

Uji Resistensi Antibiotik dan Deteksi Gen Plasmid *IncHI1* *Salmonella typhi* Isolat Jayapura

RINI S. KELANIT^{*1,2}, DIRK Y.P. RUNTUBOI³ DAN TRI GUNAEDI³

¹Laboratorium Klinik, RSUD Jayapura, Papua

²Mahasiswa Pascasarjana Biologi, Universitas Cenderawasih, Jayapura

³Staf Pengajar Pascasarjana Biologi, Universitas Cenderawasih, Jayapura

Diterima: 27 Februari 2016 – Disetujui: 10 April 2016

© 2016 Jurusan Biologi FMIPA Universitas Cenderawasih

ABSTRACT

The research on antibiotic resistance test and detection of gene Plasmid *IncHI1* 1 *Salmonella typhi* isolates of Jayapura have been conducted in January to August 2015. The purpose of this study is to determine antibiotic resistance patterns and detect the presence of *S. typhi* *IncHI1* plasmid genes in Jayapura. The method of study was the laboratory analytic where ninety two samples were culture tested and *S. typhi* identified was tested using disc diffusion method of Kirby Bouer to see any resistance toward 18 antibiotics. Plasmids of *S. typhi* then were extracted using method of Kado-Liu. To ensure the presence of *S. typhi* DNA, the test of flagellin gene detection had been done using Nested PCR followed by gene *Inchi1* *S. typhi* detection. The results showed that among 8 isolates of *S. typhi*, there has been a Multi Drug Resistant (MDR) of 7 samples (87.5%) with varying resistance patterns where the most resistant antibiotics are Amoxicillin 100% (8 isolates), Cefazolin 75% (6 isolates), Ampicillin 75% (6 isolates), Trimethoprim-Sulfamethoxazol 62.5% (5 isolates), Amikacin 62.5% (5 isolates), Gentamicin 50% (4 isolates) and Ampicillin-Sulbactam 50% (4 isolates). The most sensitive antibiotics is Meropenem is 87.5% (7 isolates). PCR test results showed that there were no genes of *IncHI1* *S. typhi* in Jayapura.

Key words: *Salmonella typhi*, gen *IncHI1*, antibiotic resistance, Jayapura.

PENDAHULUAN

Demam tifoid atau *typhoid fever* merupakan salah satu penyakit infeksi yang menjadi masalah serius di dunia. Beberapa daerah di Indonesia seperti Jawa Barat, Jawa Timur, Sulawesi Tenggara, Bali, Papua dan Papua Barat. Penyakit ini tergolong penyakit infeksi dengan angka kejadian termasuk yang tinggi, yaitu antara 358–810/100.000 penduduk/tahun. Demam tifoid disebabkan oleh *Salmonella typhi* yaitu bakteri enterik gram negatif, dan bersifat patogen pada manusia (Nurtjyani, 2007; Cita, 2011).

Laporan hasil riset kesehatan dasar nasional oleh Departemen Kesehatan RI tahun 2007 menunjukkan prevalensi tifoid klinis nasional sebesar 1,6% (rentang: 0,3–3%). Sebanyak 12 provinsi mempunyai prevalensi di atas angka nasional termasuk Provinsi Papua dan Papua Barat. Prevalensi tifoid menurut diagnosis dan gejala klinis di Kabupaten/Kota Provinsi Papua, ditemukan bahwa tingkat prevalensi tifoid di Jayapura sebesar 1,4% dan tertinggi ditemukan di Pegunungan Bintang yaitu 14,3%.

S. typhi merupakan salah satu jenis bakteri dari famili *Enterobacteriaceae*, bentuk batang, gram negatif, panjang 2–3 µm dan diameter 0,4–0,6 µm., tidak berkapsul, tidak berspora, bergerak aktif dengan flagella peritrik (Jawetz, 2008). *S. typhi* tumbuh pada suasana aerob dan anaerob fakultatif pada suhu 15–41 °C (optimum 37,5 °C),

* Alamat korespondensi:

Program Pascasarjana Biologi, Universitas Cenderawasih.
Jl. Sentani, Abepura, Jayapura, Papua. Telp./fax.:
+62967572115. e-mail: diki_runtuboi@yahoo.com

pH pertumbuhan 6–8. Pada umumnya isolat *Salmonella* dikenal dengan sifat-sifat: gerak positif, reaksi fermentasi terhadap manitol sarbitol positif, memberikan hasil negatif pada reaksi indol, *DNase*, *fenilalanin deaminase*, *urease*, *voges proskauer*, reaksi fermentasi pada sukrosa, laktosa, serta tidak tumbuh dalam larutan KCN (Hardjono *et al.*, 2007).

Pemakaian obat antibiotik spektrum luas selama dua dekade terakhir menyebabkan masalah baru yaitu munculnya resistensi antibiotik terutama pada pengobatan yang tidak prosedural dan tidak terkontrol. Kecepatan berkembangnya resistensi pada bakteri telah ditemukan meningkat dimana dilaporkan adanya beberapa penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri termasuk penyebab tifoid, menjadi resisten terhadap satu atau lebih jenis antibiotik. Resistensi kloramfenikol pertama kali dilaporkan terjadi di Amerika Tengah pada awal tahun 1970-an (Haque, 2006; Haque *et al.*, 2005). Kasus *Multi Drug Resistance* (MDR) *S. typhi* pertama kali dilaporkan terjadi di Kasmir India pada tahun 1988 dan meningkat secara tajam di daerah epidemi meliputi China, Asia Tenggara dan India (Thalhein, 2010).

Plasmid adalah molekul DNA sirkuler berukuran relatif kecil di luar kromosom yang terdapat di dalam sel prokariot, khususnya bakteri (Indradewi, 2007). Gen-gen yang terdapat di dalam plasmid pada umumnya tidak esensial bagi pertumbuhan dan kelangsungan hidup bakteri, tetapi plasmid sering kali menyandi sintesis protein untuk resistensi terhadap antibiotik (Sitasiwi *et al.*, 2015). Dalam rekayasa genetika, plasmid sering digunakan sebagai vektor untuk membawa gen-gen tertentu yang diinginkan ke dalam suatu sel inang. Gen-gen tersebut selanjutnya akan mengekspresikan produk komersial tertentu seperti insulin, interferon, dan berbagai enzim.

Gen incompatibility group H (IncHI1) merupakan salah satu dari gen yang terdapat pada plasmid *S. typhi* dan menyandi terjadinya multi resisten terhadap antibiotik. *Gen IncHI1* pertama kali diidentifikasi pada tahun 1970-an. *S. typhi* yang multi resisten mengandung gugus H yang

tidak cocok (*IncHI1*) dan mengakibatkan epidemi demam tifoid di seluruh Meksiko, India, Vietnam dan Thailand. Dilaporkan juga bahwa berhasil diisolasi strain *S. typhi* yang resisten terhadap sembilan jenis antibiotik dari wisatawan yang kembali ke Ontario Kanada. Resistensi ini dikodekan oleh adanya gen *IncHI1* plasmid *S. typhi*. Gen plasmid *IncHI1* mengandung 180–470 bp yang sesuai dengan 210 ORFs dan disusun oleh 186 ATG, empat TTG dan 20 GTG *start kodon* (Hatta, 2005; Phan, 2009).

Penentuan kerentanan patogen bakteri terhadap antibiotik dapat dilakukan menggunakan dua metoda utama yaitu secara dilusi dan difusi sesuai dengan standar *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)*. Metode yang paling luas digunakan adalah uji difusi cakram (*disc diffusion*). Prosedur diagnostik konvensional tersebut membutuhkan waktu paling sedikit 1 minggu. Selain teknik konvensional, beberapa teknik di bidang biologi molekuler telah dikembangkan untuk melacak adanya urutan DNA spesifik dari mikroorganisme tertentu yang memungkinkan dipakai sebagai sarana diagnostik. Teknik tersebut lazimnya disebut dengan *Polymerase Chain Reaction (PCR)*. Saat ini PCR banyak dipakai sebagai sarana diagnostik dan skrining pada penderita penyakit infeksi (Hatta, 2005).

Penelitian Hielda (2009) tentang analisis gen *catP* yang menyandi resistensi terhadap Kloramfenikol pada *S. typhi* isolat Jayapura diperoleh hasil bahwa dari 67 sampel yang diperiksa, jumlah penderita yang positif *S. typhi* berdasarkan uji kultur hanya 1 orang (1,5%) dan negatif 66 (98,5%). Berdasarkan uji PCR, sampel yang positif *S. typhi* sebanyak 25 sampel (37,3%) dan negatif 42 sampel (62,7%). Berdasarkan hasil amplifikasi gen *catP* dengan teknik PCR, ditemukan sebanyak 6 isolat (24%) positif terdapat gen *catP*.

Jayapura merupakan salah satu daerah dengan prevalensi demam tifoid yang cukup tinggi, hampir semua rumah sakit melakukan uji serologis Widal dalam menegakkan diagnosa demam tifoid. Uji Widal memberikan informasi yang tidak kuat oleh karena *S. typhi* mempunyai

antigen O dan antigen H yang sama dengan *Salmonella* lain, maka kenaikan titer antibodi dalam populasi daerah endemis yang secara konstan dapat terjadi pada orang yang tidak sedang menderita demam tifoid. Selain itu reaksi silang dapat terjadi apabila antibodi yang dihasilkan dari antigen non-tifoid bereaksi dengan antigen *S. typhi*, yaitu malaria, dengue, *tuberculosis miler*, endokarditis, penyakit hati kronik, brucellosis dan infeksi lain karena *Enterobacteriaceae*. Diagnosa yang tidak tepat menyebabkan pengobatan dengan antibiotik menjadi tidak tepat sasaran dan pada akhirnya menyebabkan masalah baru yaitu munculnya resistensi antibiotik. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui resistensi *S. typhi* terhadap antibiotik dan mendeteksi keberadaan gen plasmid *IncH11 S. typhi* di Jayapura.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Jenis penelitian ini adalah Analitik Laboratory dengan memakai uji diagnostik untuk mengevaluasi hasil tes yaitu melakukan uji resistensi antibiotik dan mendeteksi keberadaan gen plasmid *IncH11 S. typhi* Isolat Jayapura. Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari sampai Agustus 2015. Sampel dikumpulkan dari pasien yang berkunjung ke Rumah Sakit (RS) Umum Daerah Jayapura, RS. Angkatan Laut Dr. Soedibjo Sardadi, Jayapura dan RS. Bhayangkara Jayapura. Pengujian laboratorium dilaksanakan di Laboratorium Klinik bagian Mikrobiologi RSUD Jayapura serta Laboratorium Imunologi dan Biologi Molekuler bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanudin, Makassar.

Isolasi dan identifikasi *S. typhi*

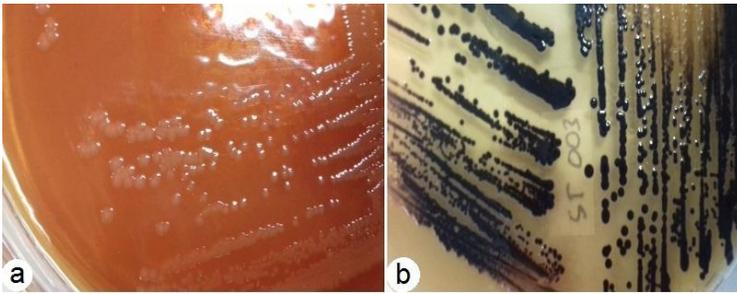
Isolasi dan Identifikasi *S. typhi* dimulai dari pengambilan sampel darah pasien suspek demam tifoid yang berkunjung ke RS untuk dilakukan uji widal. Uji Widal dijadikan sebagai uji skrining yang memperkuat gejala klinis demam tifoid untuk dilakukan uji *Lateral flow*. Sampel yang telah menunjukkan hasil uji widal positif (titer antibodi

$O \geq 1/320$ dilanjutkan dengan uji *lateral flow*. Pada penelitian ini digunakan uji Lateral Flow antigen LPS isolat dari strain Makassar dan dijadikan sebagai pembanding yang menguatkan hasil uji widal. Hal ini berdasarkan penelitian Rini Amra pada Agustus 2009 yang melakukan uji *lateral flow* menggunakan antigen LPS isolat Makassar terhadap serum pasien di Jayapura dan diperoleh hasil sensitifitas dan spesifisitas sebesar 100 % dan 92 %.

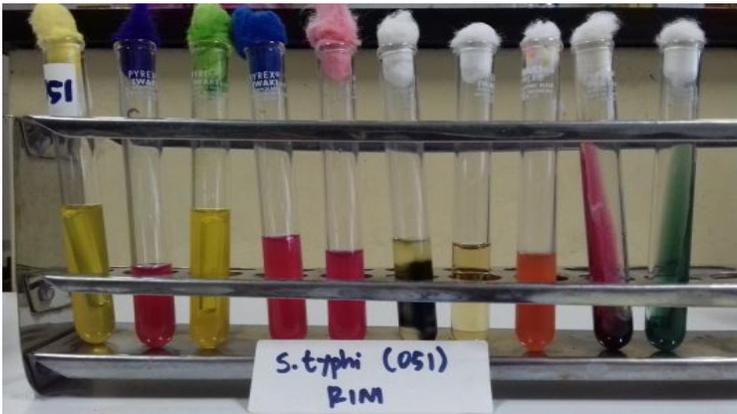
Sampel darah dari penderita yang pada uji *Lateral Flow* memberikan hasil positif diambil sebanyak 5-7 ml untuk dewasa dan 1-3 ml untuk anak-anak dan dimasukkan dalam medium *bacT/alert plus aerobic/F*. Diinkubasi pada alat pada temperatur 37 °C selama maksimal 5 hari hingga terdapat tanda adanya pertumbuhan. Sampel darah yang telah dinyatakan positif alat *BacT/alert* diisolasi pada media *Mac Conkey Agar* (MCA) dan *Salmonella Shigella Agar* (SSA) dan diinkubasi suhu 37 °C selama 24 jam. Koloni yang tumbuh pada medium MCA dan SSA diamati pertumbuhannya. Koloni *S. typhi* pada medium MCA berbentuk bulat (*circular*), tepi rata (*entire*), permukaan koloni cembung (*convex*) dengan warna koloni tampak bening dan koloni pada SSA berbentuk bulat (*circular*), tepi rata (*entire*), permukaan koloni cembung (*convex*) dengan warna koloni tampak bening dan bagian tengahnya hitam. Koloni yang dicurigai sebagai *S. typhi* kemudian diidentifikasi dan dilakukan pengujian secara biokimia yaitu pengujian pada medium *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), *Sulfit Indol Motility* (SIM), *Methyl Red-Voges Proskauer* (MR-VP), uji urease, uji sitrat dan uji fermentasi gula-gula. Hasil uji kultur konvensional kemudian dikonfirmasi dengan uji kultur metoda semi otomatis menggunakan alat *Vitek 2 Compact*.

Uji Resistensi Antibiotika Metoda Kirby Bouer

Suspensi bakteri dibuat dengan cara mengambil 3-5 koloni *S. typhi* dan dimasukkan ke dalam NaCl 0,96 % steril. Kekeruhan diukur menggunakan *densitochek* dengan standart *Mac Farland* 0,5. Suspensi kemudian diambil menggunakan cara lidi kapas steril yang dicelupkan pada tabung dan dilakukan swab



Gambar 1. Koloni *S. typhi*. (a) pada MCA, dan (b). pada media SSA.



Gambar 2. Hasil uji biokimia *S.typhi*.

secara merata pada media *Mueller Hinton Agar*. Dibiarkan selama 10 menit agar bakteri menempel pada permukaan media. Masing-masing disk sebanyak 18 jenis antibiotika diambil kemudian diletakkan pada media *Mueller Hinton Agar* yang telah diinokulasikan *S. typhi*. Diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam.

Isolasi DNA Plasmid Metode Kado dan Liu.

Kultur *S. typhi* berumur 1 hari dalam BHI Broth sebanyak 1.5 ml di sentrifugasi 4000 RPM selama 20 menit dan ditambahkan 100µl larutan 1 (Tris HCl pH 7.5-8; 10 mM EDTA; 50mM Glukosa) campur dengan cara divortex, kemudian didiamkan selama 5 menit. Ditambahkan 200 µl larutan 2 (0,2 N NaOH; 1% *Sodium Dedosil Sulfat*) dan campur. Ditambahkan 150 µl larutan 3 (*Kalium Acetat* 3% pH 4,8) vortex selama 10 detik. Tabung dibenamkan dalam es selama 5 menit lalu disentrifus. Supernatan dipindahkan ke dalam tabung ependorf baru, ditambahkan campuran phenol dan kloroform (1:1) sejumlah volume yang

sama dengan supernatant yang didapat campur dengan vortex. Disentrifus selama 2 menit. Fasa air (fasa atas) dipindahkan dengan hati-hati ke dalam tabung ependorf baru, disentrifus lagi selama 2 menit, lalu dipindahkan lagi fasa air yang masih tampak ke dalam tabung ependorf baru yang lain. Ditambahkan 1 ml ethanol pa, divortex benamkan lagi dalam es selama 5 menit. Disentrifuge selama 20 menit, kemudian buang supernatan. Ditambahkan kembali 1 ml ethanol pa, campur dengan jalan membalik-balikkan tabung beberapa kali. Disentrifuge selama 20 menit dengan posisi dengan posisi orientasi (yaitu arah dan kedudukan tabung dalam alat *centrifuge*) sama dengan sentrifuge tahap 10. Supernatant dibuang dan dikeringkan dalam oven 50 °C Resuspensi plasmid dalam 50 µl TE (10 mM Tris pH7.4 atau 0.1211 g%; 1 mM EDTA pH 8 0.0372 g%).

Ekstraksi DNA *S. typhi* metode Boom (Hatta, 2011)

Suspensi *S. typhi* dalam BHI broth disentrifus dan supernatant dibuang. Ditambahkan 1 ml larutan L6 dan dibiarkan selama 1 jam. Ditambahkan 20 µl suspensi diatom kemudian dilakukan "vortex" dan disentrifus dengan kecepatan 13.000 rpm selama 15 detik. Supernatan dibuang dan sedimen di cuci dengan cara menambahkan 1ml larutan L2. Selanjutnya divortex dan disentrifugasi dengan kecepatan 13.000 rpm selama 15 detik. Pencucian diulangi sebanyak 2 kali dengan menggunakan larutan L2 (*buffer washing*). Untuk menghilangkan kadar air, melakukan pencucian dengan 500 µl etanol 70% sebanyak 2 kali dan 1 kali dengan 500 µl aseton. Mengeringkan sedimen dengan cara memasukan tabung berisi sedimen ke dalam *heater* pada suhu 56°C selama 10 menit. Menambahkan 50 µl larutan "TE" dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 56°C. Melakukan sentrifus selama 2 menit pada kecepatan 13.000 rpm dan diambil supernatannya. Supernatan berupa hasil ekstraksi nukleotida disimpan pada suhu -80°C sebelum dilakukan analisis PCR.

Tabel 1. Resistensi *S. typhi* isolat Jayapura terhadap 18 jenis antibiotik.

No	Antibiotik	Resisten		Sensitif	
		Jumlah	Persen	Jumlah	Persen
1.	Amoksisilin	8	100	0	0
2.	Ampisilin	6	75	2	25
3.	Ampisillin-Sulbatam	4	50	4	50
4.	Piperasillin-tazobactam	2	25	6	75
5.	Cefazolin	6	75	2	25
6.	Cefmetazol	2	25	6	75
7.	Cefotaksim	3	37,5	5	62,5
8.	Ceftazidim	2	25	6	75
9.	Ceftriakson	2	25	6	75
10.	Cefepime	3	37,5	5	62,5
11.	Aztreonam	3	37,5	5	62,5
12.	Meropenem	1	12,5	7	87,5
13.	Amikasin	5	62,5	3	37,5
14.	Gentamisin	4	50	4	50
15.	Siprofloksasin	3	37,5	5	62,5
16.	Levofloksasin	3	37,5	5	62,5
17.	Trimethoprim-Sulfametoksazol	5	62,5	3	37,5
18.	Kloramfeniko	2	25	6	75

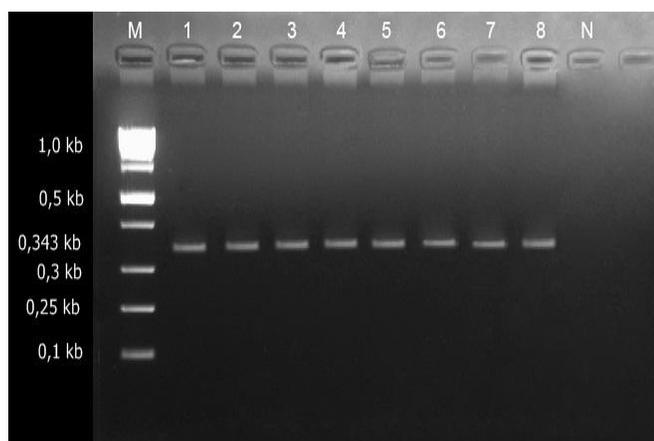
hanya saja primer untuk amplifikasi kedua ini adalah ST3 dan ST4. Melakukan amplifikasi kedua menggunakan mesin PCR sebanyak 29 siklus. Denaturasi awal dilakukan selama 3 menit pada suhu 94 °C kemudian setiap siklus terdiri dari denaturasi pada suhu 94 °C selama 1 menit, annealing pada suhu 68 °C selama 1 menit 15 detik dan poli-merisasi pada suhu 72 °C selama 3 menit. Pada terminasi atau elongasi akhir dan pendinginan pada suhu 16 °C. Melakukan elektroforesis dengan cara 9 µl produk amplifikasi dicampur dengan 1 µl larutan loading 10X. Setelah tercampur dengan baik masing-masing dimasukkan ke dalam sumur gel agarosa 2 % yang terendam dalam tangki berisi buffer TBE. Selanjutnya, elektroforesis dijalankan selama 1 jam dengan tegangan konstan 100 volt. Setelah 1 jam, elektroforesis dihentikan dengan gel diangkat untuk diamati di bawah sinar UV. Hasil positif jika terdapat pita DNA dan negatif jika tidak terdapat pita DNA pada gel.

Deteksi gen Flagellin *S. typhi* Metoda Nested PCR

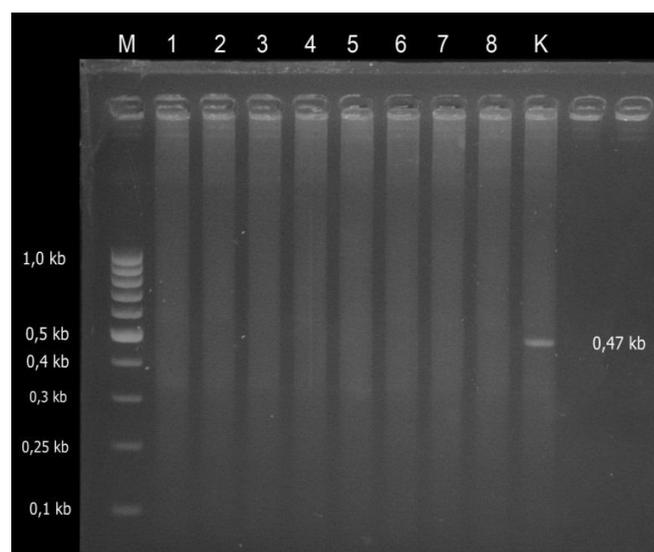
Untuk memastikan bahwa bakteri yang telah diidentifikasi adalah benar-benar *S. typhi*, dilakukan uji Nested PCR untuk mendeteksi gen *Flagellin S. typhi*. Pengujian dilakukan dengan cara menambahkan pada 2 µl ekstrak DNA, sebanyak 25 µl PCR mix ke dalam tabung PCR. Melakukan Amplifikasi menggunakan mesin PCR sebanyak 29 siklus. Denaturasi awal dilakukan selama 3 menit pada suhu 94 °C kemudian setiap siklus terdiri dari denaturasi pada suhu 94 °C selama 15 detik, annealing pada suhu 57°C selama 1 menit 15 detik dan polimerisasi pada suhu 72°C selama 3 menit. Pada terminasi atau elongasi akhir dan pendinginan pada suhu pada suhu 16 °C. Menambahkan campuran reaksi PCR kedua pada 5 µl produk amplifikasi pertama kemudian dicampur. Campuran reaksi kedua ini hampir sama dengan campuran reaksi PCR pertama,

Deteksi Gen *IncH1 S. typhi* Metoda PCR

Memasukan sebanyak 2,5 µl ekstrak DNA sampel ke dalam tabung PCR yang telah berisi 22,5 µl PCR mix sehingga volume dalam tabung PCR menjadi 25 µl. Komposisi dari PCR mix adalah: 2,5 µl 10x buffer (10 mM Tris HCl (pH 8,3), 50 mM KCl, 1,5 mM MgCl₂, 0,01% gelatin), 1 µl primer *IncH1 forward* : (5'-TCGTGGTATTC ACTCCAGAGCG-3'), 1 µl primer *IncH1 reverse*: (5'-TCCCAATGGCATCGTAAAG AAC-3'), 0,5 µl *Taq* DNA polymerase, 2,5 µl dNTP, 15 µl aquabides (ddH₂O). Melakukan amplifikasi pada mesin PCR sebanyak 30 siklus dengan denaturasi awal pada suhu 94°C selama 3 menit kemudian setiap siklus terdiri dari denaturasi pada suhu 94 °C selama 30 detik. *Annealing* pada suhu 58 °C selama 30 detik, *extension* pada suhu 72 °C selama 30 detik.



Gambar 2. Hasil elektroforesis gen *Flagellin S. typhi* pada 0,343 kb



Gambar 3. Hasil elektroforesis gen *IncHI1 S. typhi* pada 0,47 kb.

Elektroforesis DNA Plasmid

Hasil isolasi plasmid kemudian dilakukan elektroforesis dalam agarose 2 % dengan melarutkan dalam buffer TAE 1x. Membuat agarose 2 % dengan cara melarutkan 2 g agarose dalam 100 ml buffer TAE kemudian dipanaskan dalam air suhu 60 °C dan dicampur hingga jernih, lalu ditambahkan *etidium bromida*, dan dicampur hingga homogen. Menuang campuran ke dalam cetakan lempeng agar dan letakkan sisir khusus untuk membentuk sumur-sumur kecil sebagai tempat untuk meletakkan DNA plasmid hasil isolasi yang akan diteliti. Setelah agar menjadi padat, sisir

diangkat. Menambahkan 2 µl *buffer loading* ke dalam 8 µl sampel DNA plasmid (5 kali pengenceran). Meletakkan lempeng agarose ke dalam bak elektroforesis, sehingga deretan lempeng sumur terletak pada kutub katoda bak elektroforesis. Mengisi buffer TAE ke dalam bak elektroforesis sampai seluruh lempeng agarose terendam, dengan tinggi permukaan larutan buffer TAE di dalam bak 3–4 milimeter di atas agar. Memasukkan larutan DNA plasmid yang telah dicampur dengan *loading buffer* ke dalam sumur-sumur kecil yang saling terpisah pada lempeng agarose sebanyak 10 µl setiap sumur. Menghidupkan power supply pada tegangan 100 Volt selama 30 menit, bila proses elektroforesis selesai, lempeng agarose diangkat dari bak elektroforesis dan dibaca di bawah penerangan lampu UV transluminator (*gel doc*). Gambaran pita DNA plasmid akan tampak berflouresensi, warna merah muda dengan latar belakang ungu. Gambaran pita-pita DNA ini diamati dan dilakukan pemotretan untuk keperluan dokumentasi penelitian. Hasil elektroforesis berupa gambaran pita yang dilaporkan dalam satuan kb.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sebanyak 92 sampel yang positif pada uji widal, ditemukan delapan (8) isolat Jayapura. Morfologi koloni *S. typhi* pada media MCA berwarna bening dengan permukaan cembung dan tepinya halus. Koloni *S. typhi* pada media SSA berwarna bening kehitaman, permukaan cembung dan tepi halus (Gambar 1). Hasil uji *disc diffusion* Metoda *Kirby Bauer* menunjukkan bahwa telah terjadi resistensi terhadap antibiotik. Dari 8 isolat yang diperiksa, terdapat 1 isolat (12,5%) yang resisten terhadap satu jenis antibiotik dan ditemukan 7 isolat (87,5%) yang resisten terhadap lebih dari satu jenis antibiotik atau MDR serta tidak ditemukan isolat *S. typhi* yang sensitif terhadap 18 jenis antibiotik. Hasil uji *nested PCR* menunjukkan adanya DNA *S. typhi* yang ditandai dengan adanya band pita 343 bp pada 8 isolat (Gambar 2).

Tabel 2. Hasil uji kultur, uji resistensi antibiotik dan uji PCR.

No	Kode Sampel	Umur	Sex	Uji kultur	Uji Disc Diffusion	DNA <i>S. typhi</i> (Uji Nested)	Gen <i>IncHI1</i>
1.	ST 003	11 th	P	positif	MDR	positif	Negatif
2.	ST 005	32 th	P	positif	MDR	positif	Negatif
3.	ST 019	21 th	L	positif	MDR	positif	Negatif
4.	ST 023	19 th	L	positif	MDR	positif	Negatif
5.	ST 041	9 th	L	positif	SR	positif	Negatif
6.	ST 050	20 th	P	positif	MDR	positif	Negatif
7.	ST 061	45 th	L	positif	MDR	positif	Negatif
8.	ST 089	9 th	L	positif	MDR	positif	Negatif

Ket.: SR= Sensitif Resisten (resisten terhadap satu jenis antibiotik)
MDR= Resisten terhadap lebih dari satu jenis antibiotik

Hasil uji resistensi *S. typhi* terhadap 18 jenis antibiotik menunjukkan bahwa terjadi *multi drug resisten* (MDR). Terdapat 1 isolat (12,5%) yang resisten terhadap hanya satu jenis antibiotik, dan 7 isolat (87,5%) yang resisten terhadap lebih dari satu jenis antibiotik. Hal ini sesuai dengan laporan Musnelina *et al.* (2004) bahwa para klinisi di beberapa negara mengamati adanya kasus demam tifoid yang berat disebabkan strain *S. typhi* yang telah resisten terhadap antibiotik.

Dalam penelitian ini *S. typhi* telah resisten terhadap amoksisilin (100%), Cefazolin (75%), Ampisilin (75%), Amikasin (62,5%), Trimetho prim-sulmetoksazol (62,5%), Gentamisin (50%), dan Ampisillin-Sulbatam (50%). Antibiotik yang sensitif adalah Meropenem (87,5%), Kloramfenikol (75%), Ceftazidim (75%), Ceftriakson (75%), Cefmetazol (75%), Cefotaksim (62,5%), Cefepime (62,5%), Aztreonam (62,5%), Siprofloksasin (62,5%), Levofloksasin (62,5%).

Antibiotik yang paling resisten terhadap *S. typhi* adalah Amoksisilin yaitu 100% dan antibiotik yang paling sensitif adalah Meropenem yaitu (87,5%). Hasil pengujian ini mungkin berbeda dengan daerah lain sesuai dengan penelitian Widodo (2007) yang mengatakan bahwa pola resistensi *S. typhi* terhadap antibiotik yang sama

pada setiap daerah dapat bervariasi karena masing-masing daerah mempunyai pola kepekaan yang berbeda dan bervariasi pada waktu dan tempat yang berbeda.

Pada penelitian ini, antibiotik yang paling sensitif adalah meropenem yaitu 87,5%. Hal ini bahwa Meropenem merupakan antibiotik yang paling efektif dipakai untuk pengobatan demam tifoid di Jayapura. Penelitian ini sejalan dengan CLSI 2014 yang merekomendasikan penggunaan Meropenem untuk infeksi *Enterobacteriaceae*.

Meropenem adalah antibiotik golongan Karbapenem dengan aktivitas spektrum luas yang digunakan secara parenteral, stabil terhadap bakteri *dehydropeptidase-1*, sehingga tidak diperlukan penambahan inhibitor *dehydropeptidase-1*. Meropenem memiliki efek bakterisida terhadap bakteri aerob dan anaerob. Meropenem mudah menembus dinding sel bakteri, memiliki stabilitas yang tinggi terhadap semua jenis *beta-laktamase* dan juga afinitasnya sangat baik terhadap *Penicillin Binding Proteins* (PBPs) (Nurmala *et al.*, 2015).

Hasil penelitian menunjukkan tidak ditemukan gen *IncHI1* pada *S. typhi* isolat Jayapura karena tidak ditemukan adanya fragmen DNA pada posisi 0,47 kb. Hasil penelitian ini

mirip dengan Riskayari *et al.* (2012) yaitu mendeteksi keberadaan plasmid *IncHI1* multi-lokus pada *S. typhi* yang resisten terhadap obat tifoid di Makassar yang mana hasil amplifikasi *multipleks PCR* menunjukkan bahwa dari DNA *S. typhi* sebanyak 36 isolat Makassar tidak ditemukan adanya plasmid *IncHI1*.

Gen-gen lain pada *S. typhi* yang dapat menyandi resistensi antibiotik adalah gen *catP* yang bertanggung jawab terhadap resistensi Kloramfenikol, gen *tem* yang menyandi resistensi terhadap ampicilin, gen resisten *sul2* yang menyandi terjadinya resistensi pada sulfametoksazol gen resisten *tet* yang menyandi terjadinya resistensi tetrasiklin (Anggeraini, 2013).

KESIMPULAN

Hasil penelitian disimpulkan bahwa ditemukan *S. typhi* yang *Multi Drug Resistance* terhadap 18 jenis antibiotik di Jayapura. *S. typhi* Jayapura sebanyak 8 isolat resisten terhadap antibiotik Amoksisilin 100% (8 isolat), Cefazolin 75% (6 isolat), Ampisilin 75% (6 isolat), Trimetoprim-Sulfametoksazol 62,5% (5 isolat), Amikasin 62,5% (5 isolat), Gentamisin 50% (4 isolat), dan Ampisilin-Sulbactam 50% (4 isolat). Antibiotik yang paling sensitif adalah Meropenem yaitu 87,5% (7 isolat). Tidak terdapat gen *IncHI1* pada 8 isolat Jayapura karena hasil elektroforesis menunjukkan tidak ditemukan adanya pita pada 0,47 kb. Hal ini dapat terjadi karena adanya beberapa jenis gen lain yang dapat menyandi resistensi antibiotik misalnya gen *catP* yang menyandi resistensi Kloramfenikol, gen *tem* yang menyandi resistensi terhadap ampicilin, dan gen resisten *sul2* yang menyandi resistensi terhadap sulfametoksazol sehingga yang menyandi multi resistensi antibiotik pada *S. typhi* di Jayapura bukan gen *IncHI1*.

DAFTAR PUSTAKA

- Amra, R. 2009. *Deteksi antibodi IgM terhadap lipopolisakarida Salmonella typhi isolat Makassar dengan teknik lateral flow pada penderita demam tifoid di Jayapura*, Makassar.
- Anggeraini, A.S. 2013. *Analisis mutasi gen CATp pada bakteri Salmonella typhi yang resisten terhadap kloramfenikol*. [Tesis]. Universitas Hasanudin, Makassar.
- Cita, Y.P. 2011. *Bakteri Salmonella typhi dan demam tifoid*. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. 6(1): 42-46.
- Haque, A. 2006. *catP gene. Sequencing of catP gene. Personal Communication*.
- Haque, A., A. Haque, Y. Sarwar, A. Ali, S. Bashir, A. Tariq and M. Mohsin. 2005. *Identifikasi of drug resistance genes in clinical isolate of Salmonella typhi for development of diagnostic multiplex PCR*. *Pak J. Med. Sci.* 21(4): 402-407.
- Hardjono, T. Esa, dan Nurhayana. 2007. *Kumpulan penyakit infeksi dan tes kultur sensitivitas kuman serta upaya pengendaliannya*. Cahya Dinar Rucitra. Makassar.
- Hatta, M. 2005. *Pendekatan biologi molekuler dan imunologi di bidang penyakit infeksi dalam era globalisasi dan peluang bagi ilmuwan Indonesia*. Suplement. Bagian Ilmu Mikrobiologi FK, Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Hatta, M., and H.L. Smits. 2007. *Detection of Salmonella typhi by nested polymerase chain reaction in blood, urine, and stool samples*. *J Trop Med Hyg.* 76(1): 139-143.
- Hielda, 2009. *Analisis gen catP yang menyandi resistensi terhadap kloramfenikol pada Salmonella typhi isolat Jayapura dengan teknik PCR*. Makassar.
- Inradewi A, F. 2007. *Deteksi DNA plasmid pada Lactobacillus sp dengan metode elektroforesis gel agarosa*. *Warta Wiptek.* 14(2): 67-69.
- Irma, S., and A. Juniarti. 2010. *Sensitivitas Salmonella typhi terhadap kloramfenikol dan seftriakson di RSUD Dr. Soetomo Surabaya dan di RSUD Dr. Saiful Anwar Malang tahun 2008-2009*. Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah.
- Mulyana, Y. 2008. *Sensitivitas Salmonella Sp. penyebab demam tifoid terhadap beberapa antibiotik di Rumah Sakit Imanuel Bandung*. [Makalah]. Bagian Mikrobiologi FK Universitas Padjajaran, Bandung.
- Musnelina, L., A.E. Afdhal, dan A. Gani. 2004. *Pola pemberian antibiotika pengobatan demam tifoid anak di Rumah Sakit Fatmawati Jakarta tahun 2001-2002*. *Makara Kesehatan.* 8(1): 27-31.
- Nurmala, I.G.N. Virgiandhy, Andriani, dan D.F. Liana. 2015. *Resistensi dan sensitivitas bakteri terhadap antibiotik di RSU dr. Soedarso Pontianak tahun 2011-2013*. *JKI.* 3(1): 21-28.
- Nurtjahyani, D. 2007. *Studi biologi molekuler resistensi Salmonella typhi terhadap cloramfenikol*. Post Graduate. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Phan, M.-D. 2009. *Analysis of IncHI1 plasmids in Salmonella enterica serovar Typhi*. Dissertation Ph.D. Darwin College. University of Cambridge.
- Riskayati, M. Hatta, R. Agus. 2012. *Detection of the presence of Inchi 1 Plasmid Multilocus in Salmonella typhi against drug-resistant typhoid in Makassar*. *Pascasarjana.* 23(1): 33-39.
- Sitasiwi, A.J., W.T. Artama, A. Budiyanto, dan E. Dharmana. 2015. *Kloning gen wingless-type MMTV integration site family member 4 (Wnt4) mencit Swiss Webster untuk penyediaan antigen baru dalam imunokontrasepsi*. *Prosiding Seminar Ilmiah PBBMI*. UGM (Yogyakarta), 7 Maret 2015, Hal.: 11-23.
- Thalheim, T., A. Vollmer, R.-U. Ebert, R. Kühne and G. Schüürmann. 2010. *Tautomer identification and*

- tautomer structure generation based on the InChI code. *J. Chem. Inf. Model.* 50(7): 1223-1232.
- Wain, J., L.T.D. Nga, C. Kidgell, K. James, S. Fortune, T.S. Diep, T. Ali, P.Ó Gaora, C. Parry, J. Parkhill, J. Farrar, N.J. White, and G. Dougan. 2003. Molecular analysis of incHI1 antimicrobial resistance plasmids from *Salmonella* serovar typhi strains associated with typhoid fever. *Antimicrob Agents Chemother.* 47(9): 2732-2739.
- Widodo, D. 2007. *Demam tifoid: Ilmu penyakit dalam*. Edisi IV. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. pp: 1752-175.
- Musnelina, L., A.F. Afdhal, A. Gani, dan P. Andayani. 2004. Analisis efektivitas biaya pengobatan demam tifoid anak menggunakan kloramfenikol dan seftriakson di Rumah Sakit Fatmawati Jakarta tahun 2001-2002. *Makara Kesehatan.* 8(2): 59-64.