

Identifikasi Gen Cefotaxime (CTX-M) dan Sulphydryl Variabel (SHV) Bakteri Enterobacteriaceae Penghasil Extended Spectrum Beta Lactamase (ESBL) pada Anak Penderita Diare

Nurfitri Arfani¹, Miftahul Jannah Moo², Ela Satriani Yusuf³, A. Meryam Susanti⁴, Indas Wari Rahman⁵
Universitas Megarezky

Corresponding Author Nurfitri Arfani, E-Mail: nurfitri.arfani@gmail.com

Published: January, 2025

ABSTRACT

Diarrhea is a condition characterized by changes in stool consistency and excessive bowel movements (more than three times a day). The inappropriate use of antibiotics, not in accordance with therapeutic guidelines, can increase the development of bacterial resistance to antibiotics. One of the enzymes involved in the mechanism of bacterial resistance to antibiotics is the Extended Spectrum Beta-Lactamase (ESBL) enzyme. ESBL is commonly found in bacteria belonging to the Enterobacteriaceae family. ESBL possesses encoding genes such as the Cefotaxime (CTX-M) gene and the Sulphydryl Variable (SHV) gene. The aim of this study was to identify the CTX-M and SHV genes in Enterobacteriaceae bacteria that produce ESBL in children with diarrhea. The research was descriptive in design, using 10 fecal samples from children with diarrhea. This descriptive study used 10 fecal samples from children with diarrhea. The methods applied in this study included bacterial identification using the VITEK 2 Compact system and gene detection using the PCR method. Bacterial isolation results showed that out of 10 samples, 9 (90%) were identified as *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. Further testing with the VITEK 2 Compact system revealed that only 3 (33.3%) of these 9 samples had the ability to produce ESBL. PCR gene detection results showed that, among these 3 samples, 2 (66.7%) were positive for the CTX-M gene at 800 bp and the SHV gene at 500 bp. Therefore, this study indicates that fecal samples from children with diarrhea contained *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* bacteria capable of producing the ESBL enzyme

Keywords: Diarrhea, Enterobacteriaceae, ESBL, CTX-M gene, SHV gene

© The Author(s). 2021 Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>

PENDAHULUAN

Diare adalah suatu kondisi klinis yang ditandai oleh perubahan pada konsistensi dan frekuensi buang air besar, di mana tinja menjadi lebih cair atau lembek, dengan frekuensi buang air besar meningkat menjadi tiga kali atau lebih dalam waktu 24 jam. Kondisi ini mencerminkan gangguan pada sistem pencernaan, terutama di usus halus atau usus besar, yang menyebabkan ketidakseimbangan antara penyerapan dan sekresi air serta elektrolit dalam lumen usus. Diare harus ditangani dengan cepat untuk mencegah penipisan cairan, yang dapat mengakibatkan kematian jika tidak ditangani (Debby, 2019). Menurut data terbaru dari *World Health Organization* (WHO) tahun 2024, secara global terdapat sekitar 1,7 miliar kasus diare pada anak-anak setiap tahunnya, dengan angka kematian mencapai 443.832 anak di bawah usia 5 tahun serta data tambahan sekitar 50.851 anak berusia 5 hingga 9 tahun meninggal akibat penyakit tersebut setiap tahun (WHO, 2024). Menurut Kementerian Kesehatan Ditjen P2P (2024), melihat dari data profil Kesehatan Indonesia 2022 menunjukkan diare sebagai penyebab kematian ke-2

yang diketahui pada balita (12-59 bulan) dengan proporsi 5,8% di bawah pneumonia (12,5%). Hasil survei status gizi Indonesia tahun 2022 (SSGI, 2022) menunjukkan prevalensi diare pada balita di Indonesia sebesar 10,2% naik dari hasil SSGI 2021 sebesar 9,8%.

Diare merupakan masalah kesehatan utama di negara-negara berkembang, termasuk Indonesia. Selain menjadi salah satu penyebab kematian, diare juga merupakan faktor utama penyebab kekurangan gizi yang dapat berujung pada kematian, serta berpotensi menimbulkan kejadian luar biasa, khususnya pada anak-anak. Anak usia 2-5 tahun merupakan kelompok yang aktif mengonsumsi makanan di luar rumah, seringkali meniru kebiasaan teman-temannya. Namun, proses pengolahan dan penyajian makanan tersebut kemungkinan kurang higienis, sehingga berpotensi menyebabkan kontaminasi oleh mikroorganisme yang dapat memicu diare pada anak (Purnamasari dkk., 2023).

Diare secara klinis dapat disebabkan oleh beberapa hal, antara lain alergi, keracunan, imunodefisiensi, infeksi bakteri, virus, dan parasit. Golongan bakteri yang sering ditemukan sebagai penyebab diare yaitu golongan Enterobacteriaceae seperti bakteri *Escherichia coli* (*E. coli*), *Salmonella typhi*, *Shigella* sp, dan *Klebsiella pneumoniae*. Salah satu metode penanganan untuk mengatasi diare adalah dengan pemberian antibiotik (Megawati & Sari, 2018). Penggunaan antibiotik yang tidak sesuai atau tidak rasional dengan pedoman terapi dapat mempercepat berkembangnya resistensi bakteri terhadap antibiotik. (Muhlis *et. al.*, 2022)

Salah satu kemampuan resistensi yang dimiliki oleh bakteri Gram negatif dari Famili Enterobacteriaceae adalah melalui produksi enzim *Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL). *Extended-spectrum beta lactamase* (ESBL) adalah enzim yang memiliki kemampuan menghidrolisis antibiotik golongan penicillin, cephalosporin, monobactam yang mempunyai generasi satu, dua dan tiga serta golongan yang mengakibatkan resistensi pada antibiotik tersebut (Rihibiha & Friliansari, 2021). Gen utama yang mengkode produksi ESBL meliputi TEM, SHV, CTX-M, dan OXA. Keempat gen ini bertanggung jawab dalam menghasilkan enzim ESBL yang mampu menghidrolisis antibiotik beta-laktam. Gen ESBL tersebut terdapat pada plasmid yang dapat dengan mudah berpindah antar dan dalam spesies bakteri (Imasari *et al.*, 2019). CTX-M berperan dalam memberikan tingkat resistensi yang lebih tinggi terhadap cefotaxime dibandingkan ceftazidime. ESBL tipe CTX-M diklasifikasikan ke dalam lima kelompok berdasarkan kesamaan urutan asam aminonya, yaitu CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9, dan CTX-M-25. Enzim CTX-M menunjukkan efek yang lebih kuat terhadap sefotaksim dan ceftriaxone dibandingkan ceftazidime. Produksi enzim CTX-M dapat dihambat oleh inhibitor beta-laktamase seperti asam klavulanat, sulbaktam, dan tazobaktam (Pratama *et al.*, 2019). Hal ini sejalan dengan penelitian oleh Pratama *et al.* (2019) yang bertujuan untuk mengetahui prevalensi *Escherichia coli* penghasil *Extended-Spectrum Beta-Lactamase* (ESBL) yang resisten terhadap sefalosporin generasi ketiga pada pasien di RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar. Hasil uji genotip menggunakan PCR menunjukkan bahwa 82% sampel *E. coli* positif mengandung gen CTX-M. CTX-M menunjukkan kemampuan penghambatan yang

lebih efektif oleh tazobactam dibandingkan sulbaktam dan asam klavulanat. Gen CTX-M ini juga ditemukan pada plasmid bakteri spesies *Kluyvera* (Zakharian *et. al.*, 2018).

Gen *Sulphydryl Variabel* (SHV) adalah salah satu dari banyak gen yang terlibat dalam produksi ESBL. Pada gen tersebut terjadi substitusi asam amino pada posisi 238 dan 240, yang mengakibatkan resistensi terhadap sefotaksim dan seftazidim. Terdapat lebih dari 700 tipe ESBL yang dikelompokkan ke dalam empat grup, yaitu grup 1, grup 2 (2a–2f), grup 3a (B1 dan B2), serta grup 4. Isolat klinis *E. coli* penghasil ESBL yang tidak menunjukkan keberadaan gen SHV kemungkinan mengandung gen lain seperti TEM, CTX-M, atau CARB-2 (Prasetya, 2018). Gen pengkode ESBL dapat dideteksi melalui pemeriksaan molekuler menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Teknik PCR adalah teknik yang digunakan untuk menggandakan sejumlah DNA gen untuk mendeteksi keberadaannya. Dengan spesifisitas, efisiensi, dan akurasi yang tinggi, metode ini jelas memiliki keunggulan signifikan dibandingkan teknik diagnostik konvensional lainnya. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi gen *Cefotaxime* (CTX-M) dan *Sulphydryl Variable* (SHV) pada bakteri *Enterobacteriaceae* penghasil *Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL) yang ditemukan pada anak penderita diare.

METODE PENELITIAN

Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan studi deskriptif dengan desain *cross sectional study* yang berfokus pada identifikasi gen *Cefotaxime* (CTX-M) dan *Sulphydryl Variable* (SHV) bakteri *Enterobacteriaceae* penghasil *Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL) pada anak penderita diare.

Teknik Pengambilan Sampel

Teknik Pengambilan sampel adalah dengan teknik *purposive sampling* yakni peneliti menentukan sampel berdasarkan kriteria inklusi. Sampel yang digunakan sebanyak 10 sampel feses anak penderita diare.

Pengambilan Sampel

Tahap pengambilan sampel dilakukan dengan menjelaskan terlebih dahulu kepada pasien terkait maksud dan tujuan dari pengambilan sampel ini. Setelah itu peneliti mendata pasien menggunakan lembar *informed consent* dilengkapi dengan tanda tangan orang tua pasien yang bersedia untuk berpartisipasi dalam penelitian ini dan memberikan wadah pot sampel feses.

Identifikasi Bakteri *Enterobacteriaceae*

Setelah pengambilan sampel feses lalu diisolasi sampel tersebut. Sampel diambil menggunakan ose lalu digores pada media *Mac Conkey Agar* (MCA) dengan bentuk goresan kuadran lalu diinkubasi pada

suhu 37 °C selama 24 jam. Setelah itu dilakukan pewarnaan Gram untuk melihat bentuk dari bakteri tersebut. Selanjutnya, isolat Enterobacteriaceae yang telah didapatkan diidentifikasi menggunakan alat *biomerieux vitek MS*. Jenis bakteri yang diperoleh selanjutnya di uji sensitivitas untuk mengetahui kemampuan bakteri Enterobacteriaceae dalam resistensi antibiotik dengan menggunakan alat *vitek 2 compact*.

Deteksi Gen CTX-M dan Gen SHV Penghasil ESBL

1. Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA dilakukan dengan menggunakan metode *boiling*. Larutan PBS sebanyak 200 ul ke dalam tabung eppendorf, lalu koloni bakteri diambil menggunakan swab dengan cara celupkan ke dalam tabung eppendorf dan patahkan ujung swab lalu disimpan pada tabung eppendorf tersebut. Selanjutnya, *waterbath* dipanaskan kurang lebih selama 30 menit dengan suhu 95°C, setelah itu disentrifuge selama 15 menit dengan kecepatan 13.000 rpm. Supernatan yang berisi DNA selanjutnya dipindahkan ke tabung eppendorf baru. Hasil ekstraksi DNA disimpan pada suhu 4°C.

2. Amplifikasi DNA dengan Polymerase Chain Reaction (PCR)

DNA murni dari hasil ekstraksi diamplifikasi dengan teknik PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Deteksi gen CTX-M menggunakan primer Forward: 5'-GACGATGTCACTGGC TGAGC-3' dan Reverse: 5'-AGCCGCCGACGCTAATACA-3' (target band 800 bp), sedangkan untuk deteksi Gen SHV menggunakan primer forward: 5'TTTTGTCGCTTCTTTACTCGC-3' dan reverse: 5'-TTTATGGCGTTACCTTTGACC-3' (target band 500 bp). Komponen PCR disiapkan dalam volume total 15 µL dengan komposisi: 6,5 µL enzim kapa, 2,75 µL nuclease-free water, primer forward dan reverse masing-masing 0,5 µL, serta 5 µL sampel DNA. Proses PCR untuk gen CTX-M dilakukan sebanyak 30 siklus, dimulai dengan pra-denaturasi pada suhu 94°C selama 5 menit, diikuti denaturasi pada suhu 94°C selama 15 detik, annealing pada suhu 52°C selama 15 detik, ekstensi pada suhu 72°C selama 15 detik, dan diakhiri dengan final ekstensi pada suhu 72°C selama 5 menit. Sedangkan siklus PCR untuk gen SHV terdiri atas 30 siklus yang diawali pra denaturasi pada suhu 94 °C selama 5 menit, dilanjutkan denaturasi pada suhu 94 °C selama 2 detik kemudian dilanjutkan dengan annealing pada suhu 52 °C selama 15 detik, ekstensi pada suhu 72 °C selama 15 detik, dan final ekstensi pada suhu 72 °C selama 5 menit. Amplikon hasil PCR selanjutnya diverifikasi dengan elektroforesis gel agarose 2%.

Analisis Data

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah menggunakan metode deskriptif, yaitu dengan menyajikan gambaran hasil analisis dalam bentuk tabel dan gambar. Gen CTX-M dideteksi dengan munculnya pita DNA berukuran 800 bp, sedangkan gen SHV oleh pita DNA berukuran 500 bp.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dalam penelitian ini, sampel yang digunakan terdiri atas 10 sampel feses anak penderita diare. Sampel yang telah dikumpulkan berdasarkan kriteria inklusi selanjutnya diidentifikasi dengan media *Mac Conkey Agar* (MCA) menggunakan alat *biomerieux vitek MS*. Hasil identifikasi ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Identifikasi Bakteri Enterobacteriaceae dengan menggunakan Alat *Biomerieux Vitek MS*

No	Kode Sampel	Pertumbuhan pada Media MCA	Hasil Identifikasi
1	S1	√	<i>Escherichia coli</i>
2	S2	-	-
3	S3	√	<i>Escherichia coli</i>
4	S4	√	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
5	S5	√	<i>Escherichia coli</i>
6	S6	√	<i>Escherichia coli</i>
7	S7	√	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
8	S8	√	<i>Escherichia coli</i>
9	S9	√	<i>Escherichia coli</i>
10	S10	√	<i>Klebsiella pneumoniae</i>

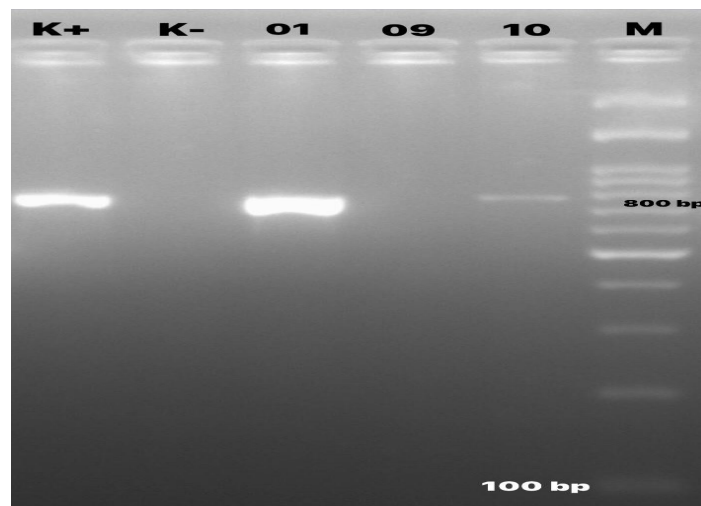
Hasil identifikasi dengan media *Mac Conkey Agar* (MCA) pada Tabel 1 menunjukkan dari 10 sampel yang digunakan ditemukan hasil 9 (90%) bakteri yang mengalami pertumbuhan pada media *Mac Conkey Agar* (MCA) dan 1 (10%) sampel yang tidak mengalami pertumbuhan. Bakteri yang tumbuh selanjutnya diidentifikasi sebagai bakteri *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumoniae*. Bakteri yang telah didapatkan selanjutnya diuji sensitivitas menggunakan alat *vitek 2 compact* untuk melihat kemampuan bakteri tersebut terhadap antibiotik golongan beta lactam. Hasil yang diperoleh seperti pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Resistensi terhadap Antibiotik Penghasil *Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL)

Kode Sampel	Jenis Bakteri	Hasil Uji Vitek
S1	<i>Escherichia coli</i>	ESBL
S3	<i>Escherichia coli</i>	-
S4	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-
S5	<i>Escherichia coli</i>	-
S6	<i>Escherichia coli</i>	-

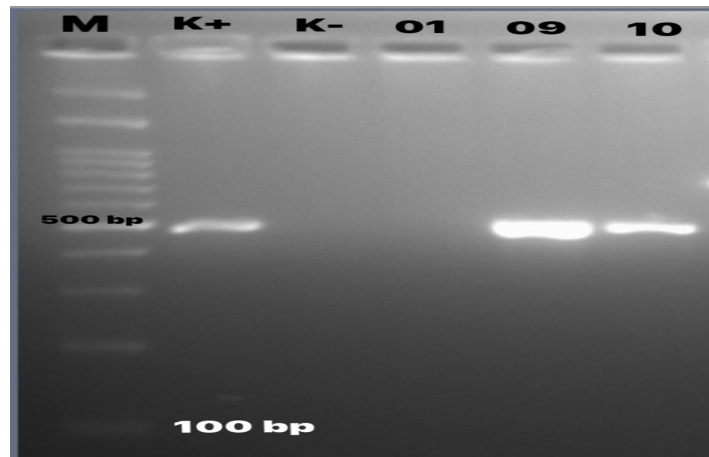
S7	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-
S8	<i>Escherichia coli</i>	-
S9	<i>Escherichia coli</i>	ESBL
S10	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ESBL

Berdasarkan hasil uji dengan alat *vitek 2-compact* pada Tabel 2 menunjukkan dari 9 sampel yang digunakan terdapat 3 (33,3%) sampel yang resistensi antibiotik penghasil ESBL yaitu pada kode sampel 01, 09 dan 10, sedangkan 6 (66,7%) sampel lainnya sensitif terhadap antibiotik golongan ESBL. Bakteri Enterobacteriaceae yang resisten terhadap antibiotik selanjutnya diamplifikasi dengan menggunakan gen *CTX-M* dan *SHV*. Hasil amplifikasi selanjutnya divisualisasi dengan elektroforesis seperti pada Gambar 1 dan Gambar 2.



Gambar 1. Hasil visualisasi sampel feses anak penderita diare dengan gen *CTX-M*. Ket: M = marker DNA Ladder 100 bp, kode 01, 09, dan 10 = sampel, K+ = kontrol positif, dan K- = kontrol negatif

Hasil visualisasi menggunakan GelDoc pada Gambar 1 memperlihatkan bahwa dari 3 sampel yang diuji, sebanyak 2 sampel (66,7%) terdeteksi mengandung gen *CTX-M* dengan kode 01 dan 10. Hal ini ditandai oleh munculnya pita DNA pada ukuran 800 bp. Selain itu, terdapat 1 sampel (33,3%) dengan kode 09 tidak menunjukkan keberadaan gen *CTX-M*.



Gambar 2. Hasil visualisasi sampel feses anak penderita diare dengan gen *SHV*. Ket: M = marker DNA Ladder 100 bp, kode 01, 09, dan 10 = sampel, K+ = kontrol positif, dan K- = kontrol negatif

Hasil visualisasi menggunakan GelDoc pada Gambar 2 menunjukkan bahwa dari 3 sampel yang digunakan, 2 (66,7%) sampel diantaranya gen *SHV* yaitu pada kode sampel 09 dan 10, dan 1 (33,3%) sampel yang tidak terdeteksi gen *SHV* pada kode 01. Hal ini ditandai dengan terbentuknya pita (*band*) dengan ukuran 500 bp.

Pembahasan

Pada penelitian ini menggunakan sampel feses pada anak penderita diare. ini sesuai dengan pernyataan Imasari et al (2019), diare merupakan salah satu penyakit dan infeksi nosokomial yang dapat disebabkan oleh bakteri Enterobacteriaceae dan juga bakteri ini sering ditemukan pada feses.

Identifikasi bakteri terlebih dahulu dilakukan dengan cara mengkultur sampel feses dengan menggunakan media *Mac Conkey Agar* (MCA). Media ini digunakan karena media *Mac Conkey Agar* (MCA) adalah jenis media direkomendasikan untuk mengkultur untuk pertumbuhan bakteri Gram negatif. Hasil identifikasi pada Tabel 1 menunjukkan dari 10 sampel yang digunakan 9 (90%) diantaranya terdeteksi bakteri Gram negatif. Bakteri yang terdeteksi dalam penelitian ini adalah *Escherichia coli* (*E. coli*) dan *Klebsiella pneumoniae*. Hal ini sejalan dengan penelitian Husna (2018) yang menyatakan bahwa bakteri penghasil enzim ESBL paling sering ditemukan berasal dari kelompok Enterobacteriaceae, khususnya *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumoniae*. Selanjutnya dari 9 sampel tersebut dilakukan alat *Vitek MS* dengan metode Spektrofotometri massa MALDI-TOF untuk menentukan 9 sampel dari 2 jenis bakteri memiliki kemampuan sebagai penghasil ESBL. Berdasarkan hasil penelitian pada Tabel 2. menunjukkan bahwa pada uji ESBL dari 9 sampel digunakan hanya 3 (33,3%) kode sampel S1, S9 dan S10 positif ESBL. *Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL) merupakan kelompok enzim yang memecah antibiotika seperti penisilin dan sefalosporin sehingga bakteri resisten terhadap jenis antibiotik ini. Hal ini seperti dengan penelitian yang dilakukan oleh Normaliska et.al., (2019) menunjukkan resistensi yang cukup tinggi

terhadap beberapa antibiotik misalnya penisilin (100%), ampicillin (100%), dan sulfamethoxazole (60%). Selain itu, pada penelitian Angria dkk., (2021) menjelaskan bahwa antibiotik jenis ampicilin adalah golongan penisilin beta laktam yang digunakan dalam pengobatan infeksi bakteri. Faktor penyebab terjadinya resistensi antibiotik salah satunya adalah penggunaan antibiotik yang tidak sesuai dosis dan waktu konsumsi. Hal ini banyak dijumpai pada kalangan masyarakat terkait dengan putus obat karena lama terapi antibiotik harus sesuai dengan rekomendasi dokter apabila menghentikan terapi antibiotik ditengah jalan dapat menyebabkan bakteri masih hidup menjadi resisten pada pengobatan antibiotik dimasa depan.

Setelah uji sensitivitas dengan Vitek, dilakukan deteksi gen *CTX-M* dan *SHV* yang diawali dengan ekstraksi DNA. Metode ekstraksi DNA yang digunakan adalah dengan metode *boiling*. Menurut Afif dan Putri (2019), metode boiling adalah teknik ekstraksi DNA yang sederhana dengan cara memberikan tekanan fisik pada sel bakteri melalui pemanasan pada suhu tinggi (95-100°C). Selanjutnya, DNA yang telah diperoleh diamplifikasi dengan teknik PCR dan dilanjutkan dengan elektroforesis. Hasil visualisasi gen *CTX-M* pada Gambar 1 menunjukkan dari 3 sampel yang digunakan, ditemukan 2 (66,7%) sampel yang positif terhadap gen *CTX-M* yaitu kode sampel 01 dan 10. Hal ini ditandai dengan terbentuknya pita DNA pada ukuran 800 bp. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Ramadhan (2017), yang berdasarkan hasil analisis pada sampel feses yang mengandung bakteri Enterobacteriaceae menggunakan metode PCR, ditemukan 3 dari 100 sampel (3%) yang memiliki gen *CTX-M* dan terdapat 97 dari 100 sampel (97%) yang tidak memiliki gen *CTX-M*. Bakteri yang mengandung gen *CTX-M* akan memproduksi enzim *CTX-M*, yang memberikan fenotipe ESBL, yaitu resistensi terhadap sefalosporin generasi ketiga dan aztreonam, namun tetap sensitif terhadap karbapenem dan kombinasi beta-laktam/inhibitor seperti piperasilin-tazobaktam (meskipun tidak selalu). Gen ini sering ditemukan pada *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumoniae* sebagai penghasil *Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL). Seperti pada penelitian yang dilakukan oleh Wang *et. al.* (2013), diperoleh gen *CTX-M* sebesar 54,6% dari 163 isolat *Klebsiella pneumoniae*. Selain itu kemampuan hidrolisis gen *CTX-M* lebih tinggi dibandingkan tipe *SHV* dan *TEM* (Rahmawati dkk., 2022).

Selain deteksi gen *CTX-M*, dalam penelitian ini juga dilakukan deteksi gen *SHV*. Hasil visualisasi pada Gambar 2 menunjukkan dari 3 sampel yang digunakan terdapat 2 (66,7%) sampel yang positif terhadap gen *SHV* pada kode sampel S9 dan S10. Hal ini ditandai dengan terbentuknya band atau pita DNA pada ukuran 500 bp. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Visyar (2017) yang menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR), menunjukkan bahwa dari 100 sampel feses yang digunakan terdapat 40 % pada golongan Enterobacteriaceae penghasil ESBL mengandung gen *SHV*. Selain itu, pada penelitian yang dilakukan oleh Prasetya (2018) dengan menggunakan sampel urin pasien rawat inap di RSUD Dr. Soetomo Surabaya didapatkan sebanyak 30 isolat *Escherichia coli*. Isolat tersebut selanjutnya diamplifikasi dengan PCR menggunakan gen *SHV* dan diperoleh 40% isolat yang positif

membawa gen *SHV*. Gen *SHV* biasanya ditemukan pada plasmid, sehingga memiliki potensi besar untuk menyebar secara horizontal antar bakteri, bahkan lintas spesies. Selain itu, gen ini juga dapat terintegrasi dalam unsur genetik mobile seperti transposon dan integron.

Extended-Spectrum Beta-Lactamase (ESBL) adalah enzim yang diproduksi oleh bakteri Gram-negatif dan menyebabkan resistensi terhadap antibiotik beta-laktam spektrum luas, terutama sefalosporin generasi ke-3 dan aztreonam. Dua gen utama yang bertanggung jawab dalam produksi enzim ESBL adalah *CTX-M* dan *SHV*. ESBL tersebut dimediasi oleh plasmid dan enzim tersebut sering ditemukan pada bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan *Escherichia coli* serta basil Gram negatif lainnya. Bakteri tersebut yang mengalami resistensi karena terdapat gen yang terlibat pada mekanisme resistensi yang biasanya terletak pada bagian plasmid yang sama dengan enzim ESBL.

KESIMPULAN

Kesimpulan dalam penelitian adalah dari 10 sampel feses anak penderita diare yang digunakan didapatkan 3 (33,3%) sampel bakteri yang resistensi antibiotik. Bakteri yang didapatkan diidentifikasi sebagai bakteri *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumoniae*. Selanjutnya, dalam tahapan deteksi gen, menunjukkan dari 3 sampel yang digunakan didapatkan 2 (66,7%) sampel yang terdeteksi gen *CTX-M* dan *SHV* yang ditandai dengan terbentuknya pita pada ukuran 800 bp dan 500 bp..

DAFTAR PUSTAKA

- Afif, R. and Putri, D. H. (2019). 16S rRNA Gene Amplification of Endophytic Bacteria Which Produces Antimicrobial Compounds. *Bio Sains*, 4 (1), 63–71.
- Angria, Nirmawati, Dwi Kinanti, Nani Apriyani, Sari Aspalela. 2022. Deteksi Gen *Temoneira* (TEM) dan *Sulphydryl Variabel* (SHV) pada Bakteri Golongan Enterobacteriaceae Penghasil ESBL Pada Pasien Infeksi Saluran Kemih (ISK). *Prosiding Asosiasi Institusi Pendidikan Tinggi Teknologi Laboratorium Medik Indonesia*, 108-119.
- Debby Daviani Prawati, D.N.H. (2019). Faktor yang Mempengaruhi Kejadian Diare di Tambaksari, Kota Surabaya. *Jurnal PROMKES*, 7(1), 34.
- Husna, Cut Asmaul. (2018). Sensitivitas dan Spesifisitas Media Kromogenik sebagai Deteksi Dini *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumoniae* Penghasil *Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL) dari Spesimen Urin Pasien di RSUD Dr. Soetomo Surabaya. *AVERRIOUS: Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Malikussaleh*, 2 (1), 45.
- Imasari, Triffit, W. Tyasningsih, E. B. Wasito, and Kuntaman. (2018). Prevalensi dan Pola Gen *Extended Spectrum B-lactamase* Bakteri Usus Sapi Perah dan Penduduk Sekitar Peternakan di Surabaya. *Jurnal Veteriner*, 19 (3).
- Kementrian Kesehatan RI Ditjen P2P. (2024). Orientasi Program Penanggulangan PISP.

- Megawati, A. and Sari, D.F. (2018). Rasionalitas Penggunaan Antibiotik untuk Pengobatan Diare pada Pasien Anak di Instalasi Rawat Inap RSUD RAA Soewondo Pati Tahun 2017. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 2(1), 68–80.
- Muhlis, M. A. P., Hadi, K.S., Rasfayanah, Nasruddin, H., & Murfat, Z. (2022). Efektivitas Ekstrak Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Mahasiswa Kedokteran*, 2 (7).
- Normaliska, Ratna, Mirnawati Bachrum Sudarwanto, dan Hadri Latif. (2019). Pola Resistensi Antibiotik pada *Escherichia coli* Penghasil ESBL dari Sampel Lingkungan di RPH-R Kota Bogor. *VETERINARIA Indonesiana*, 7 (2).
- Prasetya, Y. A. (2018). Deteksi Gen SHV pada Isolat Klinik *Escherichia coli* Penghasil *Extended Spectrum Beta-Lactamases* (ESBL) dengan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) Dari Urin Pasien Di RSUD Dr. Soetomo Surabaya. *Journal of Biology*, 11 (2).
- Pratama, A. S., , Djide, M.N., dan Massi, M. N. 2019. Identifikasi Genotip CTX-M Pada *Escherichia Coli* Penghasil *Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL) yang Resistensi pada Cephalosporin Generasi III di RSUP Wahidin Sudirohusodo Makassar. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, 23 (1).
- Purnamasari, L. (2019). Identifikasi Keberagaman Bakteri Penyebab Diare pada Anak dengan Metode Kultur. *Jurnal Ilmiah Mappadising*, 1(1).
- Rahmawati, L., A. Anggraini, R. Sasongkowati, dan D. Adam (2022). Deteksi *E. coli* Penghasil *Extended Spectrum Beta-Lactamase* (ESBL) Menggunakan Metode PCR Pada Sampel Air Bersih. *Gema Lingkungan Kesehatan*, 20 (2), 111–116.
- Ramadhan, H. (2017). Deteksi Gen Cefotaxime (CTX-M) pada *Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL) Enterobacteriaceae dengan Menggunakan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dari Sampel Feses Siswa Sekolah Dasar di Kota Makassar, Sulawesi Selatan, 1–14.
- Rihibiha, D. D., and Friliansari, L. P. (2021). Isolasi Enterobacteriaceae pada Kecoak (*Periplaneta americana*) Di Area Perumahan di Kota Cimahi. *Jurnal Kesehatan Kartika*, 16(1).
- Wang, G., G. Zhao, X. Chao, L. Xie, and H. Wang. (2020). The Characteristic of Virulence, Biofilm and Antibiotic Resistance of *Klebsiella pneumoniae*. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(17), 1–17.
- WHO. 2024. Global Health Indicators. *World Health Organization*
- Zakharian, G., Sukrama, D.M. and Fatmawati, N.N.D. (2018). Pemberian Antibiotik Cefotaxime dengan Konsentrasi Sublethal pada Isolat *Klebsiella pneumoniae* yang Resistensi terhadap Ampicilin Menginduksi Multi Drug Resistensi (MDR). *Intisari Sains Medis*, 9 (1), 64–70.