

POTENSI MEDIA TRANSPORT MODIFIKASI AMPAS TAHU SEBAGAI PENUNJANG DETEKSI GEN ESBL PADA INFEKSI ULKUS KAKI DIABETIK

Venny Patricia^{1*} · Ahmad Yani² · Citra Trisna³ · Muhamad Abdul Rifai⁴ · Luthfiyatul Hidayah⁵ · Mega Rachmawati⁶

^{1,2,3,4,5,6} Program Studi D3 Teknologi Laboratorium Medik, Poltekkes Kemenkes Banten, Banten, Indonesia

^{1,2} Pusat Unggulan Iptek-Poltekkes Kemenkes (PUI-PK), Poltekkes Kemenkes Banten, Banten, Indonesia

e-Mail : venny.patricia@poltekkesbanten.ac.id

No Tlp WA : 0813-6772-3320

Abstract

Diabetes is a chronic disorder that is a major public health problem globally. About one-fourth of all diabetics have the potential to develop ulcers in their lifetime, and half of those ulcers are at risk of infection with a microorganism. Patients with diabetic foot ulcers are often infected by antibiotic-resistant organisms (MDROs), one of the bacteria producing Extended Spectrum β Lactamase (ESBL). The purpose of this study was to see the potential of tofu pulp modification transport media as a support for ESBL gene detection. ESBL genes in bacteria are detected using PCR techniques. In testing this modified Tofu Dregs transport media using 30 ulcer samples of Diabetes Mellitus patients at RUMAT Cipondoh, Tangerang City. The results of the dominant bacteria that grow are Citrobacter sp group bacteria, namely modified transport media 6 (30.0%) and Amies 8 (40.0%). The highest percentage of 64% is still sensitive to meropenem. Based on genotype, there are 4 (13.3%), SHV 3 (10%) and 1 (3.3%) genes containing these two genes. Conclusion The treatment strategy for diabetic foot ulcer infection using antibiotics must be based on the results of resistance test cultures so that there are not many MDRO genes, especially ESBL-producing genes, from 30 diabetic ulcer isolates using modified Tofu Dregs transport media are quite effective and can be used as a transport medium to support bacterial examination with ESBL genes.

Keywords : ESBL, MDRO, Diabetic Ulcers

Abstrak

Diabetes merupakan suatu gangguan kronis yang menjadi masalah utama kesehatan masyarakat secara global. Sekitar satu per empat dari seluruh penderita diabetes berpotensi mengalami ulkus sepanjang hidup mereka, dan setengah dari ulkus tersebut memiliki resiko untuk terinfeksi suatu mikroorganisme. Pasien dengan ulkus kaki diabetes sering kali terinfeksi oleh organisme yang resisten antibiotik (MDRO) salah satunya bakteri penghasil Extended Spectrum β Lactamase (ESBL). Tujuan penelitian ini untuk melihat potensi media transport modifikasi ampas tahu sebagai penunjang deteksi gen ESBL. Gen ESBL pada bakteri di deteksi menggunakan Teknik PCR. Pada pengujian media transport modifikasi Ampas Tahu ini menggunakan 30 sampel ulkus pasien Diabetes Mellitus di RUMAT Cipondoh, Kota Tangerang. Hasil bakteri dominan yang tumbuh ialah bakteri golongan Citrobacter sp yaitu media transport modifikasi 6(30,0%) dan Amies 8(40,0%). Persentase tertinggi sebesar 64% masih sensitif terhadap meropenem. Berdasarkan genotif terdapat gen OXA sebanyak 4(13,3%), SHV 3(10%) dan 1(3,3%) yang mengandung kedua gen tersebut. Kesimpulan strategi pengobatan infeksi ulkus kaki diabetic penggunaan antibiotik harus berdasarkan hasil kultur uji resistensi sehingga tidak banyak menimbulkan gen MDRO khususnya gen penghasil ESBL, dari 30 isolat ulkus diabetic menggunakan media transport modifikasi Ampas Tahu cukup efektif dan dapat digunakan sebagai media transport sebagai penunjang pemeriksaan bakteri dengan gen ESBL.

Kata Kunci : ESBL, MDRO, Ulkus diabetik

PENDAHULUAN

Dewasa ini, kasus diabetes masih menjadi topik hangat pada permasalahan yang terjadi dibidang kesehatan. Dilansir dari data (WHO, 2023) Sekitar 422 juta orang di seluruh dunia menderita diabetes, sebagian besar lainnya penderita tinggal di negara-negara berkembang dengan tingkat penghasilan rendah hingga menengah, dan sebanyak 1,5 juta kasus kematian setiap tahunnya disebabkan oleh penyakit diabetes. Hingga saat ini, jumlah kasus dan prevalensi diabetes ini diperkirakan akan terus meningkat. Sekitar satu per empat dari seluruh penderita diabetes berpotensi mengalami ulkus sepanjang hidup mereka, dan setengah dari ulkus tersebut memiliki resiko untuk terinfeksi suatu mikroorganisme (Perim et al., 2015). Diabetes melitus merupakan kelainan endokrin yang dapat menimbulkan berbagai komplikasi, salah satunya dapat menyebabkan *Diabetic foot infection* (DFI). Presentase risiko seumur hidup pada penderita diabetes Tipe 1 dan Tipe 2 terhadap kejadian kasus *Diabetic foot infection* (DFI) yaitu sekitar 34%. Infeksi yang terjadi pada *Diabetic foot infection* (DFI) bervariasi mulai dari menyebabkan selulitis superfisial sederhana hingga osteomyelitis kronis. Pasien dengan DFI juga sering kali dikaitkan dengan risiko kematian hingga 2,5 kali lipat dibandingkan pasien diabetes tanpa DFI (Darwis et al., 2021). Ditemukan sekitar 5,8% gen SHV, 8,2% positif gen SHV+OXA-1, 2.54% gen TEM (akrami, M., & karga jahromi, 2022). Penelitian di Iraq menyebutkan ada sekitar 60% gen *bla*_{TEM}, 53,3% gen *bla*_{OXA} pada infeksi ulkus kaki diabetic (Hamid et al., 2020). Gen ESBL tidak hanya ditemukan pada sampel ulkus tetapi juga pada feses sapi yaitu sekitar 25% gen SHV, 16,7% gen TEM dan 66,7% gen CTX-M (Triffit et al., 2018). Penelitian lain di Iraq pada tahun 2021 masih terdapat gen penghasil ESBL pada ulkus kaki diabetic sekitar 50% gen SHV, OXA-1 38,8%, CTX-M-1 44,4%, TEM 11,1% dan CTX-M-2 5,5% (Jassim et al., 2022).

Salah satu pemeriksaan penunjang pada infeksi ulkus kaki diabetic ialah pemeriksaan kultur bakteri. Pada tahap preanalitik pengambilan sampel infeksi ulkus kaki diabetik dapat digunakan swab dan memerlukan media transport apabila pengambilan sampel cukup jauh dari laboratorium yang akan memeriksa

sampel tersebut. Media transport digunakan untuk menjaga bakteri yang ada didalam sampel ulkus dapat bertahan hidup sampai diperiksa pada laboratorium. Menurut (Woldeteklie et al., 2022) Untuk melihat suatu ulkus terinfeksi terinfeksi, swab kapas steril digunakan untuk mengambil sampel dari ulkus di kaki, sedangkan jarum steril digunakan untuk mengambil nanah yang diaspirasi. Sebuah media transport Stuart digunakan untuk mengangkut sampel dalam waktu 2 jam. Disamping itu, dikarenakan harga reagen media transport tersebut kurang ekonomis apabila digunakan secara terus menerus sehingga penelitian ini terdorong untuk menciptakan sebuah inovasi dibidang kesehatan yaitu membuat media transport modifikasi dengan memanfaatkan ampas tahu yang menjadi salah satu komposisi utama pada media transport pertumbuhan bakteri tersebut. Limbah hasil produksi tahu tersebut dikenal tidak memiliki nilai guna serta akan berdampak buruk apabila mencemari lingkungan jika tidak tertangani sehingga dengan adanya pemanfaatan limbah ampas tahu tersebut akan berdampak positif bagi masyarakat dan lingkungan.

Pada tahap analitik kultur swab ulkus kaki diabetic yang sudah berada didalam media transport tersebut diinokulasi pada media agar darah dan agar MacConkey untuk isolasi bakteri aerob. Isolat selanjutnya diidentifikasi menggunakan uji biokimia (Perim et al., 2015). Uji sensitivitas obat dilakukan dengan metode difusi cakram Kirby-Bauer mengikuti pedoman yang diberikan oleh *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)* dalam standar pengujian sensitivitas antimikroba (Mukherjee et al., 2021).

Menurut (Datta et al., 2019) Pasien dengan ulkus kaki diabetes sering kali terinfeksi oleh organisme yang resisten terhadap banyak obat (MDRO). Berdasarkan penelitian yang dilakukan, dari 89 isolat dari Famili *Enterobacteriaceae*, 16 strain (18%) menghasilkan ESBL, 6 strain (6,7%) menghasilkan Amp C dan 37 strain (41,5%) menghasilkan ESBL dan Amp C. Selain itu, 13,4% adalah karbapenem. *Enterobacteriaceae* yang resisten. Di antara 20 isolat *Pseudomonas* dan *Acinetobacter*, 5 diantaranya merupakan produsen MBL. Di antara *S. aureus*, 18% adalah MRSA. Sebanyak 56 pasien memiliki patogen MDRO pada ulkus kaki diabetiknya dan 44 pasien mengalami infeksi

tanpa MDRO. Sedangkan dari penelitian (Perim et al., 2015), sebanyak 61 pasien dengan ulkus diabetic diisolasi organisme Gram positif. Diketahui bahwa, terdapat 16 (59%) dan 9 (33%) kasus *Staphylococcus aureus* (MRSA) yang resisten methisilin dengan resistensi oksasilin dan resistensi ceftoxitin. Di antara 16 dan 9 kasus MRSA, 7 strain umum resisten terhadap vankomisin dalam uji difusi disk.

Menurut (Darwis et al., 2021) Bakteri yang ditemukan pada pasien dengan kasus *Diabetic foot infection* (DFI) di RSUD Dr Hi Abdul Moeloek pada tahun 2017-2019 ditemukan resisten terhadap antibiotik yang umum digunakan diantaranya bakteri gram negatif pada penelitian ini menunjukkan kerentanan paling rendah terhadap kloramfenikol (28,3%), tetrasiklin (22,6%), cefixime (13,9%), ampicilin (13,4%), penisilin (11,1%), eritromisin (10,7%), amoksisilin (10,7%) dan sefadroksil (10,6%). Sedangkan bakteri Gram positif menunjukkan kerentanan paling rendah terhadap kloramfenikol (30,8%), amoksisilin (23,1%), sefadroksil (21,4%), sefotaksim (11,1%), sefoperazon (10%), tetrasiklin (6,7%), sefiksim (0. %), klindamisin (0%), eritromisin (0%), ampicilin (0%) dan penisilin (0%).

Resistensi antibiotik pada kasus DFI masih menjadi masalah utama; ini memperburuk prognosis dan dapat menyebabkan hasil pengobatan yang buruk. Umumnya, hal ini terjadi karena penggunaan antibiotik yang tidak tepat dan akses bebas terhadap penggunaan antibiotik diberbagai negara. Pemilihan antibiotik yang tepat berdasarkan antibiogram isolat dari infeksi kaki diabetik sangat penting untuk penatalaksanaan yang tepat terhadap infeksi ini. Oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi adanya gen ESBL pada ulkus kaki diabetik di RUMAT, Cipondoh, Kota Tangerang dengan pengambilan sampel ulkus diabetik menggunakan media transport modifikasi Ampas Tahu.

BAHAN DAN METODE

Alat yang digunakan adalah mesin PCR *Cleaver*, erlenmeyer glass 250 ml, *micropipet* 0.5-10 μ l, *micropipette* 5-50 μ l, *micropipet* t 20-100 μ l, *microwave*, gelas ukur 100 ml, *plate* dan sisir (comb), *gloves*, *gel try*, *MUPID-2 Mini Gel Electroforesis*), *power supply*, parafilm, UV transiluminator UVP TEM

40, USA, gunting, kamera digital, pena marker dan timbangan analitik. Bahan yang digunakan adalah sampel ulkus diabetik, *agarose*, 1 x *TBE Buffer*, *white tip*, *yellow tip*, *microtube* 1,5 ml, *microtube* 0,2 ml, *My TaqTm HS Red mix.2x*, *gel red*, *loading dye*, *ladder* 100bp, dan *double destilated water*.

Desain penelitian yang digunakan adalah Deskriptif dengan pendekatan uji laboratorium, uji laboratorium untuk mengidentifikasi galur ESBL dengan pendekatan survai klinis secara *cross sectional* pada isolat ulkus diabetik. Populasi target dari penelitian adalah sampel ulkus diabetik pasien rawat jalan di RUMAT Cipondoh, kota Tangerang, Banten. Sampel penelitian adalah semua isolat bakteri Gram negatif dari berbagai sampel yang terdeteksi MDR.

Isolasi dan identifikasi sampel Ulkus Diabetik Pada media Modifikasi Ampas Tahu dan Pada media Kontrol Amies

Tahap awal dari penelitian adalah sampel yang sebelumnya telah diambil menggunakan swab steril dan dimasukkan dalam media transport modifikasi Ampas Tahu diinokulasikan pada media *Blood Agar Plate* (BAP) dan *MacConkey Agar* (MCA). Setelah inkubasi 24 pada suhu 35°C, masing-masing media diperiksa, dan dilanjutkan dengan menanam koloni yang tumbuh pada media uji biokimia dan uji resisten. Identifikasi sementara dari sampel ulkus diabetik yaitu dengan pewarnaan Gram, karakteristik morfologis, dan uji biokimia seperti katalase, urease, penggunaan *sitrat Simmons*, dan MR (*methyl red*) dan melakukan pembacaan hasil uji resistensi.

Uji Genotif dengan PCR

1) Ekstraksi DNA koloni Bakteri Gram Negatif

Semua isolat bakteri yang tumbuh dilakukan proses uji genotipe dengan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Proses isolasi DNA koloni bakteri ESBL menggunakan metode *boiling* selama 5 menit, dengan mencampurkan koloni bakteri dengan larutan *Phosphate Buffer Saline* (PBS) pH 7,4 sebanyak 500µL lalu ditambahkan DNA *chelex-100*. lalu proses sekuensi primer dengan pemberian primer OXA, TEM, SHV; running PCR.

2) PCR gen TEM, SHV, OXA dan IMP dari isolat Bakteri

Tabel 1. Primer yang digunakan dan metode dilakukan dengan *Multiplex* PCR

Nama Primer	Sekuensi Primer	Gen Target	Amplicon in bp
IMP - F	GGAATAGAGTGGCTTAAYTCTC	IMP	232 bp
IMP - R	GGTTTAAAYAAAACAACCACC		
SHV - F	TCAGCGAAAAACACCTTG	SHV	471 bp
SHV - R	TCCCGCAGATAAATCACC		
TEM - F	CTTCCTGTTTTTGCTCACCCA	TEM	717 bp
TEM - R	TACGATACGGGAGGGCTTAC		
OXA-48 F	TTGGTGGCATCGATTATCGG	OXA-48	744 bp
OXA-48 R	GAGCACTTCTTTGTGATGGC		

Suhu pada *multiflex* PCR ini ialah dengan suhu awal denaturasi 95°C, 3 menit; tahap denaturasi 95°C, 15 detik; *annealing* 60°C, 30 detik; ekstensi 72°C, 30 detik dan ekstensi tambahan 72°C, 7 menit.

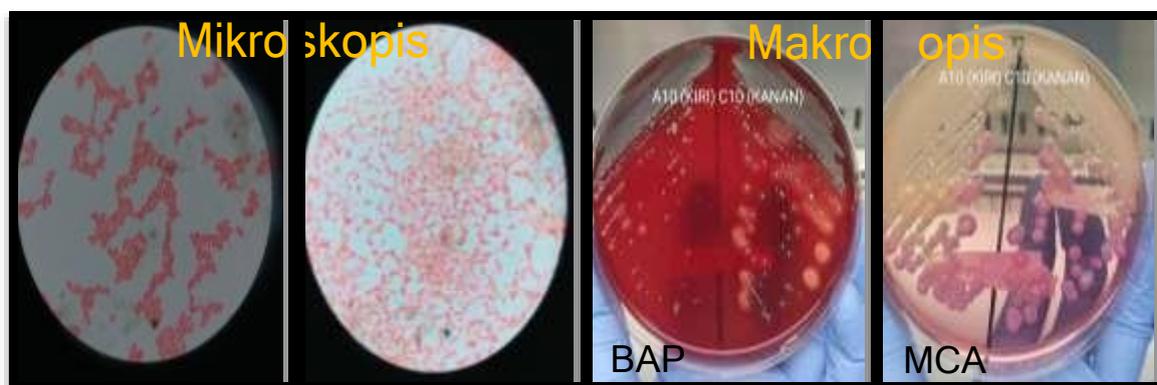
3) Deteksi Produk PCR dengan Elektroforesis dan Visualisasi

Kualitas DNA hasil amplifikasi dengan teknik PCR dilihat dengan menggunakan teknik elektroforesis gel agarosa (konsentrasi 1%). Elektroforesis dilakukan dalam aparatus elektroforesis yang berisi TBE 1x (*Tris-Boric Acid-EDTA* 10.8 g/L, pH 8.0 yang mengandung 5,5 g/L *Boric Acid* dan 0,5 M EDTA pH 8.0) dan ditambahkan zat interkalator *gell red*. Sebagai penanda ukuran pita-pita DNA hasil elektroforesis pada gel digunakan DNA marker Gel

dielektroforesis dengan tegangan listrik 100 V selama 25 menit. Selanjutnya, hasil elektroforesis akan dideteksi dengan sinar UV.

HASIL

Dari 30 Isolat ulkus diabetik yang diperoleh dari RUMAT, Cipondoh, Kota Tangerang yang dikultur menggunakan media transport modifikasi ampas tahu didapatkan gambaran secara mikroskopis dan makroskopis yang ditunjukkan pada (gambar 1) dibawah ini:



Gambar 1. Hasil pertumbuhan mikroskopis dan makroskopis pada media transport modifikasi Ampas Tahu dan AMIES. Sumber : (dokumen pribadi)

Penelitian ini menggunakan 30 isolat pasien dari perlakuan media modifikasi dan media AMIES. 1 pasien diambil 2 kali pengambilan untuk diletakkan pada kedua media transport tersebut. Berikut data demografi dari 15 pasien yang diambil pada penelitian ini.

Tabel 2. Data demografi dari 15 pasien penderita ulkus kaki diabetik dari RUMAT, Cipondoh, Kota Tangerang

Variabel	Karakteristik	Total (N)	%
Usia	26 - 35 tahun	0	0
	36 - 45 tahun	2	13
	46 - 55 tahun	6	40
	56 - 65 tahun	6	40
	> 65 tahun	1	7
Jenis Kelamin	Perempuan	8	53
	Laki-laki	7	47
Lama Menderita	≥ 1TAHUN	14	93
	< 1TAHUN	1	7
Total		15	100

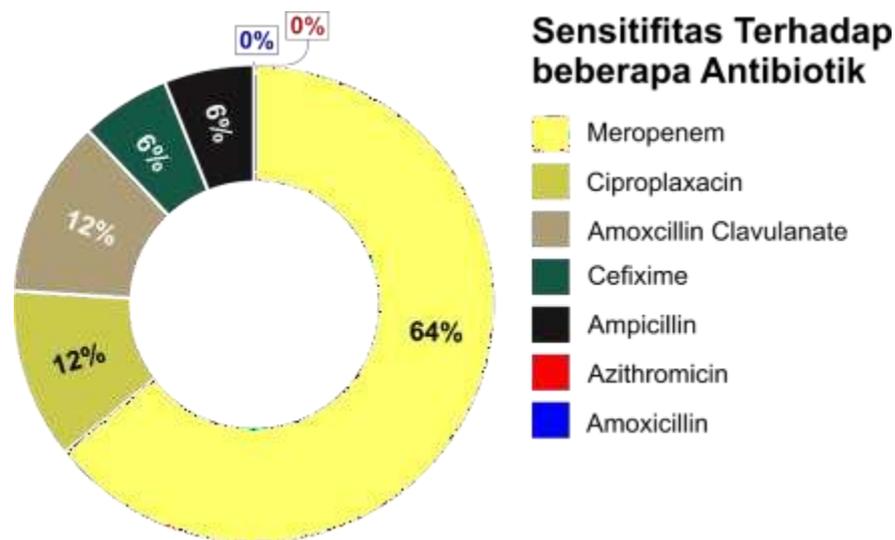
Sebanyak 15 responden pasien Diabetes Melitus (DM) tipe 2 dengan komplikasi ulkus kaki diabetik dari (tabel 2) prevalensi usia yang dominan ialah pada 46-55 dan 56-65 tahun sebesar 6(40%). Pasien berdasarkan jenis kelamin sama antara Perempuan 8(53%) dan laki-laki 7(47%) dan rata-rata menderita DM lebih dari 1 tahun sebesar 14(93%).

Tabel 3. Identifikasi Pertumbuhan Bakteri Pada Media Transport Modifikasi Ampas Tahu dan Transport Media AMIES

MEDIA	BAKTERI	N	(%)
MEDIA TRANSPORT MODIFIKASI AMPAS TAHU	<i>Citrobacter sp</i>	6	30,0
	<i>Enterobacter sp</i>	5	25,0
	<i>Pseudomonas sp</i>	4	20,0
	<i>Proteus sp</i>	2	10,0
	<i>Staphylococcus aureus</i>	1	5,0
	<i>Escherichia coli</i>	1	5,0
	<i>Candida sp</i>	1	5,0
	Steril	1	5,0
MEDIA	BAKTERI	N	(%)
AMIES	<i>Citrobacter sp</i>	8	40,0
	<i>Enterobacter sp</i>	4	20,0
	<i>Pseudomonas sp</i>	4	20,0
	<i>Proteus sp</i>	2	10,0
	<i>Staphylococcus sp</i>	1	5,0
	<i>Candida sp</i>	1	5,0
	Steril	1	5,0

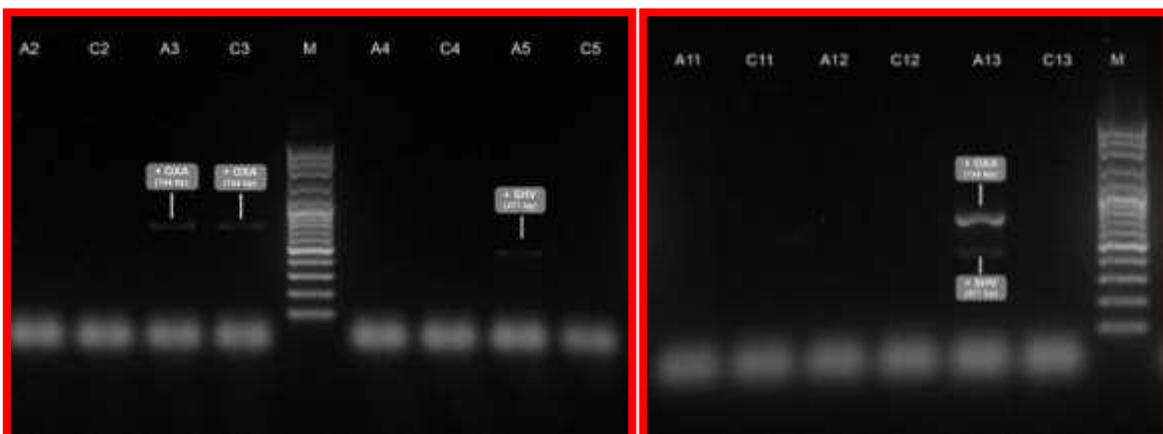
Pada (Tabel 3) sampel kultur ulkus kaki diabetik yang terbanyak baik pada media modifikasi dan media Amies didominasi oleh bakteri golongan *Citrobacter sp* yaitu media transport modifikasi 6(30,0%) dan Amies 8(40,0%), lalu diikuti bakteri bakteri lain nya seperti *Enterobacter sp* 5(25,0%); 4(20,0%); *Pseudomonas sp* 4(20,0%); prevalensi yang sama ditunjukkan untuk bakteri *Proteus sp* sebesar 2(10,0%). Bakteri lainnya hanya ada 1(5,0%) pada masing-masing media transport untuk pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus sp*, *Escherichia coli*, *Candida sp*. Ada 1 sampel dinyatakan steril karena memang tidak ada pertumbuhan bakteri. Pada hasil uji resistensi terhadap 7 antibiotik yang diujikan pada isolat yang ditanam pada media

modifikasi didapatkan hasil seperti yang ditunjukkan pada (gambar 2) diagram dibawah ini:



Gambar 2. Diagram Persentase uji resistensi isolat bakteri Ulkus kaki diabetik

Hasil uji resistensi yang dilakukan pada 7 antibiotik persentase tertinggi sebesar 64% masih sensitif terhadap meropenem, lalu diikuti oleh antibiotik Ciprofloxacin dan Amoxicillin Clavulanate sebesar 12% dan antibiotik yang semua nya resisten yaitu pada golongan Azitromicin dan Amoxicillin. Pemeriksaan secara genotif untuk melihat gen penghasil ESBL dilanjutkan dengan dideteksi melalui proses PCR multipleks untuk mengidentifikasi gen ESBL dengan menguji pengkodean gen OXA, SHV, dan TEM. Berikut frekuensi gen ESBL yang ditemukan melalui proses PCR multipleks dengan 25 siklus, hasil yang didapatkan ditunjukkan pada gambar 3 dibawah ini:



Gambar 3. Elektroforesis gel gen OXA dan SHV yang diamplifikasi dari PCR konvensional. Agarosa 2%, 100V/cm selama 40 menit, yang telah diwarnai dengan *gel red* dan diamati pada

trans-iluminator ultraviolet. (M): ladder DNA 100bp. line A3, C3, A13 terdapat Gen OXA (744 bp) dan line A5 dan A13 terdapat gen SHV (471 bp).

Dalam hasil penelitian ini mengungkapkan bahwa pada amplicon A3 ditemukan adanya gen OXA (744 bp), amplicon C3 ditemukan adanya gen OXA (744 bp), amplicon A5 ditemukan adanya gen SHV (471 bp), amplicon C6 ditemukan adanya gen OXA (744 bp), amplicon C10 ditemukan adanya gen SHV (471 bp), dan pada amplicon A13 ditemukan adanya gen OXA + SHV.

Tabel 3. Frekuensi gen ESBL pada isolat ulkus kaki diabetik dari RUMAT, Cipondoh, Kota Tangerang

GEN	n	Presentase (%)
OXA	4	13,3
SHV	3	10
OXA + SHV	1	3,3
TEM	0	0

Dengan presentasi frekuensi pengkodean gen OXA (744 bp) sebanyak 13,3%, gen SHV (471 bp) sebanyak 10%, dan gen OXA+SHV sebanyak 3,3%.

DISKUSI

Terdapat beberapa keluarga β -laktamase, yang merupakan enzim yang dapat menghancurkan antibiotik β -laktam seperti sefalosporin dan karbapenem, menyebabkan resistensi bakteri terhadap jenis antibiotik ini : Kelas A β -laktamase : Kelas ini mencakup berbagai β -laktamase yang menghasilkan resistensi terhadap antibiotik sefalosporin. Ini termasuk enzim *Imipenem-Hydrolyzing Enzyme* (IMI), *Serratia marcescens* enzim (SMI), *Not-Metallo-Enzyme Carbapenemase* (NMC), *Klebsiella pneumoniae carbapenemase* (KPC), dan masih banyak lagi. KPC dan GES biasanya disebabkan oleh plasmid atau elemen genetik bergerak (HGT). Kelas B β -laktamase (*Metallo- β -laktamase*): Ini adalah β -laktamase yang mengandung ion logam seperti seng dalam situs aktif mereka. Mereka menghancurkan antibiotik β -laktam dan resisten terhadap berbagai antibiotik, termasuk sefalosporin, aztreonam, dan karbapenem. Contoh keluarga penting dalam kelas ini termasuk IMP, VIM, SPM,

dan *New Delhi metallo-β-lactamases* (NDM). Kelas C β-laktamase (Sefalosporinase): Kelas ini mencakup enzim yang dikenal sebagai Amp C β-laktamase. Mereka ditemukan di banyak bakteri Gram negatif kecuali *Salmonella* dan *Klebsiella*. Beberapa *strain*, seperti *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumonia*, dan *Stenotrophomonas spp*, tidak memiliki gen *BlaampC* di dalam genom inti mereka. Kelas D β-laktamase (*Oxacillin Hydrolyzing Enzymes*, OXA): Kelas ini mencakup β-laktamase yang termasuk dalam keluarga OXA. Mereka ditemukan di *Enterobacteriaceae* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Ada banyak varian OXA, dan beberapa di antaranya, seperti OXA-11 dari *Pseudomonas aeruginosa* dan OXA-23 dari *Acinetobacter baumannii*, dapat menyebabkan resistensi terhadap antibiotik tertentu seperti sefalosporin generasi III dan karbapenem. Enzim-enzim ini merupakan penyebab utama dari resistensi bakteri terhadap antibiotik β-laktam, dan pemahaman yang lebih baik tentang mekanisme kerja mereka adalah kunci untuk mengembangkan strategi pengelolaan infeksi yang lebih efektif.

Hasil penelitian yang dilakukan berdasarkan usia prevalensi usia yang dominan ialah pada 46-55 dan 56-65 tahun sebesar 6(40%). Faktor usia 46-65 merupakan termasuk lansia akhir dengan resiko terjadi DM dengan komplikasi ulkus kaki diabetik. Pada masa usia lansia akhir sudah terjadi penurunan fungsi tubuh seperti penurunan sekresi insulin sehingga kemampuan tubuh untuk mengendalikan glukosa darah menjadi tidak optimal (Salim et al., 2020). Faktor usia dan lamanya penderita menjadi salah satu faktor penyebab penyebab infeksi serta peningkatan derajat keparahan ulkus diabetk. Dari penelitian sebelumnya, terdapat faktor risiko tertentu yang terkait dengan peningkatan kemungkinan terjadinya infeksi organisme yang resistan terhadap beberapa obat (MDRO) pada pasien dengan ulkus kaki diabetik: Durasi Diabetes: Pasien yang menderita diabetes selama lebih dari 20 tahun mempunyai risiko lebih tinggi terkena infeksi MDRO. Hal ini menunjukkan bahwa semakin lama seseorang menderita diabetes, semakin rentan mereka terhadap infeksi yang disebabkan oleh organisme yang resistan terhadap beberapa obat. Ukuran Ulkus: Pasien dengan ulkus yang lebih besar (berukuran lebih dari 4 cm²) juga berisiko lebih tinggi terkena infeksi MDRO. Ulkus yang lebih besar dapat

memberikan lingkungan yang lebih baik bagi kolonisasi bakteri dan infeksi. Usia: Individu yang berusia di bawah 50 tahun mempunyai risiko lebih tinggi terkena infeksi MDRO. Tingkat Maag: Pasien dengan tukak Tingkat 2 dan Tingkat 3 memiliki risiko lebih tinggi terkena infeksi MDRO (dengan rasio odds masing-masing 3,6 dan 2). Tingkatan tukak ini lebih parah dan mungkin lebih rentan terhadap infeksi. Pengobatan: Pasien yang menerima perawatan medis (dibandingkan dengan perawatan bedah) mempunyai risiko lebih tinggi terkena infeksi MDRO (Yan et al., 2022).

Penelitian ini berdasarkan jenis bakteri yang tumbuh didominasi oleh bakteri golongan *Citrobacter sp* yaitu metral 6(30,0%) dan Amies 8(40,0%), lalu diikuti bakteri bakteri lainnya seperti *Enterobacter sp* 5(25,0%); 4(20,0%); *Pseudomonas sp* 4(20,0%); prevalensi yang sama ditunjukkan untuk bakteri *Proteus sp* sebesar 2(10,0%). Pada (tabel 3) diatas jumlah bakteri dominan yang tumbuh juga memiliki sedikit perbedaan jumlah antara media perlakuan dan kontrol, hal ini disebabkan oleh pertumbuhan bakteri pada sampel ada yang lebih dari 1 jenis bakteri. Penelitian ini sejalan dengan infeksi kaki diabetik di Iraq yang melaporkan bakteri *Citrobacter spp* sekitar 3 (4.34%) yang menghasilkan gen NDM sebagai pembawa antibiotik *Multi Drug Resistent* (MDR) (Zuhair Wahid, 2022). Berdasarkan penelitian mikrobiota infeksi kaki diabetik didapatkan bakteri yang terbanyak di dominasi oleh golongan bakteri *Enterobacteriaceae* (24,3%) dimana salah satu bakteri golongan tersebut ialah bakteri *Citrobacter spp* (Złoch et al., 2023). Berdasarkan uji resistensi bakteri didapatkan hasil antibiotic yang masih dominan sensitif yaitu antibiotic Meropene sebesar 64%.

Berdasarkan uji genotif dapat diketahui bahwa ampikon A3 ditemukan adanya gen OXA (744 bp), ampikon C3 ditemukan adanya gen OXA (744 bp), ampikon A5 ditemukan adanya gen SHV (471 bp), ampikon C6 ditemukan adanya gen OXA (744 bp), ampikon C10 ditemukan adanya gen SHV (471 bp), dan pada ampikon A13 ditemukan adanya gen OXA + SHV. Hal ini menunjukkan bahwa dari 30 sampel isolat ulkus diabetic yang diperiksa ditemukan gen kelas D β -laktamase (*Oxacillin Hydrolyzing Enzymes*, OXA): Kelas ini mencakup β -laktamase yang termasuk dalam keluarga OXA. Gen OXA dapat ditemukan pada

Enterobacteriaceae dan *Pseudomonas aeruginosa*. terdapat banyak varian OXA, dan beberapa di antaranya, seperti OXA-11 dari *Pseudomonas aeruginosa* dan OXA-23 dari *Acinetobacter baumannii*, dapat menyebabkan resistensi terhadap antibiotik tertentu seperti sefalosporin generasi III dan karbapenem.

Sejalan dengan penelitian ini, berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Shahi et al., 2013) Sebanyak 16 *strain E. coli* berhasil diisolasi dari sampel usap ulkus diabetik 15 (35,71%) pasien. Produksi ESBL tercatat pada 12 (75%) *strain*. Amplifikasi gen β -laktamase dengan PCR multipleks menunjukkan adanya gen mirip blaCTX-M pada 10 *strain*, blaTEM dan blaOXA masing-masing pada 9 *strain*, dan blaSHV pada 8 dari total 16 *strain E. coli*. Dari sepuluh antibiotik yang diuji, *strain E. coli* ditemukan resisten terhadap ampisilin (75%), cefoxitin (56,25%), cefazolin (50%), meropenem (37,5%), cefoperazone (25%), cefepime (31,25%), ceftazidime (56,25%), dan cefotaxime (68,75%) tetapi semuanya menunjukkan sensitivitas (100%) terhadap klindamisin dan piperacillin-tazobactam. Model 3D dari varian β -laktamase yang paling umum yaitu TEM-1, SHV-1, OXA-1, dan ESBL yaitu CTX-M-15 telah diprediksi dan dilakukan docking dengan klindamisin dan piperacillin-tazobactam untuk mengungkap dasar molekuler dari β -laktamase. sensitivitas obat. Sedangkan dari penelitian (Woldeteklie et al., 2022), dari 68 isolat bakteri gram negatif patogen, 27,9% (19/68) merupakan penghasil karbapenemase, sedangkan 73,53% (50/68) merupakan non penghasil karbapenemase. Tingkat penghasil karbapenemase yang tinggi diamati pada *K. pneumoniae* 5/8 (62,5%), diikuti oleh *Serratia* 3/6 (50%), spesies *Acinetobacter* 4/10 (40%), *Pseudomonas spesies* 4/17 (23,5%), *E. coli* 3/ 19 (15,8%), dan sisanya merupakan isolat non-produsen.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, dari 30 isolat ulkus diabetic menggunakan media transport modifikasi Ampas Tahu cukup efektif dan dapat digunakan sebagai media transport sebagai penunjang pemeriksaan bakteri dengan gen ESBL.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan Terimakasih kepada Laboratorium Mikrobiologi dan Molekuler Poltekkes Kemenkes Banten sebagai tempat melakukan pemeriksaan, bagian sub unit PUI-PK Poltekkes Kemenkes Banten sebagai tempat menampung hilisasi produk penelitian dosen, UPT Kelompok Ilmiah Mahasiswa (KIM) yang turut aktif dalam membantu pelaksanaan penelitian serta kepada semua pihak yangterlibat dalam Penelitian ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan pada penelitian ini.

REFRENSI

- Akrami, M., & karga jahromi, Z. (2022). Identification of beta-lactamase genes in Escherichia coli isolated from diabetic foot ulcer by method Machine Translated by Google. *Pars Journal of Medical Sciences*, 16(3), 10-16.
- Darwis, I., Hidayat, H., Wisnu, G. N. P. P., & Mentari, S. (2021). Bacteriological profile and antibiotic susceptibility pattern of diabetic foot infection in a tertiary care hospital in Lampung, Indonesia. *Malaysian Journal of Medical Sciences*, 28(5), 42-53. <https://doi.org/10.21315/mjms2021.28.5.4>
- Datta, P., Chander, J., Gupta, V., Mohi, G. K., & Attri, A. K. (2019). Evaluation of various risk factors associated with multidrug-resistant organisms isolated from diabetic foot ulcer patients. *Journal of Laboratory Physicians*, 11(01), 058-062. https://doi.org/10.4103/jlp.jlp_106_18
- Hamid, S. F., Taha, A. B., & Abdulwahid, M. J. (2020). Distribution of blaTEM, blaSHV, blaCTX-M, blaOXA, and blaDHA in Proteus mirabilis Isolated from Diabetic Foot Infections in Erbil, Iraq. *Cellular and Molecular Biology*, 66(1), 88-94. <https://doi.org/10.14715/cmb/2019.66.1.15>
- Jassim, A. T., Raheema, R. H., & Melek, H. K. (2022). Characterization of multidrug resistant bacteria isolated from patients with diabetic foot ulcers in Wasit province. *Biochem. Cell. Arch*, 22(1), 000-000. <https://connectjournals.com/03896.2022.22.000>
- Mukherjee, P., Mandal, K., & Kumar, A. (2021). *International Journal of Scientific Research in Dental and Medical Sciences The Titbits of Multi-drug Resistant Organisms Reigning in the Diabetic Foot Ulcers : Regional Epidemiology From a Tertiary Care Hospital of Eastern India*. 3, 6-11.
- Perim, M. C., Borges, J. da C., Celeste, S. R. C., Orsolin, E. de F., Mendes, R. R., Mendes, G. O., Ferreira, R. L., Carreiro, S. C., & Da Silva Pranchevicius, M. C. (2015). Aerobic bacterial profile and antibiotic resistance in patients

- with diabetic foot infections. *Revista Da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 48(5), 546-554. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0146-2015>
- Salim, S. E., Sukrama, I. D. M., Fatmawati, N. N. D., & Hendrayana, M. A. (2020). Pola bakteri pada pasien kaki diabetik dan resistensinya terhadap antibiotik di rumah sakit umum pusat sanglah periode 1 januari 2017 - 28 februari 2018. *Jurnal Medika Udayana*, 9(10), 98-104. <https://ojs.unud.ac.id/index.php/eum%0A>
- Shahi, S. K., Singh, V. K., & Kumar, A. (2013). Detection of Escherichia coli and Associated β -Lactamases Genes from Diabetic Foot Ulcers by Multiplex PCR and Molecular Modeling and Docking of SHV-1, TEM-1, and OXA-1 β -Lactamases with Clindamycin and Piperacillin-Tazobactam. *PLoS ONE*, 8(7). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068234>
- Triffit, I., Wiwiek, T., Eddy Bagus, W., & Kuntaman, K. (2018). Prevalensi Dan Pola Gen Extended Spectrum β -Lactamase Bakteri Usus Sapi Perah Dan Penduduk Sekitar Peternakan Di Surabaya. *Jurnal Veteriner*, 19(3), 313-320. <https://doi.org/10.19087/jveteriner.2018.19.313>
- Woldeteklie, A. A., Kebede, H. B., Abdela, A. A., & Woldeamanuel, Y. (2022). Prevalence of Extended-Spectrum β -Lactamase and Carbapenemase Producers of Gram-Negative Bacteria, and Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus in Isolates from Diabetic Foot Ulcer Patients in Ethiopia. *Infection and Drug Resistance*, 15, 4435-4441. <https://doi.org/10.2147/IDR.S371431>
- Yan, X., Song, J. fang, Zhang, L., & Li, X. (2022). Analysis of risk factors for multidrug-resistant organisms in diabetic foot infection. *BMC Endocrine Disorders*, 22(1), 1-7. <https://doi.org/10.1186/s12902-022-00957-0>
- Złoch, M., Maślak, E., Kupczyk, W., & Pomastowski, P. (2023). Multi-Instrumental Analysis Toward Exploring the Diabetic Foot Infection Microbiota. *Current Microbiology*, 80(8), 1-15. <https://doi.org/10.1007/s00284-023-03384-z>
- Zuhair Wahid, H. (2022). First Report Of New Delhi Metallo-Beta-Lactamase (NDM) Producing Citrobacter Braakii Isolated From Diabetic Foot Infection In Iraq. *Medical Science Journal for Advance Research*, 3(4), 209-214. <https://doi.org/10.46966/msjar.v3i4.86>