

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang**

Penyakit infeksi merupakan masalah kesehatan masyarakat utama bagi negara berkembang seperti di Indonesia. Salah satu penyakit infeksi yang sering ditemui di Indonesia yaitu infeksi pada saluran pernafasan atau yang disebut dengan pneumonia. Pneumonia merupakan suatu infeksi yang terjadi pada parenkim paru, alveoli akan berisi nanah dan cairan, yang menyebabkan nyeri saat bernafas dan membatasi asupan oksigen yang disertai keluhan batuk dan sesak nafas. Penyakit ini biasanya dapat disebabkan oleh agen infeksius seperti bakteri, virus, jamur dan aspirasi substansi asing (Zahra dan Rosfadilla, 2025).

Pneumonia merupakan penyebab kematian terbesar pada anak-anak di seluruh dunia. Sebagian besar kematian yang terjadi pada anak berusia dibawah lima tahun mencapai angka 153.000 kematian yang terjadi pada bulan pertama kehidupan. Angka kematian akibat penyakit ini lebih tinggi dibandingkan penyakit lainnya seperti diare (UNICEF, 2019). Di Indonesia, menurut data profil kesehatan Indonesia, penyebab kematian terbanyak pada balita kelompok usia 12 - 59 bulan adalah pneumonia sebesar 12,5% dan tahun 2023 angka kematian akibat pneumonia pada balita sebesar 0,13% (Manik, Kaunang dan Mantjoro, 2025). Menurut satu data Indonesia Provinsi Bali, jumlah kasus penyakit pneumonia di Provinsi Bali tercatat sebanyak 5.994 kasus dengan angka prevalensi tertinggi di daerah Kabupaten Karangasem.

Penyakit pneumonia dapat disebabkan oleh bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang dibagi menjadi pneumonia yang didapat dari komunitas atau pneumonia yang didapat dari rumah sakit (Dawson and Adam, 2023). *Klebsiella pneumoniae*

merupakan bakteri gram negatif, *Klebsiella pneumoniae* berbentuk batang pendek yang memiliki ukuran 0,5 - 0,5 x 1,2  $\mu$ . Bakteri ini memiliki kapsul tetapi tidak membentuk spora. *Klebsiella pneumoniae* tidak mampu bergerak karena tidak memiliki flagel tetapi mampu memfermentasikan karbohidrat membentuk asam dan gas. *Klebsiella pneumoniae* digambarkan sebagai agen *Friedlander's pneumoniae*, yaitu radang paru-paru berat dari pneumonia lobar dengan angka kematian yang tinggi. *Klebsiella pneumoniae* masih menjadi salah satu penyebab utama pneumonia komunitas di beberapa negara (Tarina dan Kusuma, 2020).

Beberapa jenis *Klebsiella pneumoniae* dapat diobati dengan antibiotik, khususnya antibiotik yang mengandung cincin beta-laktam. Antibiotik tersebut, di antaranya adalah meropenem, kloramfenikol, siprofloksasin, dan ampisilin (Tarina dan Kusuma, 2020), namun, saat ini bakteri ini telah resisten terhadap beberapa antibiotik seperti penisilin, sefalosporin generasi 1, 2 dan 3, dan *sertaaztreonam*. Kondisi tersebut dikaitkan dengan meningkatnya angka kejadian resistensi oleh bakteri *Klebsiella pneumoniae*. Bakteri *Klebsiella pneumoniae* mampu menghasilkan enzim  $\beta$  laktamase sehingga dapat menonaktifkan antibiotik betalaktam dengan cara menghidrolisis atau memecah cincin betalaktam. Adanya pemecahan cincin betalaktam sehingga antibiotik tidak dapat berikatan dengan reseptor pada bakteri. Enzim  $\beta$  laktamase ini paling banyak diproduksi oleh bakteri terutama dari kelompok *Enterobacteriaceae* seperti *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumoniae* (Latifpour, Gholipour and Damavandi, 2016).

Enzim yang dianggap sebagai salah satu penyebab utama resistensi antibiotik adalah enzim *extended-spectrum  $\beta$ -lactamase* (ESBL). ESBL merupakan enzim  $\beta$ -laktamase yang dapat menyebabkan bakteri resisten terhadap beberapa antibiotik

penisilin, sefalosporin generasi 1, 2 dan 3, dan *sertaaztreonam*. Kemampuan ESBL memecah antibiotik betalaktam secara luas disebabkan adanya mutasi pada gen *Sulphydryl Variable* (SHV) (Latifpour, Gholipour and Damavandi, 2016).

Munculnya gen blaSHV (*beta lactamase Sulphydryl Variable*) sebagai penentu utama pembentukan enzim ESBL semakin mempersulit upaya pengobatan infeksi *Klebsiella pneumoniae*. Gen blaSHV sering ditemukan pada plasmid, sehingga sangat mudah menular dari satu bakteri ke bakteri lain melalui transfer horizontal. Hal ini mempercepat penyebaran resistensi, terutama di rumah sakit dengan tingkat penggunaan antibiotik yang tinggi. Penyebaran gen blaSHV tidak hanya menyebabkan peningkatan kegagalan pengobatan tetapi juga membebani fasilitas pelayanan kesehatan, memperpanjang lama rawat inap pasien, dan meningkatkan risiko kematian (Latifpour, Gholipour and Damavandi, 2016).

Dalam proses identifikasi bakteri penghasil ESBL, desain primer yang spesifik sangat diperlukan untuk memperbanyak fragmen gen yang menjadi target, dan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dapat dimanfaatkan untuk mendeteksi keberadaan fragmen gen tersebut pada sampel yang diuji. Baku emas (*gold standard*) dalam proses identifikasi bakteri penghasil ESBL adalah mendeteksi gen penyandi enzim  $\beta$ -laktamase, salah satunya gen blaSHV yang sering ditemukan pada *Klebsiella pneumoniae* sebagai penyebab utama resistensi antibiotik (Mohammed dan Anwar, 2022).

Pemanfaatan teknologi bioinformatika dalam perancangan primer memungkinkan proses identifikasi daerah konservatif pada gen blaSHV dilakukan dengan lebih akurat. Analisis *in silico* seperti pemeriksaan nilai Tm (*Temperature Melting*), persentase GC (Guanin Cytosine), potensi pembentukan hairpin atau

dimer, serta kesesuaian sekuens melalui BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) memastikan bahwa primer yang dirancang benar-benar spesifik terhadap gen blaSHV. Dengan demikian, penggunaan primer berbasis bioinformatika dapat meningkatkan sensitivitas dan spesifisitas metode PCR, sehingga deteksi *Klebsiella pneumoniae* penghasil ESBL dapat dilakukan secara lebih cepat, tepat, dan efisien dalam berbagai aplikasi diagnostik maupun penelitian (Saraswati dan Wahyuni, 2019).

Berdasarkan penelitian Nurfitri dkk, deteksi gen blaSHV sebagai penanda enzim ESBL dilakukan pada tiga isolat bakteri yang sebelumnya menunjukkan hasil positif ESBL berdasarkan uji fenotip. Hasil PCR menunjukkan bahwa dua dari tiga isolat tersebut (66,7%) terkonfirmasi positif membawa gen blaSHV, yang ditandai dengan terbentuknya pita DNA berukuran 500 bp (*base pair*) pada elektroforesis agarosa. Deteksi gen blaSHV dilakukan menggunakan primer *forward* 5'-TTTGTGCGCTTCTTTACTCGC-3' dan *reverse* 5'-TTTATGGCGTTACCTTTGACC-3', Meskipun kedua primer memenuhi kriteria dasar seperti panjang pasangan basa, komposisi persentase GC, dan kesetaraan nilai suhu leleh ( $T_m$ ), terdapat beberapa kelemahan yang dapat mempengaruhi performa PCR, pada primer *forward* terdapat urutan empat basa T berurutan (TTTT) pada posisi awal (5'). Keberadaan homopolimer, terutama yang terdiri dari basa A atau T, sering dianggap sebagai salah satu kelemahan desain primer karena dapat menyebabkan polimerase mengalami "*slippage*", yaitu fenomena dimana enzim kehilangan posisi inisiasi atau bergeser dari template karena kestabilan ikatan basa yang rendah. Akibatnya, efisiensi elongasi dapat menurun. Pada penelitian ini belum terdapat uji spesifitas primer melalui BLAST untuk mengetahui sekuens lain

di dalam genom yang memiliki kemiripan tinggi sehingga berpotensi menyebabkan amplifikasi tidak spesifik. Selain itu, BLAST membantu mendeteksi adanya kemungkinan reaktivitas silang, yaitu primer yang secara tidak sengaja juga cocok pada organisme lain di luar target, sehingga mencegah terjadinya hasil positif palsu, terutama dalam analisis diagnostik atau deteksi mikroorganisme.

Berdasarkan permasalahan tersebut, penelitian ini dilakukan untuk merancang primer yang tepat dan mengoptimalkan kondisi PCR guna mendeteksi gen blaSHV pada bakteri *Klebsiella pneumoniae*. Desain primer harus mengikuti kriteria tertentu agar dapat bekerja secara efektif, antara lain memiliki panjang 18 – 30 pasangan basa, persentase GC berkisar 40 – 60%, nilai suhu leleh ( $T_m$ ) berada pada rentang 50 – 65°C, serta tidak membentuk struktur sekunder seperti hairpin atau dimer (Melati, Nurjanah dan Rahayu, 2022). Keberhasilan PCR sangat dipengaruhi oleh berbagai parameter, termasuk suhu denaturasi, suhu annealing, suhu ekstensi, jumlah siklus amplifikasi, kemurnian DNA template, serta konsentrasi komponen reaksi seperti primer, buffer,  $MgCl_2$ , air bebas nuklease, dan enzim DNA polimerase.

Untuk memperoleh kondisi dan komposisi PCR yang paling sesuai sehingga menghasilkan amplifikasi yang spesifik, diperlukan proses optimasi terlebih dahulu sebelum PCR diaplikasikan pada sampel penelitian. Salah satu faktor penting yang harus dioptimalkan adalah suhu annealing, karena tahapan ini menentukan kemampuan primer untuk berikatan dengan DNA target. Suhu annealing yang terlalu tinggi dapat menyebabkan primer tidak menempel sempurna sehingga amplifikasi tidak terjadi, sedangkan suhu annealing yang terlalu rendah berisiko

menyebabkan primer menempel pada lokasi yang tidak sesuai dan menghasilkan produk PCR yang tidak spesifik (Listiani dkk., 2021).

## **B. Rumusan Masalah**

Berdasarkan uraian pada latar belakang, maka rumusan masalah dari penelitian ini adalah :

1. Bagaimana desain primer yang spesifik untuk deteksi gen blaSHV bakteri *Klebsiella pneumoniae*?
2. Bagaimana reaksi *Polymerase Chain Reaction* (PCR) yang optimal dan hasil identifikasi gen blaSHV bakteri *Klebsiella pneumoniae* dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) menggunakan desain primer spesifik?

## **C. Tujuan Penelitian**

### **1. Tujuan umum**

Untuk mendeteksi keberadaan gen blaSHV pada bakteri *Klebsiella pneumoniae* menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan bantuan primer yang bersifat spesifik.

### **2. Tujuan khusus**

- a. Mendesain sepasang primer yang spesifik dan sesuai untuk mendeteksi gen blaSHV pada bakteri *Klebsiella pneumoniae*.
- b. Mengeskraksi bakteri *Klebsiella pneumoniae* untuk mendapatkan ekstrak DNA.
- c. Mengoptimalkan suhu *annealing* untuk mendapatkan kondisi reaksi PCR yang optimal.

- d. Mengidentifikasi gen blaSHV pada bakteri *Klebsiella pneumoniae* menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan primer spesifik.
- e. Mengevaluasi primer spesifik blaSHV terhadap bakteri pembanding *Escherichia coli*.

## **D. Manfaat Penelitian**

### **1. Manfaat teoritis**

Penelitian ini diharapkan dapat memperluas pengetahuan para peneliti mengenai proses perancangan primer serta pengembangan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dalam upaya mendeteksi dan mengidentifikasi gen blaSHV pada bakteri *Klebsiella pneumoniae*. Temuan ini juga dapat menjadi dasar ilmiah bagi penelitian selanjutnya yang berkaitan dengan deteksi gen resisten pada bakteri tersebut.

### **2. Manfaat praktis**

Hasil penelitian ini diharapkan mampu memberikan metode pemeriksaan yang lebih cepat, akurat, dan spesifik dalam mendeteksi gen blaSHV pada bakteri *Klebsiella pneumoniae* menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Dengan demikian, penelitian ini dapat memberikan manfaat langsung bagi masyarakat dalam bidang kesehatan.