

TESIS

**POLA DISTRIBUSI *Enterobacteriaceae* PENGHASIL
ESBL (*EXTENDED SPECTRUM β -LACTAMASE*) PADA
BAKTERI FLORA USUS SAPI PERAH DAN
PENDUDUK SEKITARNYA DI AREA RURAL DI
KABUPATEN PASURUAN**



Agusta Reny Soekoyo

NIM 011714153012

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN DASAR
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2019**

TESIS

**POLA DISTRIBUSI *Enterobacteriaceae* PENGHASIL
ESBL (*EXTENDED SPECTRUM β -LACTAMASE*) PADA
BAKTERI FLORA USUS SAPI PERAH DAN
PENDUDUK SEKITARNYA DI AREA RURAL DI
KABUPATEN PASURUAN**

Agusta Reny Soekoyo

NIM 011714153012

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN DASAR
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2019**

**POLA DISTRIBUSI *Enterobacteriaceae* PENGHASIL
ESBL (*EXTENDED SPECTRUM β -LACTAMASE*) PADA
BAKTERI FLORA USUS SAPI PERAH DAN
PENDUDUK SEKITARNYA DI AREA RURAL DI
KABUPATEN PASURUAN**

TESIS

Untuk memperoleh Gelar Magister

Dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar

Pada Jenjang Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

Oleh

Agusta Reny Soekoyo

NIM 011714153012

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN DASAR
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2019**

'''

Lembar Pengesahan

TESIS TELAH DISETUJUI
PADA TANGGAL 19 Desember 2019

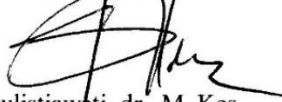
Oleh :

Pembimbing Ketua



Prof. Dr. Kuntaman, dr., M.S., SpMK(K)
NIP. 19510707 197903 1 003

Pembimbing Kedua



Dr. Sulistiawati, dr., M. Kes
NIP. 19650228 199003 2 002

Mengetahui,

Koordinator Program Studi

Ilmu Kedokteran Dasar Jenjang Magister
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga



Prof. Dr. Kuntaman, dr., M.S., SpMK(K)
NIP. 19510707 197903 1 003

LEMBAR PENETAPAN PANITIA PENGUJI TESIS

Telah diuji pada :

Tanggal : 27 Desember 2019

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Prof. Dr. Eddy Bagus Wasito, dr., MS., Sp.MK(K)
Anggota : 1. Prof. Dr. Kuntaman, dr., M.S., SpMK(K)
2. Dr. Sulistiawati, dr., M. Kes
3. Dr. Eko Budi Koendhori, dr., M. Kes., Sp.MK(K)
4. Dr. Lilik Herawati, dr., M. Kes

PERNYATAAN TENTANG ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Agusta Reny Soekoyo
NIM : 011714153012
Program Studi : Magister Ilmu Kedokteran Dasar
Judul tesis : POLA DISTRIBUSI *Enterobacteriaceae* PENGHASIL
ESBL (*EXTENDED SPECTRUM β -LACTAMASE*)
PADA BAKTERI FLORA USUS SAPI PERAH DAN
PENDUDUK SEKITARNYA DI AREA RURAL DI
KABUPATEN PASURUAN

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tesis saya ini adalah asli (hasil karya sendiri) bukan merupakan hasil peniruan atau penjiplakan (Plagiarism) dari karya orang lain. Tesis ini belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik.

Dalam tesis ini tidak terdapat pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dengan disebutkan nama pengarang dan dicantumkan di dalam daftar pustaka. Demikian pernyataan ini dibuat tanpa adanya paksaan dari pihak manapun, apabila pernyataan ini tidak benar, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan norma dan peraturan yang berlaku di Universitas Airlangga.

Surabaya, Desember 2019



Agusta Reny Soekoyo

NIM. 011714153012

UCAPAN TERIMAKASIH

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas limpahan berkah dan rahmatNya, penulis dapat menyelesaikan penyusunan tesis dengan judul : **“POLA DISTRIBUSI *Enterobacteriaceae* PENGHASIL ESBL (*EXTENDED SPECTRUM β -LACTAMASE*) PADA BAKTERI FLORA USUS SAPI PERAH DAN PENDUDUK SEKITARNYA DI AREA RURAL DI KABUPATEN PASURUAN”**. Tesis ini dapat tersusun dengan baik atas bimbingan dan bantuan dari banyak pihak. Dalam kesempatan ini, saya ingin mengucapkan rasa terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Rektor Universitas Airlangga Prof. Dr. Mohammad Nasih, SE., Mt., Ak., CMA dan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Prof. Dr. Soetojo, dr., Sp.U(K) beserta jajaran atas kesempatan menempuh pendidikan di Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar Jenjang Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
2. Prof. Dr. Kuntaman, dr., M.S., SpMK(K), selaku pembimbing 1 dan Koordinator Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar yang dengan penuh kesabaran membimbing dan mengarahkan.
3. Dr. Sulistiawati, dr., M. Kes, selaku pembimbing 2 yang dengan penuh kesabaran dan semangat membimbing dalam penyusunan tesis ini.
4. Prof. Dr. Eddy Bagus Wasito, dr., MS., Sp.MK(K), Dr. Eko Budi Koendhori, dr., M. Kes., Sp.MK(K), Dr. Gondo Mastutik, drh., M. Kes, dan Dr. Lilik Herawati, dr., M. Kes selaku penguji yang memberikan bimbingan dan saran dalam perbaikan tesis.
5. Alm kedua Orangtua terutama Ibunda atas cinta dan didikan untuk tak lelah dalam menimba ilmu dalam rangka menuju pribadi yang lebih baik.
6. Ketua Minat Studi Mikrobiologi Kedokteran Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar Universitas Airlangga, Dr. Arthur Pohan Kawilarang, dr., M. Kes., Sp.MK(K) beserta seluruh dosen Fakultas Kedokteran jenjang Magister, terutama di Departemen Mikrobiologi Kedokteran atas limpahan ilmu dan kesabaran dalam mendidik.

7. Segenap staf administrasi baik di Departemen Mikrobiologi Kedokteran maupun di Program Pasca Sarjana Fakultas Kedokteran atas fasilitasi dan bantuan selama menempuh pendidikan
8. Kepala Dinas Kesehatan Kabupaten Pasuruan beserta jajaran yang telah memberikan ijin untuk melakukan penelitian di wilayah Kabupaten Pasuruan
9. Kepala Puskesmas Sumber Pitu beserta jajaran terutama Kepala Tata Usaha, staf kesehatan lingkungan, Bpk. Sani atas fasilitasi dan bantuan selama penelitian di Desa Kalipucang terutama saat pemetaan dan pengambilan sampel serta koordinasi dengan Kader Puskesmas tiap dusun.
10. Kepala Desa Kalipucang beserta jajaran yang telah memberikan atas ijin dan fasilitasi selama penelitian di Desa Kalipucang.
11. Kader Posyandu Puskesmas Sumber Pitu : Bu Nur Hasanah, Bu Naning, Bu Humilah, Bu Jumaiyah, Bu Ristikana, dan Bu Kundari atas bantuan dan fasilitasi dalam kegiatan penyuluhan dan pengambilan sampel penelitian.
12. Direktur RSUD Dr. Soetomo dan seluruh staf Laboratorium Mikrobiologi terutama Pak Agus dan Pak Rizal.
13. Direktur Institut Tropical Disease beserta jajaran terutama staf Laboratorium Gastroentritis, Sdri. Wahyu atas bantuan dalam pengujian laboratorium.
14. Kepala BBTKLPP Surabaya periode 2013-2017, Bapak Zainal Ilyas Nampira dan periode 2017-2019, Bapak Hari Santoso beserta jajaran terutama di bidang Pengembangan Teknologi Laboratorium (PTL) atas ijin dan kesempatan menimba ilmu di Program studi Ilmu Kedokteran Dasar Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
15. Seluruh staf BBTKLPP Surabaya UPT Laboratorium Penyakit Pasuruan, khususnya Pak Narsono untuk fasilitasi dan bantuan selama penelitian.
16. Seluruh warga Desa Kalipucang yang secara sukarela ikut serta dalam penelitian ini.

17. Suami dan kakak – kakakku tercinta yang memberikan dukungan, doa dan semangat saat menempuh pendidikan. Terutama suami atas restu dan pendampingan selama penelitian di wilayah Kabupaten Pasuruan.

Besar harapan penulis, bahwa penelitian ini memberikan manfaat terhadap penulis dan pihak terkait terutama memberikan input terhadap ilmu pengetahuan mengenai kolonisasi bakteri resisten di komunitas rural. Semoga perjuangan menimba ilmu ini diridhoi Allah SWT dan bernilai ibadah serta memberikan berkah bagi penulis. Aamiin Yaa Robbal Alaamiin.

Surabaya, Desember 2019

Penulis

RINGKASAN

POLA DISTRIBUSI *Enterobacteriaceae* PENGHASIL ESBL (*EXTENDED SPECTRUM β -LACTAMASE*) PADA BAKTERI FLORA USUS SAPI PERAH DAN PENDUDUK SEKITARNYA DI AREA RURAL DI KABUPATEN PASURUAN**Agusta Reny Soekoyo**

Penggunaan antibiotik sebagai penunjang pertumbuhan di bidang peternakan merupakan faktor risiko kejadian bakteri gram negatif penghasil ESBL (Dandachi *et al.*, 2018). *Enterobacteriaceae* penghasil ESBL diidentifikasi sebagai penyebab penyakit mastitis pada sapi perah sejak tahun 2000 (Dahms *et al.*, 2015). Area rural dengan potensi ekonomi di sektor peternakan merupakan area yang berisiko terhadap penyebaran E-ESBL. Data mengenai pola distribusi E-ESBL di area rural di Indonesia khususnya pada populasi hewan ternak dan penduduk masih sangat terbatas.

Penelitian bertujuan mengidentifikasi dan menganalisis pola distribusi dan faktor risiko *Enterobacteriaceae* penghasil ESBL pada bakteri flora usus sapi perah dan penduduk sekitarnya di area rural di Kabupaten Pasuruan. Design penelitian berupa cross sectional dengan metode sampling : proporsional random sampling. Lokasi penelitian di Desa Kalipucang, Kabupaten Pasuruan. Sampel berjumlah 204 (102 kluster), terdiri dari 102 swab feses sapi perah dan 102 swab feses penduduk yang memiliki kontak erat/peternak. Pengambilan sampel menggunakan media transport Amies (Deltalab, Spanyol). Bakteri dari swab feses diisolasi pada media selektif MacConkey yang ditambahkan cefotaxime 2 mg/L. Isolat yang tumbuh dikonfirmasi sebagai penghasil ESBL dengan metode *modified double disk test* (M-DDST). Antibiotik yang digunakan : amoxicillin-asam clavulanat 30 ug, cefotaxime 30 ug, ceftazidime 30 ug, ceftriaxone 30 ug, dan aztreonam 30 ug dengan jarak 15 mm.

Identifikasi *Enterobacteriaceae* penghasil ESBL dengan uji biokimia : uji *Triple Sugar Iron* (TSI), uji indol, uji Methyl Red (MR), uji Voges Proskauer (VP), uji urease, and uji motilitas. Konfirmasi genotip menggunakan metode *polymerase chain reaction* (PCR) dengan primer spesifik : *bla_{CTX-M}*, *bla_{SHV}*, dan *bla_{TEM}*. Analisis statistik menggunakan program SPSS versi 22. Uji *Chi square* atau *Fisher exact* untuk membandingkan distribusi jenis bakteri dan genotip *Enterobacteriaceae* penghasil ESBL serta mengidentifikasi faktor risiko.

Dari 102 sampel swab feses sapi perah diidentifikasi bakteri penghasil ESBL sebesar 13.7%. Distribusi *Enterobacteriaceae* penghasil ESBL sebesar 50%. Jenis bakteri *Enterobacteriaceae* penghasil ESBL pada sapi perah: *Escherichia coli* (85.7%), dan *Enterobacter spp* (14.3%). Dari 102 sampel swab feses peternak diidentifikasi bakteri penghasil ESBL sebesar 34.3%. Distribusi *Enterobacteriaceae* penghasil ESBL sebesar 97.1%. Jenis bakteri *Enterobacteriaceae* penghasil ESBL pada peternak : *Escherichia coli* (82.4%),

dan *Enterobacter spp* (8.8%), *Klebsiella pneumoniae* (5.9%), dan *Klebsiella oxytoca* (2.9%). Tidak ada perbedaan signifikan antara distribusi jenis bakteri *Enterobacteriaceae* penghasil ESBL di sapi perah dan di peternak.

Enterobacteriaceae penghasil ESBL pada sapi perah diidentifikasi memiliki *bla*_{CTX-M} sebesar 85.7% dan *unidentified gene* sebesar 14.3% sedang pada peternak diidentifikasi : *bla*_{CTX-M} (76.5%), *bla*_{SHV} (8.8%), dan *bla*_{TEM} (44.1%), kombinasi *bla*_{CTX-M} dan *bla*_{TEM} (23.5%), dan kombinasi *bla*_{CTX-M}, *bla*_{SHV}, dan *bla*_{TEM} (2.9%). Ada perbedaan signifikan antara distribusi *bla*_{TEM} pada sapi perah dan pada peternak ($p = 0,035$). *Unidentified gene* merupakan gen yang tidak terdeteksi dengan primer pada penelitian.

Penggunaan antibiotik diidentifikasi sebagai faktor risiko kolonisasi bakteri penghasil ESBL pada peternak ($p = 0,007$) sedang pada sapi perah faktor risiko tidak teridentifikasi. Keterbatasan penelitian tidak dapat mengidentifikasi gen pada satu (1) isolat *Enterobacteriaceae* penghasil ESBL, faktor risiko pada sapi perah, dan penyebaran *Enterobacteriaceae* penghasil ESBL antara sapi perah dan peternak

SUMMARY

DISTRIBUTION PATTERN OF ESBL (*EXTENDED SPECTRUM β -LACTAMASE*) PRODUCING *Enterobacteriaceae* IN GUT FLORA BACTERIAL OF DAIRY COWS AND PEOPLE SURROUNDING IN RURAL AREA IN PASURUAN DISTRICTS

Agusta Reny Soekoyo

Unappropriate use of antibiotic as growth promotion in veterinary suspected as risk factor of ESBL producing Gram negatif bacteria (Dandachi *et al.*, 2018). ESBL producing *Enterobacteriaceae* was identified caused mastitis in dairy cow since 2000 (Dahms *et al.*, 2015). Rural area with farms as major economic source has become risk of the spread of the ESBL producing *Enterobacteriaceae*. Data on ESBL producing *Enterobacteriaceae* in rural areas in Indonesia, especially in rural resident and livestock are very limited.

The aim of the study is to identified and analyzed distribution pattern and risk factor of ESBL producing *Enterobacteriaceae* in gut flora bacterial of dairy cows and people surrounding in rural area in Pasuruan district. This study has conducted cross sectional design and proportional random sampling method. The study performed at Kalipucang village. 204 collected samples consist of 102 cluster : 102 fecal swab of dairy cows and 102 fecal swab of people who has close contact with dairy cows/farmers. Fecal swab taken using Amies transport medium (Deltalab, Spanyol). Bacteria from fecal swab isolated on MacConkey agar supplemented with 2 mg/L cefotaxime. Confirmation of the ESBL production, modified double disk test (M-DDST) were performed using five (5) antibiotic disk : amoxicillin-clavulanat acid 30 ug, cefotaxime 30 ug, ceftazidime 30 ug, ceftriaxone 30 ug, and aztreonam 30 ug which placed within 15 mm of distance from edge to edge.

Identification of ESBL producing *Enterobacteriaceae* species using biochemical test : Triple Sugar Iron (TSI) test, Indol test, Methyl Red (MR) test, Voges Proskauer (VP) test, Urease test, and Motility test. Polymerase chain reaction (PCR) method used to identify the genotype of ESBL producing *Enterobacteriaceae* with specific primer : *bla*_{CTX-M}, *bla*_{SHV}, and *bla*_{TEM}. Result was analyzed using IBM SPSS Statistic 22 version. Comparison of distribution pattern of ESBL producing *Enterobacteriaceae* in dairy cows and farmer and to identify risk factor using Chi square or Fisher exact test.

ESBL producing bacteria were found at 14 of 102 dairy cows fecal swab (13.7%). Distribution of ESBL producing *Enterobacteriaceae* were 50%. Among 7 ESBL isolates in dairy cows, 85.7% were identified as *Escherichia coli* and 14.3% was identified as *Enterobacter spp.* 35 out of 102 dairy cows fecal swab were found as ESBL producers (34.3%). Distribution of ESBL producing *Enterobacteriaceae* were 97.1%. Among 34 ESBL isolates in farmer, 82.4% were

identified as *Escherichia coli*, 8.8% as *Enterobacter spp*, 5.9% as *Klebsiella pneumoniae*, and 2.9% as *Klebsiella oxytoca*. There was no significant difference in the distribution of ESBL producing *Enterobacteriaceae* in dairy cows and farmers.

At dairy cows, 6 of ESBL isolates found harboured *bla*_{CTX-M} (85.7%) and one (1) isolate harboured *unidentified gene* (14.3%). At farmer, 76.5% found harboured *bla*_{CTX-M}, 8.8% harboured *bla*_{SHV}, 44.1% harboured *bla*_{TEM}, 23.5% combination of *bla*_{CTX-M} and *bla*_{TEM}, and 2.9% combination of *bla*_{CTX-M}, *bla*_{SHV}, and *bla*_{TEM}. There are significant differences in the distribution of *bla*_{TEM} in dairy cows and farmer ($p = 0,035$). Unidentified gene is undetectable gene with specific primer used on study.

Use of antibiotic was identified as risk factor for colonization of ESBL producing bacteria in farmers ($p = 0,007$) whereas in dairy cows it couldn't identified. The limitation of this study was could not identify genes in one (1) of ESBL *Enterobacteriaceae* isolate, risk factor in dairy cows, and transmission of ESBL producing *Enterobacteriaceae* between dairy cows and farmer