang terdapat pada bakteri yang resisten terhadap antibiotik  $\beta$ -laktam. Sistem ini disandi oleh 3 jenis gen yaitu mexA, mexB dan mexR.

Penentuan MexAB-OprM *efflux pump* dilakukan dengan multiplex PCR. Dari 53 isolat yang berasal dari pasien septisemik semuanya mempunyai ketiga gen (Grawi *et al.*, 2012). Pourakbari *et al* (2016) menentukan ekspresi MexAB-

OprM *efflux pump* dari 45 isolat yang berasal dari anak, 28 (62%) dari isolat positif mempunyai ketiga gen.

Penelitian tentang resistensi dan menganalisis hubungan resistensi dengan faktor penyebabnya tidak banyak yang melakukan di Indonesia, khususnya di RSUP Dr. M. Djamil Padang, sedangkan hal ini perlu ditentukan untuk menjadi pedoman dalam pemilihan antibiotik untuk infeksi *P. aeruginosa*. Dengan diketahuinya hubungan faktor penyebab dengan resistensi maka dapat diatasi atau diminimalkan penyebaran resistensi sehingga dapat menekan laju peningkatan resistensi *P. aeruginosa*.

Berdasarkan uraian diatas maka dirasa penting untuk melakukan penelitian pola resistensi *P. aeruginosa* di RSUP dr. M. Djamil Padang dan menganalisis hubungan faktor penyebab dengan resistensi. Faktor penyebab resisten yang akan dideteksi adalah ESBL, Plasmid, gen pengkode ESBL var gen blaTEM, blaOXA2 dan blaCTX pada DNA dan plasmid, dan deteksi MexAB-OprM *efflux pump*. Diharapkan hasil penelitian ini dapat menjadi pedoman dalam penggunaan antibiotik untuk infeksi *P. aeruginosa*, meminimalkan faktor penyebab sehingga tidak terjadi peningkatan resistensi dan mencari senyawa yang dapat menghambat kerja ESBL dan MexAB-OprM *efflux pump*.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dapat dibuat rumusan masalah sebagai berikut :

1. Apakah *P. aeruginosa* yang diisolasi dari sampel klinis pasien RSUP Dr. M. Djamil Padang resisten terhadap antibiotik  $\beta$ -laktam, aminoglikosida dan fluorokuinolon.

2. Apakah *P. aeruginosa* yang diisolasi dari sampel klinis pasien RSUP Dr. M. Djamil Padang menghasilkan enzim ESBL?
3. Apakah *P. aeruginosa* yang diisolasi dari sampel klinis pasien RSUP Dr. M. Djamil Padang memiliki plasmid ?
4. Apakah *P. aeruginosa* yang diisolasi dari sampel klinis pasien RSUP Dr. M. Djamil Padang memiliki var gen blaTEM, blaOXA2 dan blaCTX?
5. Apakah *P. aeruginosa* yang diisolasi dari sampel klinis pasien RSUP dr. M. Djamil Padang memiliki MexAB-OprM *efflux pump*?
6. Apakah ada hubungan antara ESBL, plasmid, var gen blaTEM, blaOXA2 , dan blaCTX pada DNA dan plasmid dan MexAB-OprM *efflux pump* dengan resistensi *P. aeruginosa*

### 1.3 Tujuan Penelitian

#### 1.3.1 Tujuan Umum

1. Membuktikan adanya *P. aeruginosa* yang diisolasi dari sampel klinis yang resisten terhadap antibiotik  $\beta$ -laktam, aminoglikosida dan fluorokuinolon
2. Membuktikan adanya hubungan antara ESBL, Plasmid, var gen blaTEM, blaOXA, blaCTX dan MexAB-OprM *efflux pump* dengan resistensi *P. aeruginosa*

#### 1.3.2 Tujuan Khusus

1. Menentukan resistensi *P. aeruginosa* terhadap antibiotik  $\beta$ -laktam, aminoglikosida dan fluorokuinolon
2. Membuktikan bahwa *P. aeruginosa* menghasilkan enzim ESBL
3. Membuktikan bahwa *P. aeruginosa* memiliki Plasmid

4. Membuktikan bahwa *P. aeruginosa* memiliki gen blaTEM, blaOXA2 dan blaCTX
5. Membuktikan bahwa *P. aeruginosa* memiliki MexAB-OprM *efflux pump*
6. Membuktikan hubungan antara ESBL, Plasmid, var gen blaTEM, blaOXA2, blaCTX dan MexAB-OprM *efflux pump* dengan resistensi *P. aeruginosa*

#### 1.4 Manfaat Penelitian

##### 1.4.1 Manfaat Terapan/Klinis

1. Hasil penentuan resistensi *P. aeruginosa* dapat direkomendasikan untuk membantu Komite Farmasi dan Terapi RSUP Dr. M. Djamil Padang dalam menyusun formularium Rumah Sakit.
2. Hasil penentuan ESBL, Plasmid dan MexAB-OprM *efflux pump* dapat menjadi pedoman bagi pengambil kebijakan untuk menanggulangi infeksi yang disebabkan oleh *P. aeruginosa*

##### 1.4.2 Manfaat pengembangan ilmu pengetahuan

1. Untuk meningkatkan pengetahuan mengenai faktor penyebab timbulnya resistensi *P. aeruginosa* terhadap antibiotik  $\beta$ -laktam seperti ESBL, Plasmid, var gen blaTEM, blaOXA2, blaCTX dan MexAB-OprM *efflux pump*
2. Sebagai dasar untuk pencarian senyawa yang dapat sebagai inhibitor ESBL dan MexAB-OprM *efflux pump*

