

# Rev01\_Vector et al.\_Detection of the oxa-23 Gene (29 Okt 2024)

*by --*

---

**Submission date:** 30-Oct-2024 03:44AM (UTC-0700)

**Submission ID:** 2493554721

**File name:** Rev01\_Vector\_et\_al.\_Detection\_of\_the\_oxa-23\_Gene\_29\_Okt\_2024\_.pdf (769.59K)

**Word count:** 3464

**Character count:** 20838

## Detection of the *oxa-23* Gene, Marker of Carbapenem Resistance in *Acinetobacter baumannii* Isolates from RSUD Dr. Moewardi Surakarta

Vector Stephen Dewangga<sup>1</sup>, Ardy Prian Nirwana<sup>2</sup>, Ratna Setyaningrum<sup>3</sup>

<sup>1,2,3</sup> Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional, Medical Laboratory Technology Department, Sukoharjo, Indonesia;

### Article History

Received :

Revised :

Accepted :

Published :

\*Corresponding Author:

Vector Stephen Dewangga  
Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan  
Nasional, Medical Laboratory  
Department, Sukoharjo,  
Indonesia; Email:  
vector.stephen@stikesnas.ac.id

**Abstract.** *Acinetobacter baumannii* is a pathogenic germ that is a major problem in cases of hospital-acquired infections. The mortality rate for cases of infectious diseases caused by *A. baumannii* reaches 23% in hospitalized patients. The increase in the incidence of *A. baumannii* infections is in line with the increase in the incidence of resistance to antibiotics. The *oxa-23* gene is known to be one of the causes of carbapenem resistance in *A. baumannii*. This study aims to detect the presence of the *oxa-23* gene that causes carbapenem resistance in *A. baumannii* isolates originating from RSUD Dr. Moewardi Surakarta. The research was carried out in a descriptive observational, using Polymerase Chain Reaction (PCR) and electrophoresis techniques, using 20 clinical isolates of *A. baumannii* obtained from the RSUD Dr. Moewardi. From this research, results were obtained for 8 clinical isolates of *A. baumannii* from Dr. Moewardi was detected positively as having the *oxa-23* gene, so it can be concluded that 40% of the total samples of *A. baumannii* isolates from RSUD Dr. Moewardi Surakarta was detected to have the *oxa-23* gene which causes carbapenem resistance.

**Keywords:** Detection of genes, *oxa-23*, resistance, carbapenem, *Acinetobacter baumannii*

### Pendahuluan

Antibiotik adalah pengobatan terbaik untuk infeksi bakteri. Penggunaan antibiotik sendiri memerlukan perawatan khusus untuk mengurangi risiko terjadinya resistensi. Untuk memutuskan antibiotik mana yang akan digunakan, penting untuk mempertimbangkan patogen penyebab dan hasil uji kerentanan. Salah satu jenis antibiotik yang sering dipertimbangkan untuk digunakan adalah antibiotik karbapenem. Antibiotik karbapenem umumnya merupakan kelompok antibiotik paling efektif yang telah terbukti kemanjurannya sebagai pilihan pengobatan bagi pasien dengan infeksi serius yang melibatkan strain bakteri yang resisten terhadap antibiotik jenis lain (Brunton *et al.*, 2017). Diketahui bahwa karbapenem sering digunakan sebagai antibiotik definitif dibandingkan empiris (Vardakas *et al.*, 2012). Seiring waktu, ditemukan bakteri yang resisten terhadap karbapenem. Pada awal tahun 1990an, bakteri resisten karbapenem dilaporkan di Jepang dan kemudian di Italia.

Pada tahun 2017, WHO menerbitkan daftar patogen yang memerlukan pengembangan segera dan penemuan antibiotik baru. WHO mengklasifikasikan patogen ini ke dalam tiga kategori: parah, tinggi, dan sedang. Adanya kategori ini menjelaskan perlunya memberikan prioritas perhatian pada kasus resistensi antibiotik. Bakteri patogen yang resisten terhadap karbapenem termasuk dalam kategori berbahaya. Bakteri tersebut antara lain *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, dan *Enterobacterales*. Bakteri yang resisten terhadap karbapenem juga diketahui resisten terhadap sebagian besar jenis antibiotik lainnya (Guh *et al.*, 2014). Terjadinya kasus resistensi bakteri terhadap antibiotik karbapenem menimbulkan ancaman serius bagi kesehatan global. Kondisi ini sangat mempersulit dan membatasi pemilihan antibiotik yang dapat digunakan untuk mengatasi infeksi bakteri. Angka kematian dan kesakitan akibat penyakit menular meningkat, begitu pula biaya pengobatan dan lama rawat inap di rumah sakit seperti pada penelitian

Prakobsrikul *et al.* (2019), Lemos *et al.* (2014) dan Liu *et al.* (2015).

*Acinetobacter baumannii* merupakan patogen yang menimbulkan masalah besar pada infeksi nosokomial (Gustawan *et al.*, 2014). Angka kematian akibat infeksi *A. baumannii* adalah 23% pada pasien rawat inap dan 43% pada pasien perawatan intensif. Meningkatnya kejadian infeksi *A. baumannii* dibarengi dengan peningkatan kejadian resistensi antibiotik serta peningkatan angka kesakitan dan kematian akibat infeksi bakteri ini (Pertiwi & Budayanti, 2018). Pada tahun 1970-an, *A. baumannii* masih sensitif terhadap beberapa antibiotik, namun pada saat ini banyak studi melaporkan tingginya tingkat resistensi bakteri ini, terutama pada golongan penisilin dan golongan karbapenem (Pertiwi & Budayanti, 2018).

TEM, OXA, dan CMY adalah gen yang mengkode berbagai jenis  $\beta$ -laktamase pada isolat *Escherichia coli* yang resisten terhadap antibiotik golongan cephalosporin dan karbapenem (Akiba *et al.*, 2016). Gen *oxa* juga didapati pada isolat *A. baumannii* yang resisten terhadap karbapenem, hal ini membuat banyak peneliti mencari cluster gen *oxa*, secara spesifik gen *oxa-23* yang bertanggung jawab dalam produksi enzim oxacillinase (Alzaref *et al.*, 2021). Gen *oxa-23* merupakan gen yang teridentifikasi menjadi sumber utama kekebalan bakteri terhadap karbapenem di mana produksi *oxa-23* yang penyebarannya luas pada isolat *A. baumannii* (Pertiwi & Budayanti, 2018).

Penelitian terkait gen *oxa-23* penyebab resistensi antibiotik golongan karbapenem sudah banyak dilakukan di luar negeri, seperti dalam penelitian Liakopoulos (2012), Mugnier (2010), Schuertz (2018), Yang (2019), Yang (2020) dan Zhao (2019). Di dalam negeri, studi molekuler mengenai gen *oxa-23* telah dikerjakan di RSUP Dr. M. Djamil Padang (Alzaref *et al.*, 2021) dan di RSUP Sanglah Denpasar (Pertiwi & Budayanti, 2018), namun demikian di Surakarta, terkhusus di RSUD Dr. Moewardi, penelitian terkait deteksi gen *oxa-23* belum dilakukan.

Penelitian Aydemir *et al.* (2012) menjelaskan bahwa pada sebuah penelitian di rumah sakit pendidikan Turki menunjukkan terdapat CRAB (*Acinetobacter baumannii* yang resisten terhadap karbapenem) memiliki angka

kematian yang lebih tinggi dibandingkan dengan CSAB (*Acinetobacter baumannii* yang rentan terhadap karbapenem). Kematian CRAB sebesar 61,8% dan kematian CSAB sebesar 52,7%. Menyadari risiko yang ditimbulkan oleh meningkatnya penemuan bakteri resisten karbapenem, beberapa negara di dunia telah melaporkan tingginya prevalensi bakteri resisten karbapenem. Sementara itu, data yang tersedia mengenai topik ini di Indonesia masih sangat terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui prevalensi bakteri resisten karbapenem di rumah sakit. Dengan demikian, data yang diperoleh dapat digunakan sebagai dasar penetapan pedoman penggunaan antibiotik di masa depan guna menurunkan angka resistensi antibiotik.

RSUD Dr. Moewardi adalah rumah sakit rujukan kelas A yang melayani banyak pasien di wilayah Surakarta dan sekitarnya, sehingga diharapkan hasil penelitian ini akan memberi gambaran awal tentang prevalensi gen *oxa-23* penyebab resistensi antibiotik karbapenem pada *A. baumannii* di wilayah Surakarta. Harapan lebih luas dari penelitian ini, ke depan penelitian ini dapat menginisiasi penelitian-penelitian sejenis di kota-kota lain di Indonesia, dalam rangka melengkapi database prevalensi gen *oxa-23* di Indonesia. Tingginya penemuan resistensi *A. baumannii* terhadap antibiotik karbapenem, maka peneliti terdorong untuk meneliti gen *oxa-23* penyebab resistensi karbapenem pada isolat *A. baumannii* dari RSUD Dr. Moewardi Surakarta.

## Bahan dan Metode

Riset ini menggunakan metode deskriptif observasional dengan menggunakan teknik *polymerase chain reactions* (PCR) dan elektroforesis. Sampel yang diteliti berupa 20 isolat bakteri *Acinetobacter baumannii* didapatkan dari laboratorium mikrobiologi RSDM (Dr Moewardi) dengan kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi adalah inventarisasi isolat bakteri *A. baumannii* yang resisten dan rentan terhadap karbapenem selama periode 2023-2024. Sedangkan kriteria eksklusi yang dimaksud adalah stok bakteri/isolat bakteri heterogen yang tidak murni pada masa pertumbuhan.

Penelitian dilakukan di dua tempat, inokulasi bakteri di media BAP dan NA



dilakukan di laboratorium bakteriologi STIKES Nasional) sedangkan isolasi DNA dan pendeteksian gen *oxa-23* dilakukan di laboratorium biologi molekuler STIKES Nasional.

#### Bahan

Material dalam penelitian di antaranya adalah 20 sampel isolat klinis *Acinetobacter baumannii* dari RSUD Dr. Moewardi, media Blood Agar Plate (BAP), media Nutrient Agar (NA), kit bakteri gDNA Mini Presto™, GT buffer, proteinase K, elution buffer, etanol, wash buffer, *forward primer oxa-23*, *reverse primer oxa-23*, Taq Polymerase, DNA template, RNase-Free Water, buffer TBE, aquabidest, loading dye, agarose, Gel Red, master mix.

#### Alat

Peralatan yang dipergunakan dalam penelitian ini meliputi kulkas (-80 °C, -20 °C dan 4 °C), elektroforesis, gel doc, thermal cycler, mikrosentrifuge, inkubator, vortex, spindown, pipet, GD column, collection tube, tabung sentrifuge, microwave, cetakan gel, hotplate stater, gel tray.

#### Cara Kerja

##### Inokulasi ke Media BAP

Diambil 20 kultur cryogen isolat bakteri *A. baumannii* yang merupakan sampel klinis rumah sakit. Keduapuluh kultur isolat bakteri *A. baumannii* diinokulasi ke media *Blood Agar Plate* (BAP), lalu diinkubasi selama 24 jam di inkubator (37 °C).

##### Inokulasi ke Media NA

Paska 18-24 jam, tiap koloni yang terpisah di keduapuluh media BAP, lantas diinokulasikan kembali ke 20 media NA di cawan petri. Kultur bakteri di NA lantas diinkubasi di inkubator pada suhu 37 °C selama 18-24 jam.

#### 2 Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA genom dilakukan sesuai dengan protokol ekstraksi DNA yang disediakan oleh Geneaid Presto™ Mini gDNA Bacteria Kit. Sampel urin dipindahkan ke tabung mikrosentrifugasi 1,5 mL, disentrifugasi dengan kecepatan 14-16.000 g selama 1 menit, dan supernatan dibuang.

Selanjutnya, 180 µL buffer GT ditambahkan ke sampel dan divorteks hingga tersebar merata. Kemudian ditambahkan 20 µL proteinase K dan divorteks hingga homogen. Proses inkubasi dilakukan pada suhu 60°C selama 10 menit dengan inversi setiap 3 menit selama inkubasi (Geneaid, 2017).

Langkah selanjutnya ditambahkan 200 µL buffer GB ke dalam sampel dan divorteks selama 10 detik hingga merata. Selanjutnya dilakukan inkubasi pada suhu 70°C selama 10 menit. Kemudian, 200 µL etanol absolut ditambahkan ke sampel dan divorteks selama 10 detik. Sampel kemudian dimasukkan ke dalam kolom GD dan disentrifugasi dengan kecepatan 14-16.000 g selama 2 menit. Tabung pengumpul bekas pakai kemudian diganti dengan yang baru. Kemudian, 400 µL buffer W1 ditambahkan ke kolom dan disentrifugasi dengan kecepatan 14-16.000 g selama 30 detik. Kemudian, 600 µL buffer W1 ditambahkan dan disentrifugasi selama 30 detik dengan kecepatan 14-16.000 g. Kolom GD kemudian dipindahkan ke tabung Eppendorf steril dan ditambahkan 100 µL eluat yang telah dipanaskan sebelumnya. Sampel kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 14-16.000 g selama 3 menit. Supernatan yang tersisa dalam tabung Eppendorf adalah ekstrak DNA (Geneaid, 2017)

##### Uji Kualitas Isolat DNA

Ditimbang agarose 1,5% sebanyak 1,5 gram dan ditambahkan 100 mL buffer TBE 1x ke dalam erlenmeyer ukuran 100 mL. Selanjutnya, sampel dipanaskan hingga larut menggunakan hotplate, dan gel yang telah didinginkan sebentar kemudian dituangkan dalam chamber yang telah dipasang sisir pada alat elektroforesis. Gel dibiarkan memadat dan siap digunakan untuk menjalankan elektroforesis setelah memadatkan sisiran pada chamber, membentuk sumuran untuk memasukkan setiap sampel DNA. Masing-masing isolat sejumlah lima mikro liter didistribusikan ke sumuran yang telah ditambahkan dua mikro liter gel red, serta loading dye sebanyak 1 µL yang sebelumnya dicampurkan pada kertas parafilm. Power supply dihidupkan dan diatur pada tegangan 90 volt, kuat arus 400 mA (25 menit). Gel hasil elektroforesis diangkat dan dimasukkan ke

dalam gel doc (*UV transluminator*) untuk diamati di layar komputer paska selesainya elektroforesis. Hasil uji kualitas DNA divisualisasikan dengan pengamatan pita DNA hasil elektroforesis horizontal.

### Proses PCR

Mengacu pada penelitian Pertiwi & Budayanti (2018), hasil ekstraksi DNA lantas akan diampifikasi dengan *forward primer oxa-23* [5'-GATGTGTCATAGTATTTCGTCGT-3'] dan *reverse primer oxa-23* [5'-TCACAACAATAAAAGCACTGT-3'].

### Visualisasi hasil PCR

Buffer TBE dimasukkan pada mesin elektroforesis kemudian gel agarose ke dalam tangki elektroforesis sampai agarose tenggelam. Kemudian pipet sebanyak 1 µl loading dye, 3 µl Gel Red, 5 µl isolat DNA diletakkan di parafilm dan dihomogenkan. Dipipet 12 µl campuran lalu dimasukkan ke dalam kolom. Program diatur pada pada tegangan 90 volt, kuat arus 400 mA, selama 60 menit. Setelah 60 menit, mesin elektroforesis dimatikan, lalu dibuka tutup tangkinya, agarose lantas dipindahkan pada UV Tray, dimasukkan pada gel doc. Keberadaan positif gen *oxa-23* ditunjukkan dengan tervisualisasinya pita DNA dengan berat molekul sebesar 1.058 bp

### Hasil dan Pembahasan

#### Hasil Penelitian

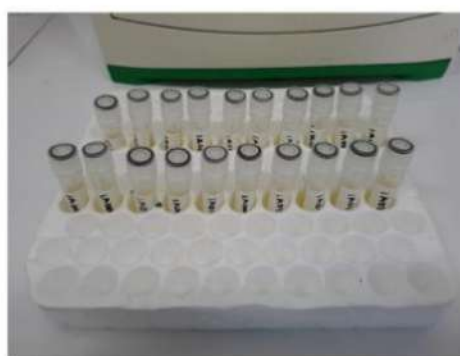
Tujuan dari riset ini adalah untuk mendeteksi keberadaan gen *oxa-23* sebagai penanda resistensi antibiotik karbapenem pada isolat *A. baumannii* dari RSUD Dr. Moewardi Surakarta yang dideteksi dengan metode *Polymerase Reaction Chain* (PCR). Dilakukan pengambilan isolat bakteri *A. baumannii* pada bulan Juli 2024. Teknik sampling yang digunakan adalah kuota sampling, dimana diambil 20 isolat kultur bakteri *A. baumannii* dari RSUD Dr. Moewardi.

Adapun kedua puluh kultur tersebut dilabeli sebagai berikut:

IA001	IA011
IA002	IA012
IA003	IA013
IA004	IA014

IA005	IA015
IA006	IA017
IA007	IA018
IA008	IA020
IA009	IA024
IA010	IA026

Keduapuluh kultur isolat bakteri *A. baumannii* (Gambar 1) diinokulasikan ke media *Blood Agar Plate* (BAP), lalu diinkubasi di inkubator selama 24 jam (37 °C). Pemandahan ke BAP dimaksudkan untuk aklimatisasi kultur bakteri di suhu 37 °C (paska sebelumnya disimpan pada media cryogen di suhu kulkas -80 °C).



**Gambar 1.** Kultur Cryogen *Acinetobacter baumannii* dari RSUD Dr. Moewardi (Dokumentasi Pribadi, 2024)

Setelah 18-24 jam, tiap koloni yang terpisah di kedua puluh media BAP, lantas diinokulasikan kembali ke 20 media NA di cawan petri. Kultur bakteri di NA lantas diinkubasi di inkubator selama 24 jam (37 °C). Tujuan kultur diinokulasi dari BAP ke NA yaitu untuk membuat stok kultur yang siap diisolasi DNA-nya setelah diinkubasi 18-24 jam. Dalam keperluan stok koloni, kultur bakteri di media NA dapat disimpan di kulkas pada suhu 4 °C, dengan pengkultur ulang di media NA tiap 4-5 hari dalam kondisi aseptis.

### Isolasi DNA Sampel Biakan Bakteri

#### Persiapan

1. Koloni dari biakan padat dicampur dengan NaCl 0,9% steril hingga mencapai kepadatan maksimal  $1 \times 10^8$  CFU/ml.
2. Suspensi bakteri lalu dipindahkan ke Eppendorf tube, disentrifugasi 1' 14-16000

x g, supernatan dibuang, lalu ditambahkan dengan 180  $\mu$ l GT Buffer, divortex, ditambahkan 20  $\mu$ l proteinase K, inkubasi pada suhu 60  $^{\circ}$ C minimal 10' (inverse per 3').

#### Lysis

Tiap sampel ditambahkan 200  $\mu$ l GB Buffer, divortex selama 10'', diinkubasi 70  $^{\circ}$ C minimal 10' (inverse per 3')  $\rightarrow$  Pre heat elution buffer 200  $\mu$ l/sampel di suhu 70  $^{\circ}$ C

#### Binding

Tiap sampel ditambahkan 200  $\mu$ l etanol absolut, kocok kuat, endapan dihancurkan, lalu dipindahkan ke GD column + collect tube, disentrifugasi 14-16000 x g selama 2'. Cairan yang terkumpul dibuang, collect tube diganti.

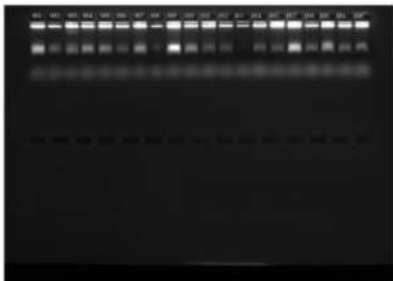
#### Washing

1. Tiap sampel ditambahkan 400  $\mu$ l W1 buffer ke GD column, disentrifugasi 14-16000 x g selama 30'', cairan lalu dibuang.
2. Tiap sampel ditambahkan dengan 600  $\mu$ l W1 buffer (sudah, lalu ditambahkan dengan etanol absolut), disentrifugasi 14-16000 x g selama 30'', cairan lantas dibuang. Tiap sampel disentrifugasi lagi 14-16000 x g selama 3' guna pengeringan.

#### Elution

Dipasang GD column ke Eppendorf tube baru, lalu masing-masing sampel ditambahkan dengan 100  $\mu$ l GB preheated, sampel masing-masing diinkubasi selama minimal 3', lalu disentrifugasi 14-16000 x g selama 30'', proses diulang selama 2x.

#### Uji Kualitas Isolat DNA



**Gambar 2.** Uji Kualitatif 20 Isolat DNA *Acinetobacter baumannii* dari RSUD Dr. Moewardi (Dokumentasi Pribadi, 2024)

Tahapan uji kualitatif isolat DNA adalah sebagai berikut:

1. Dibuat gel agarose 1,5% (1,5 g dalam 100 ml TBE 1x)
2. Pada masing-masing sampel (20 sampel isolat DNA), ditambahkan:
  - 1  $\mu$ l loading dye
  - 2  $\mu$ l gel red
  - 5  $\mu$ l isolat DNA
3. Dielektroforesis dengan tegangan 90 volt, kuat arus 400 mA, selama 25'.

Isolat DNA bakteri Gram negatif ditunjukkan dengan keberadaan pita tebal (Gambar 2). Hasil isolasi DNA kemudian dilanjutkan dengan tahap PCR dalam rangka pencarian suhu optimasi annealing.

#### Optimasi Suhu Annealing

Suhu optimasi annealing diperoleh dengan tahapan pengaturan seperti pada Tabel 1-4:

1. Pengaturan PCR mix

**Tabel 1.** Formula PCR Mix Pra Optimasi Suhu Annealing

R/		Volume ( $\mu$ l)
PCR mix	:	10
Primer forward (1/50)	:	0,5
Primer reverse (1/50)	:	0,5
ddH <sub>2</sub> O	:	8
Isolat	:	1

2. Pengaturan *thermocycler*

Rentang suhu optimasi diatur 61 - 69  $^{\circ}$ C

**Tabel 2.** Pengaturan *thermocycler*

Tahapan	Suhu	Durasi	Siklus	Kolom
Pre denaturasi	95 $^{\circ}$ C	3'	-	A: 69 $^{\circ}$ C B: 68,4 $^{\circ}$ C
Denaturasi	95 $^{\circ}$ C	30''	35 x	C: 67,4 $^{\circ}$ C
Annealing	61-69 $^{\circ}$ C	30''		D: 65,9 $^{\circ}$ C
Extension	72 $^{\circ}$ C	1'		E: 64,1 $^{\circ}$ C F: 62,6 $^{\circ}$ C
Final Extension	72 $^{\circ}$ C	5'	-	G: 61,6 $^{\circ}$ C H: 61 $^{\circ}$ C

3. Pengaturan elektroforesis:

- a. Disiapkan agarose 1,5% (1,5 g / 100 ml TBE 1x)
- b. Pengaturan elektroforesis pada tegangan 90 V, kuat arus 400 mA, selama 45 menit
- c. Loading dye : 1  $\mu$ l  
Gel Red : 3  $\mu$ l



Amplicon : 5  $\mu$ l  
 d. Product : 1.058 bp  
 Dari hasil elektroforesis dan visualisasi gel doc, dijumpai pita DNA terjelas pada kolom H, atas dasar inilah suhu optimal untuk annealing ditetapkan pada 61 °C.

Pengujian keberadaan gen *oxa-23* dilanjutkan dengan memasukkan kedua puluh isolat DNA ke thermalcycler dengan pengaturan sebagai berikut:

**Tabel 3.** Formula PCR Mix Paska Optimasi Menggunakan Suhu Annealing 61 °C

R/	Volume ( $\mu$ l)
PCR mix	: 12
Primer forward (1/50)	: 1
Primer reverse (1/50)	: 1
ddH <sub>2</sub> O	: 7
Isolat	: 4

**Tabel 4.** Pengaturan Thermal Cycler Dengan Suhu 61 °C

Tahapan	Suhu	Durasi	Siklus
Pre denaturasi	95 °C	3'	-
Denaturasi	95 °C	30"	35 x
Annealing	61 °C	30"	
Extension	72 °C	1'	
Final Extension	72 °C	5'	-

Dari hasil amplifikasi isolat DNA di PCR, kedua puluh produk isolat DNA masing-masing diambil 5  $\mu$ l isolat DNA, untuk dicampurkan masing-masing dengan 1  $\mu$ l loading dye dan 2  $\mu$ l gel red diatas kertas parafilm. Hasil pencampuran tersebut dimasukkan ke dalam sumuran gel agarose untuk dilanjutkan proses elektroforesis. Elektroforesis dilakukan dengan pengaturan tegangan 90 V, kuat arus 400 mA, selama 60 menit. Gel agarose hasil elektroforesis lantas dimasukkan ke gel doc dengan hasil visualisasi seperti pada Gambar 3 dan 4.



**Gambar 3.** Visualisasi keberadaan gen *oxa-23* dari isolat klinis bakteri *Acinetobacter baumannii* (10 sampel, sampel IA001 – IA010)



**Gambar 4.** Visualisasi keberadaan gen *oxa-23* dari isolat klinis bakteri *Acinetobacter baumannii* (10 sampel, sampel IA011 – IA026)

Gen *oxa-23* tervisualisasi pada 8 dari 20 sampel DNA yang berasal dari isolat klinis bakteri *A. baumannii* yang berasal dari RSUD Dr. Moewardi. Adapun kedelapan sampel DNA bakteri *A. baumannii* yang positif keberadaan gen *oxa-23* dikenali dengan identitas sampel IA001, IA002, IA004, IA010, IA011, IA012, IA014 dan IA015.

#### Pembahasan

Tujuan dari riset ini adalah untuk mengetahui proporsi populasi gen *oxa-23* penyebab resistensi karbapenem pada isolat *Acinetobacter baumannii* dari RSDM.

*Acinetobacter baumannii* adalah bakteri Gram negatif berbentuk coccobacilli yang keberadaannya dikaitkan dengan kasus infeksi nosokomial di fasilitas kesehatan. *A. baumannii* memiliki “armamentarium” yang merupakan mekanisme resistensi antimikroba skala luas (Peleg *et al.*, 2008). *A. baumannii* pada dasarnya

memiliki tiga mekanisme berbeda yang saling melengkapi dalam rangka meningkatkan resistensi terhadap karbapenem (Tang *et al.*, 2014; Vila *et al.*, 2007). Salah satu mekanisme resistensi pada *A. baumannii* adalah dengan menghidrolisis antibiotik, hidrolisis antibiotik terjadi karena adanya kombinasi beragam enzim laktamase yang menghidrolisis karbapenem (karbapenemase). *A. baumannii* memiliki kromosom asli oksasilinase, yang meski memiliki ekspresi rendah berpotensi memberikan resistensi karbapenem (Turton *et al.*, 2006).

Berdasarkan hasil penelitian diketahui gen *oxa-23* terekspresi di 1.058 bp. Metode penelitian yang digunakan untuk mendeteksi gen *oxa-23* pada *A. baumannii* adalah metode PCR, di mana dalam prosesnya jumlah target DNA ganda akan mengalami duplikasi pada setiap siklus. Teknik PCR berprinsip pada penggandaan 6 bagian spesifik DNA menggunakan enzim DNA polymerase yang diinisiasi oleh pelekatan groundwork, menghubungkan deoksiribonukleotida trifosfat (dNTP) dalam reaksi termal. Komponen yang diperlukan dalam proses PCR meliputi format DNA dan sepasang primer, yakni oligonukleotida pendek dengan urutan nukleotida yang komplementer terhadap urutan nukleotida pada cetak DNA. (Geneaid, 2017).

Dalam penelitian ini, peneliti menggunakan suhu optimal annealing 61 °C. Suhu optimal perlu diperhatikan saat *annealing* karena dapat memengaruhi keberhasilan penempelan primer pada untai DNA terbuka. Suhu *annealing* yang terlalu tinggi dapat mengakibatkan kegagalan amplifikasi karena primer tidak dapat menempel dengan baik, sementara suhu yang terlalu rendah dapat menyebabkan primer menempel pada bagian lain dari genom, menghasilkan dimer DNA. Pencarian suhu *annealing* yang optimal penting untuk menjamin kesuksesan amplifikasi (Ludyasari, 2014).

*Temperature annealing* (Ta) adalah suhu di mana diperkirakan primer akan berikatan dengan template (DNA) secara stabil. Faktor yang dapat memengaruhi penempelan primer adalah panjang primer. Jika primer terlalu pendek, ini dapat mengurangi spesifisitas primer sehingga mudah menempel pada template pada suhu *annealing* yang tidak diinginkan. Namun,

jika primer terlalu panjang, ini tidak akan berpengaruh secara signifikan pada spesifisitas. Primer memiliki parameter lainnya, termasuk panjang primer dan *melting temperature* (Tm). Tm untuk primer forward dan reverse biasanya berkisar antara 42°C hingga 65°C. Primer dengan Tm sekitar 52°C hingga 58°C dianggap sangat ideal, sedangkan Tm di atas 65°C dapat mengurangi efektivitas *annealing*, yang dapat mengganggu proses amplifikasi DNA. Oleh karena itu, pemilihan Tm primer merupakan hal penting karena akan berdampak pada pemilihan suhu *annealing* (Yustinadewi *et al.*, 2018)

Hasil pengujian positif apabila dijumpai pita dengan ukuran 1.058 bp. Pada penelitian ini ditemukan gen *oxa-23* pada 8 dari 20 isolat klinis *A. baumannii* (Gambar 3 dan 4), atau setara dengan prevalensi 40%. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian di Rumah Sakit Universitas Larissa di Thessaly, Yunani pada bulan Juli 2012 – Desember 2011 dengan jumlah sampel sebanyak 174 menunjukkan bahwa frekuensi isolat gen *oxa-23* mengalami peningkatan pada tingkat resistensi karbapenem di bakteri *A. baumannii*. Dari jumlah spesimen yang diteliti didapatkan hasil 16 isolat positif dari 30 add up to isolat dan menghasilkan prevalensi sebanyak 47,05% (Liakopoulos *et al.*, 2012). Dalam penelitian di Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo di tahun 2011 dikatakan prevalensi resistensi antibiotik golongan karbapenem telah mencapai 50,5% dari 42 isolat resisten antibiotik karbapenem (Karuniawati *et al.*, 2013). Sejalan dengan penelitian Primasari *et al.* (2022), resisten karbapenem tertinggi ditemukan pada *Acinetobacter baumannii* dengan rentang penemuan populasinya antara 46,43% - 70%, diikuti dengan *Pseudomonas aeruginosa* dengan penemuan populasi sebesar 12,82% - 23,33%, dan Enterobacterales sebesar 0,73% - 8,24%.

Pada penelitian Jeon *et al.* (2005), didapatkan hasil positif gen *oxa-23* sebanyak 36 dari 52 isolat yang resisten antibiotik karbapenem, dengan nilai prevalensi sebesar 69,2%. Perbedaan jumlah prevalensi dapat dipengaruhi oleh 2 faktor, faktor pertama yaitu perbedaan jumlah sampel, sedangkan faktor kedua yang tidak kalah penting yaitu lokasi penelitian. Lokasi penelitian menjadi penting karena *A. baumannii* memiliki daya tahan hidup lebih baik di beberapa lokasi, dimana tingkat



---

kebersihan pada suatu tempat atau negara menjadi penentu.

### **Kesimpulan**

Penelitian ini telah berhasil mendeteksi keberadaan gen *oxa-23* pada 8 dari 20 sampel isolat klinis *A. baumannii* yang berasal dari Laboratorium Mikrobiologi Klinik RSUD Dr. Moewardi, dengan nilai prevalensi 40%.

10

### **Ucapan Terima Kasih**

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset dan Teknologi (Kemendikbudristek) atas hibah pendanaan Penelitian Dosen Pemula tahun 2024, kepada Ketua STIKES Nasional, Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat (LPPM) STIKES Nasional dan Kaprodi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis STIKES Nasional yang telah memfasilitasi penelitian, sehingga penelitian ini boleh terlaksana dan dapat diselesaikan dengan baik.

# Rev01\_Vector et al.\_Detection of the oxa-23 Gene (29 Okt 2024)

## ORIGINALITY REPORT

16%

SIMILARITY INDEX

14%

INTERNET SOURCES

6%

PUBLICATIONS

4%

STUDENT PAPERS

## PRIMARY SOURCES

1	<a href="http://jurnal.harianregional.com">jurnal.harianregional.com</a> Internet Source	4%
2	<a href="http://jurnal.unimor.ac.id">jurnal.unimor.ac.id</a> Internet Source	2%
3	<a href="http://pdffox.com">pdffox.com</a> Internet Source	1%
4	<a href="http://jurnal.ugm.ac.id">jurnal.ugm.ac.id</a> Internet Source	1%
5	<a href="http://adoc.pub">adoc.pub</a> Internet Source	1%
6	Submitted to Universitas Trunojoyo Student Paper	1%
7	Ahmad Hanif Pranoto Utomo, Taufik Budhi Pramono, Hary Tjahja Soedibya, Purnama Sukardi, Hamdan Syakuri. "Analisis Polimorfisme DNA Ikan Gabus (Channa striata) Berbeda Ukuran Menggunakan Teknik RAPD", Sainteks, 2021 Publication	1%

8	123dok.com Internet Source	1 %
9	Siti Nur Arsih, Nony Puspawati, Rizal Maarif Rukmana. "Detection Detection Of Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) On The Patients Of RSUD Dr. Moewardi surakarta Using Culture Method And Polymerase Chain Reaction (PCR)", Biomedika, 2019 Publication	1 %
10	journal.ipb.ac.id Internet Source	<1 %
11	www.sstbdergisi.com Internet Source	<1 %
12	idoc.pub Internet Source	<1 %
13	Dinda Helsa Auliantika, Didik Wahyudi. "Deteksi Gen SLC30A8 pada Sampel Darah Penderita Diabetes Melitus Tipe 2 Dengan Metode Polymerase Chain Reaction", BIOPENDEX: Jurnal Biologi, Pendidikan dan Terapan, 2023 Publication	<1 %
14	publishing-widyagama.ac.id Internet Source	<1 %
15	repository.unhas.ac.id Internet Source	<1 %



16	<a href="http://www.researchgate.net">www.researchgate.net</a> Internet Source	<1 %
17	<a href="http://digilib.unisayogya.ac.id">digilib.unisayogya.ac.id</a> Internet Source	<1 %
18	<a href="http://docobook.com">docobook.com</a> Internet Source	<1 %
19	<a href="http://ecotoxbrasil.org.br">ecotoxbrasil.org.br</a> Internet Source	<1 %
20	<a href="http://jurnal.ukh.ac.id">jurnal.ukh.ac.id</a> Internet Source	<1 %
21	<a href="http://publikasiilmiah.ums.ac.id">publikasiilmiah.ums.ac.id</a> Internet Source	<1 %
22	<a href="http://repositorio.ufla.br">repositorio.ufla.br</a> Internet Source	<1 %
23	<a href="http://text-id.123dok.com">text-id.123dok.com</a> Internet Source	<1 %
24	<a href="http://tr.scribd.com">tr.scribd.com</a> Internet Source	<1 %
25	<a href="http://repository.ub.ac.id">repository.ub.ac.id</a> Internet Source	<1 %

Exclude quotes Off

Exclude matches Off

Exclude bibliography Off

# Rev01\_Vector et al.\_Detection of the oxa-23 Gene (29 Okt 2024)

---

PAGE 1

---

PAGE 2

---

PAGE 3

---

PAGE 4

---

PAGE 5

---

PAGE 6

---

PAGE 7

---

PAGE 8

---