



Universitas
Alma Ata
The Globe Inspiring University

FKIK
S1 Kedokteran

BAKTERI

ENTEROBACTER AEROGENES

ALMARISSA AJENG PRAMESHWARA
ANANDITA WINADIRA
WIDHOWATI DESTIATHREE SUPARDI
CHANDRA TRIANNA DEWI
DIAN WAHYU PRATAMI
HANSON

Bakteri *Enterobacter aerogenes*



Disusun Oleh :

dr. Almarissa Ajeng Prameshwara Sp.MK
dr. Anandita Winadira., M.Biomed
dr. Widhowati Destiathree Supardi ., M.Biomed
dr.Chandra Trianna Dewi ., Sp.PK
dr.Dian Wahyu Pratami., M.Biomed
dr. Hanson., M.Biomed

FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU-ILMU KESEHATAN UNIVERSITAS ALMA ATA

2025

KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas tersusunnya buku ini yang membahas secara komprehensif mengenai *Enterobacter aerogenes*—bakteri Gram-negatif yang memiliki peran penting dalam bidang mikrobiologi klinik, biologi molekuler, serta epidemiologi infeksi nosokomial.

Perkembangan ilmu mikrobiologi, khususnya dalam era genomik dan resistensi antimikroba, menuntut pemahaman yang lebih mendalam mengenai karakteristik bakteri patogen oportunistik. *Enterobacter aerogenes*, yang kini dikenal dalam klasifikasi terbaru sebagai *Klebsiella aerogenes*, merupakan salah satu anggota famili Enterobacteriaceae yang sering terlibat dalam infeksi saluran kemih, infeksi saluran pernapasan, bakteremia, hingga infeksi terkait alat kesehatan. Kemampuannya dalam membentuk biofilm serta mengembangkan resistensi terhadap berbagai golongan antibiotik menjadikan bakteri ini relevan dalam tantangan kesehatan global saat ini.

Buku ini disusun untuk memberikan gambaran menyeluruh mulai dari taksonomi, morfologi, sifat fisiologis dan biokimia, hingga karakteristik genomik *Enterobacter aerogenes*. Pembahasan mencakup struktur genom, gen virulensi, mekanisme resistensi antimikroba, regulasi ekspresi gen, serta implikasi klinis dan terapetiknya. Dengan pendekatan berbasis evidensi ilmiah dan perkembangan penelitian terkini, diharapkan buku ini dapat menjadi referensi yang bermanfaat bagi mahasiswa, dosen, peneliti, maupun praktisi di bidang kesehatan.

Kami menyadari bahwa ilmu pengetahuan terus berkembang, terutama dalam bidang genomik mikroba dan resistensi antibiotik. Oleh karena itu, buku ini diharapkan tidak hanya menjadi sumber informasi, tetapi juga memantik diskusi, penelitian lanjutan, serta inovasi dalam strategi pencegahan dan penatalaksanaan infeksi yang disebabkan oleh bakteri ini.

Akhir kata, kami menyampaikan terima kasih kepada seluruh pihak yang telah berkontribusi dalam penyusunan buku ini. Semoga karya ini memberikan manfaat yang luas bagi pengembangan ilmu pengetahuan dan praktik kedokteran berbasis sains.

Tim Penulis
2025

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
DAFTAR ISI.....	iii
DAFTAR GAMBAR.....	v
DAFTAR TABEL.....	vi
BAB I. PENDAHULUAN	1
BAB II. STRUKTUR SEL <i>Enterobacter aerogenes</i>	3
A. KLASIFIKASI ORGANISME	3
B. MORFOLOGI.....	5
BAB III. FISILOGI <i>Enterobacter aerogenes</i>	13
A. PERTUMBUHAN BAKTERI.....	13
B. NUTRISI BAKTERI.....	16
C. KARAKTERISTIK BIOKIMIA.....	18
D. PENGARUH LINGKUNGAN	22
BAB IV. GENETIKA <i>Enterobacter aerogenes</i>	25
A. GENOME <i>Enterobacter aerogenes</i>	25
B. REGULASI DAN EKSPRESI GEN.....	26
C. TRANSFER GEN HORIZONTAL.....	28
D. MUTASI GEN.....	30
BAB V. INTERAKSI HOST DAN <i>Enterobacter aerogenes</i>	35
A. TAHAPAN INTERAKSI ORGANISME.....	35
B. INTERAKSI <i>Enterobacter aerogenes</i> PADA HOST MANUSIA	36
C. FAKTOR VIRULENSI.....	38
BAB VI. PEMERIKSAAN LABORATORIUM <i>Enterobacter aerogenes</i>	41
A. SPESIMEN PEMERIKSAAN	41
B. PEMERIKSAAN MIKROSKOPIK.....	42
C. KULTUR BAKTERI	43
D. IDENTIFIKASI KONVENSIONAL	45
E. IDENTIFIKASI SEMIOTOMATIS DAN OTOMATIS	49
<i>Daftar Pustaka</i>	55

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Pohon filogenetik sekuens 16S rRNA dari <i>Enterobacter sp.</i> dengan genom sekuensing	4
Gambar 2. Gambaran Mikroskopis <i>Enterobacter aerogenes</i>	5
Gambar 3. Gambaran molekuler dari selubung sel bakteri Gram negatif	6
Gambar 4. Skema struktur dasar lipopolisakarida	8
Gambar 5. Efek glukosa dan sitrat sebagai sumber karbon dalam proses pertumbuhan (pembentukan protein seluler) pada <i>Enterobacter aerogenes</i>	17
Gambar 6. Glikolisis (jalur <i>Embden-Meyerhof</i>)	19
Gambar 7. Jalur pembentukan Hidrogen Pada <i>Enterobacter aerogenes</i>	20
Gambar 8. Mekanisme yang Memfasilitasi Bakteri Patogen ESKAPE	34
Gambar 9. <i>Enterobacter aerogenes</i> dibawah mikroskop cahaya	43
Gambar 10. koloni <i>Enterobacter aerogenes</i> pada media kultur	45
Gambar 11. Bagan pemeriksaan untuk identifikasi organisme koliform yang dicurigai	51
Gambar 12. Bagan identifikasi spesies <i>Enterobacter</i> berdasarkan uji biokimia	51

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Perbandingan karakteristik <i>Enterobacter aerogenes</i>	21
Tabel 2. Gen yang terlibat pada netralisasi antibiotik.....	33
Tabel 3. Gen yang terlibat terhadap resistensi antibiotik pada genom strain <i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC13048	33
Tabel 4. Gen Faktor virulensi pada <i>Enterobacter aerogenes</i>	38
Tabel 5. Pertumbuhan <i>Enterobacter aerogenes</i> strain ATCC 13048 pada berbagai media cair dengan suhu bervariasi	44
Tabel 6. Pertumbuhan <i>Enterobacter aerogenes</i> strain ATCC 13048 pada berbagai media padat dengan suhu bervariasi	44
Tabel 7. Hasil Identifikasi Konvensional	48

BAB I PENDAHULUAN

Enterobacteriaceae adalah suatu famili kuman yang terdiri dari sejumlah besar spesies bakteri yang sangat erat hubungannya satu dengan lainnya. Hidup di usus besar manusia dan hewan, tanah, air dan dapat pula ditemukan pada dekomposisi material. Karena hidupnya yang pada keadaan normal ada di dalam usus besar manusia, kuman ini sering disebut kuman enterik atau basil enterik[1]

Genus *Enterobacter* termasuk basil Gram-negatif fakultatif anaerob yang berukuran panjang 2 mm, motil karena adanya flagela peritrik dan termasuk dalam famili *Enterobacteriaceae*. Saat ini, terdapat dua puluh dua spesies ditemukan pada genus *Enterobacter*: *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter amnigenus*, *Enterobacter arachidis*, *Enterobacter asburiae*, *Enterobacter carcinogenus*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter cowanii*, *Enterobacter dissolvans*, *Enterobacter gergoviae*, *Enterobacter helveticus*, *Enterobacter hormaechei*, *Enterobacter kobei*, *Enterobacter ludwigii*, *Enterobacter mori*, *E. nimipressuralis*, *Enterobacter oryzae*, *Enterobacter pulveris*, *Enterobacter pyrinus*, *E. radicincitans*, *Enterobacter. soli*, *Enterobacter taylorae* dan *Enterobacter turicensis*. Diantara spesies ini, tujuh spesies dikelompokkan kedalam kelompok *Enterobacter cloacae* yaitu *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter asburiae*, *Enterobacter hormaechei*, *Enterobacter. kobei*, *Enterobacter ludwigii*, *Enterobacter mori* dan *Enterobacter nimipressuralis*. Nomenklatur ini berdasarkan karakter fenotipik dan terutama genotipik, yang didapatkan dengan *whole genome* hibridisasi DNA . ditemukan pada lima spesies ini menunjukkan setidaknya persamaan genom sebesar 60 % dengan genom *Enterobacter.cloacae* [1].

Di antara kelompok tersebut, *Enterobacter cloacae* dan *Enterobacter aerogenes* adalah spesies yang paling sering diidentifikasi dan menyebabkan infeksi pada pasien rawat inap dan pasien yang kritis. Dalam beberapa tahun terakhir, *Enterobacter aerogenes* telah muncul sebagai bakteri patogen nosokomial yang penting. Strain *Enterobacter aerogenes* biasanya ditandai dengan tingkat resistensi yang tinggi terhadap ampisilin, asam amoksisilin-klavulanat, dan sefalosporin atau

imipenem spektrum luas. Wabah *Enterobacter aerogenes* sering ditemukan di antara pasien unit perawatan intensif (ICU), dan kolonisasi biasanya terjadi pada saluran pernapasan, saluran kemih, dan saluran pencernaan dan lebih jarang pada kulit dan luka bedah[2]

Enterobacter aerogenes telah diketahui terlibat pada infeksi nosokomial sejak tahun 1992, terutama di Eropa Barat. Pada tahun 2012, di Perancis, *Enterobacter aerogenes* termasuk dalam *Enterobacter* kelima dan Gram negatif batang ketujuh yang bertanggung jawab terhadap infeksi nosokomial. Prevalensinya menurun tajam sejak tahun 2000. Walaupun saat ini *Enterobacter cloacae* merupakan *Enterobacter* sp. yang lebih banyak diisolasi di berbagai fasilitas Kesehatan, tetapi *Enterobacter aerogenes* lebih mudah menyebabkan syok sepsis pada pasien dengan infeksi yang mana berhubungan dengan tingkat kematian yang tinggi (39% dari pasien) dan menunjukkan virulensi yang lebih kuat[1].

BAB II

STRUKTUR SEL

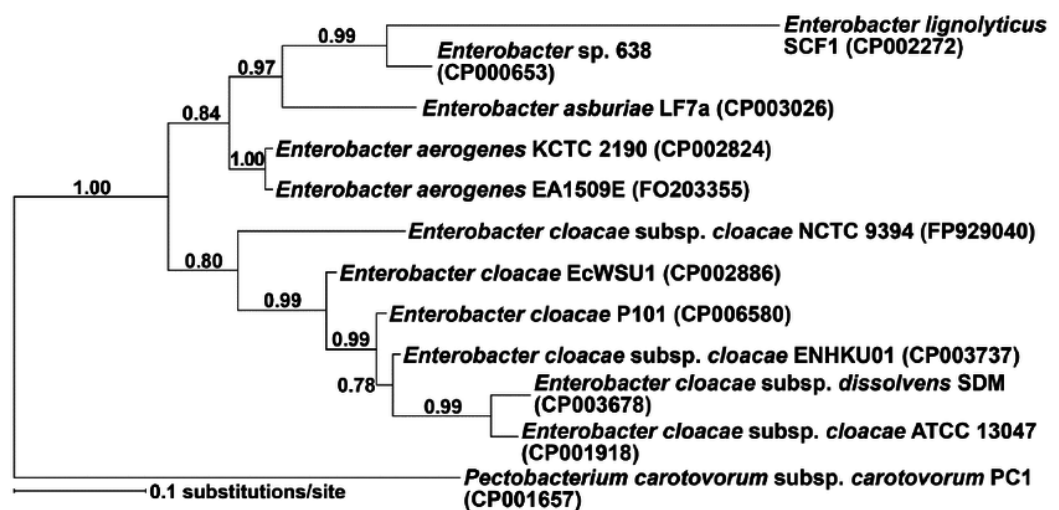
A. KLASIFIKASI ORGANISME

Klasifikasi taksonomi dari *Enterobacter aerogenes* adalah sebagai berikut[3]:

- Kingdom : Bacteria
- Phylum : Proteobacteria
- Kelas : Gammaproteobacteria
- Ordo : Enterobacteriales
- Family : *Enterobacteriaceae*
- Genus : *Enterobacter*
- Spesies : *Enterobacter aerogenes*

Identifikasi spesies dan subspecies yang akurat tetap menjadi tantangan. Perkembangan sekuensing genom telah dengan cepat memodifikasi filogeni genus, terutama kompleks *Enterobacter cloacae*. Adanya penggunaan teknik molekuler modern, genus mengalami modifikasi pengklasifikasian, dan beberapa spesies telah dimasukkan maupun dikeluarkan dari genus ini. Misalnya, empat spesies yang pertama kali diidentifikasi sebagai *Enterobacter* telah direklasifikasi ke genus *Kosakonia* (*Enterobacter cowanii*; *Enterobacter arachidis*; *Enterobacter oryzae* dan *E. radcinintans*), *E. intermedium* telah direklasifikasi ke genus *Kluyvera*, dan *E. Sakazakii* telah direklasifikasi ke genus *Cronobacter*. Saat ini, posisi taksonomi *Enterobacter aerogenes* masih diperbincangkan. Sejak tahun 1971, terjadi proposisi reklasifikasi menjadi genus *Klebsiella* sebagai *Klebsiella aerogenes* atau *Klebsiella mobilis* atau *K. Aeromobilis*. Akan tetapi hal ini masih menjadi perbincangan karena motilitasnya tetap tidak dapat diverifikasi sehingga pada beberapa penelitian masih umum digunakan penamaan *Enterobacter aerogenes*[1, 4].

Perbedaan fenotip antara *Enterobacter aerogenes* dan genus *Klebsiella* adalah pada *Enterobacter aerogenes* ada motilitas, ada ornithine dekarboksilase dan sedikit memiliki aktifitas urease. Hasil dari analisis sekuens genom lengkap menegaskan bahwa spesies yang paling dekat dengan *Enterobacter aerogenes* adalah *K. pneumoniae*. Namun, Mempertimbangkan syarat taksonomi , julukan mobilis tidak sah dan *K. aerogenes* tidak dapat divalidasi. Dengan demikian saat ini *Enterobacter aerogenes* masih merupakan bagian dari genus *Enterobacter* dan semua data ilmiah tidak lagi menggunakan *Klebsiella aerogenes* tetapi sekali lagi *Enterobacter aerogenes*[1].



Gambar 1. Pohon filogenetik sekuens 16S rRNA dari *Enterobacter sp.* dengan genome sekuensing[5].

Pohon filogenetik diatas merupakan sekuens 16S rRNA dari *Enterobacter sp.* dengan menggunakan urutan genome (*Genom sequencing*). Strain *E. cloacae* dikelompokkan secara terpisah menjadi *clade* dari spesies *Enterobacter* lainnya menggunakan analisis filogenetik Bayesian dari daerah 16S rRNA. Analisis diimplementasikan dalam MRBAYES dan *Bayesian Information Criterion* (BIC),

DT-M odSel digunakan untuk menentukan model substitusi nukleotida yang paling cocok [5] .

B. MORFOLOGI

Enterobacter adalah bakteri batang Gram negatif (sekitar $0,6-1\ \mu\text{m} \times 1.2-3.0\ \mu\text{m}$) yang tidak membentuk spora dan diklasifikasikan sebagai fakultatif anaerob, dimana mampu berkembang baik di lingkungan aerobik dan anaerobik. *Enterobacter* merupakan bakteri motil karena adanya flagel peritrik (kecuali *Enterobacter asburiae*[6]



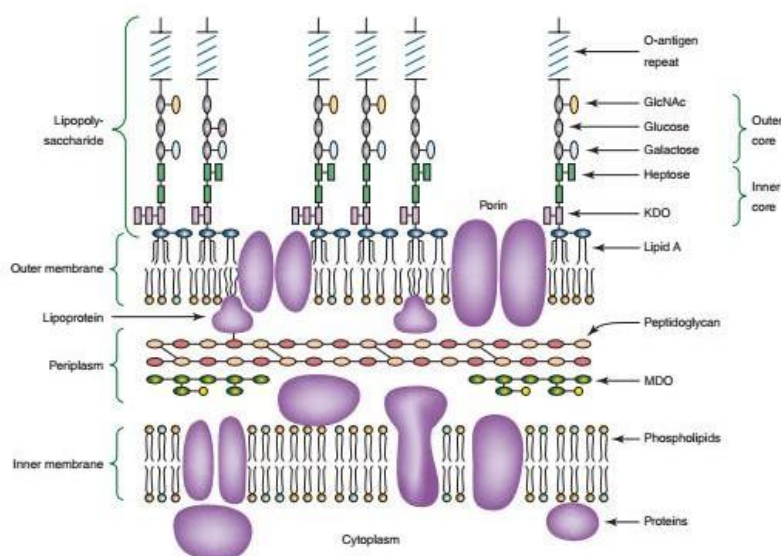
Gambar 2 .Gambaran Makroskopis *Enterobacter aerogenes* (Hedetniemi dkk., 2006)

Enterobacter aerogenes adalah bakteri Gram negatif, berukuran $0,5\ \mu\text{m} \times 3,0\ \mu\text{m}$ berbentuk batang, tidak membentuk spora. Koloni *Enterobacter aerogenes* pada umumnya melingkar, terangkat dan basah dengan bagian tepi bervariasi dari krem sampai dengan putih pudar[7].

B.1. Dinding Sel

Kebanyakan dari bakteri diklasifikasikan menjadi Gram positif atau Gram negatif berdasarkan responya terhadap perwarnaan Gram. Sama seperti bakteri Gram positif, bakteri Gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan. Pada bakteri Gram negatif lapisan peptidoglikan tersebut lebih tipis hanya sekitar 20% sehingga pada saat perwarnaan Gram, bakteri Gram negatif tidak dapat mengikat larutan warna kompleks kristalviolet-iodine sehingga pada saat ditambahkan *counterstrain* safranin akan berwarna merah [8].

Dinding sel bakteri Gram negatif mengandung tiga komponen spesial yang terletak di luar lapisan peptidoglikan yaitu membran luar, lipopolisakarida dan lipoprotein [8].



Gambar 3 : Gambaran molekuler dari selubung sel bakteri Gram negatif [8]

B.1.1 Membran Luar

Membran luar secara kimiawi berbeda dari membran biologis lainnya. Membran ini merupakan struktur lapis ganda (bilayer). Membran ini dimulai dari luar dan berproses masuk kedalam lapisan pertama. Membran luar memberikan perbedaan gambaran khusus pada bakteri Gram negatif karena bakteri Gram positif tidak memiliki organel ini. Sama seperti membran biologis lainnya, membran ini

merupakan lapisan lipid lapis ganda (*lipid bilayer*). Membran luar mengandung fosfolipid yang terbatas pada lapisan dalam dari membran ini. Lapisan terluar dari membran luar tersusun dari glikolipid, utamanya Lipopolisakarida (LPS) [9].

Kemampuan membran luar untuk menyingkirkan molekul hidrofobik adalah kemampuan yang tidak biasa di antara membran biologis lainnya dan berfungsi untuk melindungi sel (dalam kasus bakteri enterik) dari zat berbahaya seperti garam empedu. Namun, membran luar memiliki saluran khusus, yang terdiri dari molekul protein yang disebut **porin** yang memungkinkan difusi pasif senyawa hidrofilik dengan berat molekul rendah seperti gula, asam amino, dan ion tertentu. Molekul antibiotik yang besar relatif lambat menembus membran luar, yang menyebabkan resistensi antibiotik menjadi relatif tinggi pada bakteri Gram negatif [8].

Porin yang umum dan nonspesifik, seperti OmpF dan OmpC dari *Escherichia coli*, membentuk homotrimer di membran luar. Trimer porin ini dibentuk oleh subunit besar monomer β -barrel yang menyempit sekitar setengah jalan melalui membran karena loop dalam (internal), loop 3 (L3). Resolusi struktur tiga dimensi *E. coli* OmpF dan *Klebsiella pneumoniae* OmpK36 telah mengarah pada identifikasi domain fungsional saluran *Enterobacter*. Pada *Enterobacter aerogenes* terdapat dua porin yang banyak dipelajari yaitu Omp35 dan Omp36 [10].

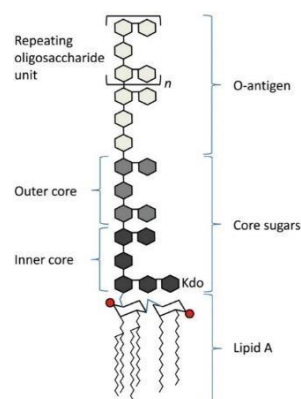
Protein membran luar TolC dan EefC dari *Enterobacter aerogenes* terlibat dalam resistensi multiobat sebagai bagian dari dua sistem effluks *resistance nodulation division* (RND). Pada *Enterobacter aerogenes* teridentifikasi dua pompa effluks obat yaitu AcrABTolC and EefABC. Bakteri Gram negatif memiliki beberapa jalur keluarnya protein dan effluks obat ke lingkungan ekstraseluler. Semua jalur membutuhkan satu atau lebih protein membran luar dimana pada sistem sekresi tipe 1 dan resistensi nodulation division (RND) pompa effluks dimiliki oleh kelompok TolC [11].

Membran luar dari bakteri Gram negatif diselubungi oleh molekul yang sangat bervariasi. Bakteri dibagi menjadi beberapa serotipe berdasarkan kombinasi antigen yang berbeda. Tiga tipe utama antigen yang ada pada permukaan sel adalah antigen O (somatik), antigen K (kapsular) dan antigen H (flagellar). Antigen ini

dapat berperan pada motilitas (antigen H), melindungi dari lingkungan yang kurang menyenangkan, interaksi dengan dan meningkatkan kemampuan membran luar untuk menopang struktur sel lingkungan (antigen K dan antigen O). Antigen K adalah kapsul, selubung pada permukaan bakteri diluar dari selubung sel. Pada umumnya, kapsul terdiri dari polisakarida dengan berat molekul tinggi kecuali beberapa yaitu K-88 dan K-99 dari *E.coli* yang merupakan antigen protein. Antigen H adalah protein antigen berdasarkan struktur flagella . Enterobacterales adalah ordo bakteri yang didefinisikan karena adanya antigen yang dikenal dengan *enterobacterial common antigen (ECA)*. ECA adalah antigen karbohidrat yang terletak pada lapisan terluar membran luar dan didalam periplasma. Walaupun *Enterobacterales* mengekspresikan antigen yang bervariasi (K,O,H), ECA merupakan antigen yang unik dan terbatas pada satu ordo dimana invarian menyebabkan adanya reaksi silang diantara anggota Enterobacterales[12]

B.1.2. Lipopolisakarida

Lipopolisakarida dari dinding sel bakteri Gram negatif tersusun dari kompleks glikolipid (disebut lipid A) yang berikatan dengan polisakarida sehingga membentuk unit ikatan berulang antara polisakarida inti, dan rantai polisakarida spesifik-O. Komponen lipid A menancap pada lapisan terluar dari membran sebagai penopang LPS[8].



Gambar 4 : Skema struktur dasar lipopolisakarida

(https://www.researchgate.net/figure/Schematic-of-the-basic-structure-of-lipopolysaccharide-LPS-consists-of-three-regions_fig1_235621135)

Lipid A adalah glikolipid yang terdiri dari disakarida glukosamin yang menempel pada rantai panjang asam lemak yang tersubstitusi ikatan beta asam hidroksimiristik. Rantai spesifik O terdiri dari rantai subunit oligosakarida identik (linear atau bercabang) dengan panjang yang bervariasi. Rantai spesifik O menentukan spesifisitas dari antigen O dari serotipe tertentu yaitu dari kehadiran gula-gula tertentu[8]

Lipopolisakarida dari membran luar dinding sel bakteri merupakan endotoksin dimana bertanggungjawab pada beberapa gambaran klinis penyakit infeksi seperti demam dan syok (terutama hipotensi). Disebut endotoksin karena merupakan bagian terintegrasi dari dinding sel bukan disekresikan oleh bakteri seperti eksotoksin [13].

B.1.3 Lipoprotein

Lipoprotein merupakan molekul yang berikatan dengan membran luar dan lapisan peptidoglikan. Lipoprotein tersusun dari 57 asam amino yang menunjukkan pengulangan urutan 15 asam amino yang berikatan dengan rantai tetrapeptide peptidoglikan. Komponen lipid mengandung digliserid thioeter yang berikatan dengan membrane luar. Lipoprotein berfungsi untuk menstabilkan membrane luar dan menopang lapisan peptidoglikan [8]

B.1.4. Ruang Periplasma

Ruang periplasma adalah ruang antara membran dalam dan membrane luar yang berisi lapisan peptidoglikan dan larutan protein seperti jel. Protein pada ruang periplasma termasuk ikatan protein pada substrat spesifik (seperti asam amino, gula, vitamin dan ion), enzim hidrolitik (contoh alkali fosfatase) yang mengurai substrat yang tidak dapat ditranspor menjadi substrat yang dapat ditranspor dan enzim detoksifikasi (beta lactamase dan aminoglikosid-fosforilase) yang menginaktifkan antibiotik tertentu [13]

B.2. Struktur dalam Sel

B.2.1 Membran Sitoplasma

Tepat didalam lapisan peptidoglikan dari dinding sel terdapat membran sitoplasma, Membran sitoplasma tersusun dari membrane fosfolipid lapis ganda (bilayer) dan beberapa protein yang melekat atau berikatana dengan permukaan membran [14]. Mebran sitoplasma pada eukariot mengandung sterol, sedangkan prokariot umumnya tidak mengandung sterol. Satu-satunya prokariot yang memiliki sterol dalam membrane sitoplasma mereka adalah anggota dari genus *Mycoplasma*[8].

Membran sitoplasma memiliki empat fungsi penting: transpor aktif molekul ke dalam sel, pembangkit energi dengan fosforilasi oksidatif, sintesis prekursor dinding sel, dan sekresi enzim dan toksin [13]. Selain itu membrane sitoplasma sebagai barrier permeabilitas yang mencegah kebocoran cairan ke dalam dan keluar sel[15].

B.2.2 Sitoplasma

Sitoplasma memiliki dua area berbeda apabila dilihat pada mikroskop elektron[13]:

- a. Matriks amorf yang mengandung ribosom, granul nutrien, metabolit dan plasmid
- b. Bagian dalam, regio nukleoid mengandung DNA

Ribosom bakteri adalah tempat sintesis protein seperti pada sel eukariotik, tetapi berbeda dari ribosom eukariotik dalam ukuran dan komposisi kimianya. Ribosom bakteri berukuran 70S, dengan subunit 50S dan 30S, sedangkan ribosom eukariot berukuran 80S, dengan subunit 60S dan 40S. Perbedaan keduanya adalah ribosom RNA dan protein merupakan dasar dari tindakan selektif beberapa antibiotik untuk menghambat sintesis protein pada bakteri, tetapi bukan pada manusia [13].

Nukleoid mengandung kromosom bakteri yang merupakan informasi yang dibutuhkan oleh struktur dan fungsi sel. Nukleoid bakteri tidak memiliki membran inti seperti pada eukariot. Bakteri juga mengandung molekul untai ganda DNA yang sirkuler disebut **Plasmid**. Satu perbedaan utama antara DNA bakteri dan DNA eukariot adalah bahwa DNA bakteri tidak memiliki intron, sedangkan eukariot memiliki Plasmid [13].

B.3 Struktur Appendik

B.3.1 Kapsul

Kapsul adalah lapisan gelatin yang menutupi seluruh bakteri. Kapsul terdiri dari polisakarida, komponen gula pada polisakarida bervariasi dari satu spesies bakteri dengan bakteri lain dan sering menentukan tipe serologi (serotipe) antar spesies. [13]. Kapsul *Enterobacter aerogenes* mengandung materi polimer ekstraseluler yaitu kompleks polisakarida yang tersusun dari glukosa, fukosa dan asam glukuronik [8].

Kapsul pada *Enterobacter aerogenes* berfungsi untuk menghindari sistem imun inang. Seperti pada bakteri Gram-negatif lainnya yaitu spesies *Klebsiella*, diselubungi oleh kapsul unit polisakarida asam yang berulang, yang dikenal sebagai K-antigen. K-antigen ini melindungi bakteri dari fagositosis oleh granulosit polimorfonuklear dan mencegah pembunuhan bakteri oleh serum antibodi dengan menghambat jalur alternatif komplemen [7]. Antigen K tertentu dikaitkan dengan virulensi, misalnya, strain yang menyimpan K:1, K:2, K:4 dan K:5 dilaporkan lebih ganas daripada jenis lain pada tikus, dan hilangnya antigen K menghasilkan penurunan virulensi [16]. Terdapat 78 antigen K berbeda di antara antigen K pada spesies *Klebsiella* yang berasosiasi dengan *Enterobacter aerogenes* terutama K:68 atau K:26. Lainnya termasuk K:42, K:59, K:11 dan virulensi terkait K:4 juga ditemui berkaitan dengan *E.aerogenes* [7].

B.3.2 Flagella

Enterobacter aerogenes memiliki flagella tipe peritrik dimana flagella ada pada seluruh permukaan sel. Flagella berbentuk panjang seperti cambuk yang digunakan untuk pergerakan bakteri ke nutrient dan zat penarik lain dengan proses yang disebut kemotaksis. Filamen panjang yang berperan seperti baling-baling tersusun dari beberapa subunit protein tunggal disebut flagellin [13].

Selain untuk pergerakan, flagella memiliki beberapa fungsi : pembentukan biofilm, ekspor protein dan adhesi. Adhesi memegang peranan penting untuk menginvasi jaringan dan memulai infeksi Terdapat penelitian menyebutkan dari 32 isolat *Enterobacter sp.* yang didapat dari infeksi saluran kemih teridentifikasi gen *fimH* (yang mengkode fimbriae tipe 1) pada 40% dari isolat[1].

Fimbria (dikenal juga sebagai pili) merupakan komponen tambahan yang digunakan bakteri untuk membantu perlekatan bakteri ke permukaan sel inang . Pili dikenal juga sebagai faktor virulensi. Interaksi perlekatan yang dimediasi oleh pili, dapat mendukung terbentuknya biofilm dan membantu kolonisasi pada sel inang. Pada *Enterobacter aerogenes*, fungsi pili pada kolonisasi bakteri di usus masih belum dapat diterangkan dengan detail. Laporan sebelumnya menginformasikan bahwa bakteri ini memiliki dua jenis fimbria yaitu fimbria tipe 1 dan fimbria hemagglutinin[17].

BAB III

FISIOLOGI *Enterobacter aerogenes*

A. PERTUMBUHAN BAKTERI

Pertumbuhan bakteri adalah proses kompleks yang melibatkan banyak reaksi anabolik dan katabolik, yang menghasilkan pembelahan sel. Peningkatan jumlah atau massa bakteri dapat diukur sebagai fungsi waktu dalam kondisi di kultur murni, di mana nutrisi dan kondisi lingkungan kita dikendalikan. Beberapa fase pertumbuhan yang berbeda dapat diamati dalam kurva pertumbuhan seperti fase lag, fase eksponensial atau log, fase diam, dan fase kematian[18].

A.1. Fase Lag

Fase pertama dalam pertumbuhan bakteri yaitu Fase Lag. Fase di mana tingkat pertumbuhan pada dasarnya nol. Ketika inokulum ditempatkan ke media segar, pertumbuhan dimulai setelah periode waktu tertentu. Fase lag ditandai dengan terjadinya peningkatan komponen makromolekul, aktivitas metabolik, dan kerentanan terhadap zat kimia dan faktor fisik.

Fase lag diduga karena adaptasi fisiologis sel terhadap kondisi kultur. Ini mungkin melibatkan waktu yang dibutuhkan untuk menginduksi RNA (mRNA) dan sintesis protein dalam memenuhi kebutuhan saat kultur. Fase lag juga mungkin disebabkan oleh rendahnya kepadatan organisme pada saat awal yang

mengakibatkan dilusi eksoenzim (enzim lepas dari sel) dan nutrisi yang bocor dari sel yang sedang tumbuh[18].

A.2 Fase Eksponensial

Fase eksponensial dikarakteristikan dengan periode pertumbuhan eksponensial yaitu pertumbuhan yang paling cepat di bawah kondisi yang ada dalam media pertumbuhan. Selama pertumbuhan eksponensial, laju pertambahan sel dalam kultur, sebanding dengan jumlah sel yang ada pada waktu tertentu. Ada beberapa cara untuk mengutarakan konsep tersebut baik secara teoritis maupun matematis. Salah satu caranya adalah menggambarkan bahwa selama pertumbuhan jumlah sel meningkat secara eksponensial dalam perkembangan geometris 2^0 , 2^1 , 2^2 , 2^3 sampai setelah n pembelahan jumlah sel adalah 2^n .

A.3. Fase Stasioner

Fase ketiga adalah fase pertumbuhan stasioner fase stasioner, dimana terjadi akumulasi produk limbah, nutrisi yang terbatas, pH yang berubah, dan faktor-faktor lain yang menyebabkan penurunan kecepatan pertumbuhan. Terdapat beberapa alasan mengapa mengalami fase stasioner ini. Penyebab utama adalah sumber energi dan karbon telah habis digunakan. Ketika semua sumber karbon digunakan, tidak serta merta menyebabkan bakteri mati. Hal ini dikarenakan sel yang telah mati dapat lisis dan menyediakan sumber nutrisi. Pertumbuhan karena adanya sel mati disebut metabolisme endogen. Metabolisme endogen terjadi pada seluruh siklus pertumbuhan, tetapi dapat diamati dengan baik selama fase stasioner dimana pertumbuhan diukur saat uptake oksigen atau evolusi karbon dioksida[18].

A.4. Fase kematian

Fase terakhir pada kurva pertumbuhan bakteri adalah fase kematian dimana dikarakteristikan dengan hilangnya sel-sel yang dikultur. Pada fase ini terjadi penurunan populasi, dimana medium kultur akan kehabisan nutrisi dan populasi bakteri yang ada di dalamnya akan menurun. Walaupun pada fase kematian ini mungkin masih ada beberapa sel tunggal bakteri yang bermetabolisme dan membelah, tetapi sel utuh (viable) hilang. Fase kematian biasanya eksponensial, walaupun kecepatan kematian sel biasanya lebih lambat dibanding dengan kecepatan pertumbuhan selama fase eksponensial[18].

Enterobacter aerogenes dapat tumbuh dalam berbagai media cair dan padat antara suhu 28°C - 42°C. *Enterobacter aerogenes* yang telah terisolasi dari lingkungan luar dapat tumbuh optimal antar suhu 20°C - 30°C dan 18°C bila ditanam pada media yang disterilkan. Sedangkan pada isolat klinis dapat tumbuh secara optimal pada suhu 37°C [7].

Media standar untuk isolasi pertumbuhan *Enterobacteriaceae* dapat digunakan untuk menumbuhkan *Enterobacter aerogenes*, tetapi tidak dapat digunakan untuk menentukan spesies *Enterobacter aerogenes*. *Enterobacter aerogenes* dapat tumbuh pada media agar Eosin Methylene Blue dan agar MacConkey.

Waktu generasi adalah banyaknya waktu yang dibutuhkan bagi sel untuk membelah diri untuk populasi menjadi dua kali lipat. Semua spesies tidak

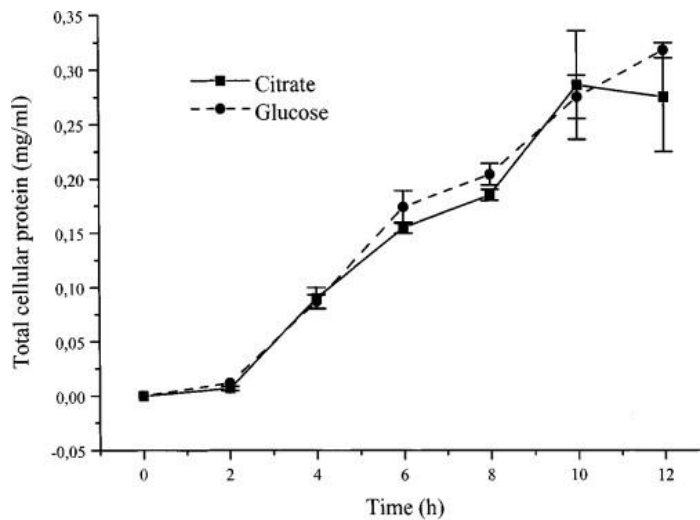
mempunyai waktu generasi yang sama. *Escherichia coli* mempunyai waktu generasi 15 - 20 menit. Pada bakteri *Enterobacter aerogenes* waktu generasi berkisar 30 menit [19].

Pada air laut, kelangsungan hidup *Enterobacter aerogenes* dibatasi oleh pH tinggi ($\geq 7,5$ dengan salinitas lebih besar dari 3%). *Enterobacter aerogenes* memiliki kapasitas untuk bertahan hidup di lingkungan walaupun pada suhu sepanjang tahun mendekati 0 °C [7].

B. NUTRISI BAKTERI

Bakteri sama dengan makhluk hidup lainnya, memerlukan suplai nutrisi sebagai sumber energi dan pertumbuhan selnya. Unsur-unsur dasar tersebut adalah : karbon, nitrogen, hidrogen, oksigen, sulfur, fosfor, zat besi dan sejumlah kecil logam lainnya (Na, Ca, Mg, Zn, Pb, dan Co). Ketiadaan atau kekurangan sumber-sumber nutrisi ini dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroba hingga pada akhirnya dapat menyebabkan kematian. Sumber karbon dan nitrogen merupakan nutrisi yang paling utama untuk pembentukan L-asparaginase pada bakteri *Enterobacter aerogenes*. L-asparaginase akhir-akhir ini mendapat perhatian karena kegunaannya untuk pengobatan beberapa macam kanker[20].

Nutrien-nutrien ini dapat masuk ke dalam sel bakteri melalui beberapa cara, yaitu. 1) Difusi pasif dimana nutrisi dapat masuk dari konsentrasi yang lebih tinggi ke konsentrasi yang lebih rendah. 2) Difusi dipercepat dimana nutrisi dapat masuk dari konsentrasi tinggi ke konsentrasi rendah, yang mana kecepatan pergerakan molekul lebih tinggi dibandingkan dengan proses difusi pasif. Kecepatan pergerakan molekul ini disebabkan proses pergerakannya dibantu oleh protein pada membran sel yang disebut permease. Molekul solut bergabung secara reversibel dengan molekul penghantar (porter). 3) Transport aktif dimana nutrisi bergerak dari konsentrasi rendah ke konsentrasi tinggi. Dalam proses ini, dibutuhkan enzim permease dan energi untuk membantu kerja enzim tersebut. Sebagai contoh adalah masuknya laktosa ke dalam sel, sehingga afinitas permease terhadap laktosa di luar sel lebih tinggi daripada di dalam sel [8].



Gambar 5. Efek glukosa dan sitrat sebagai sumber karbon dalam proses pertumbuhan (pembentukan protein seluler) pada *Enterobacter aerogenes* [20].

C. KARAKTERISTIK BIOKIMIA

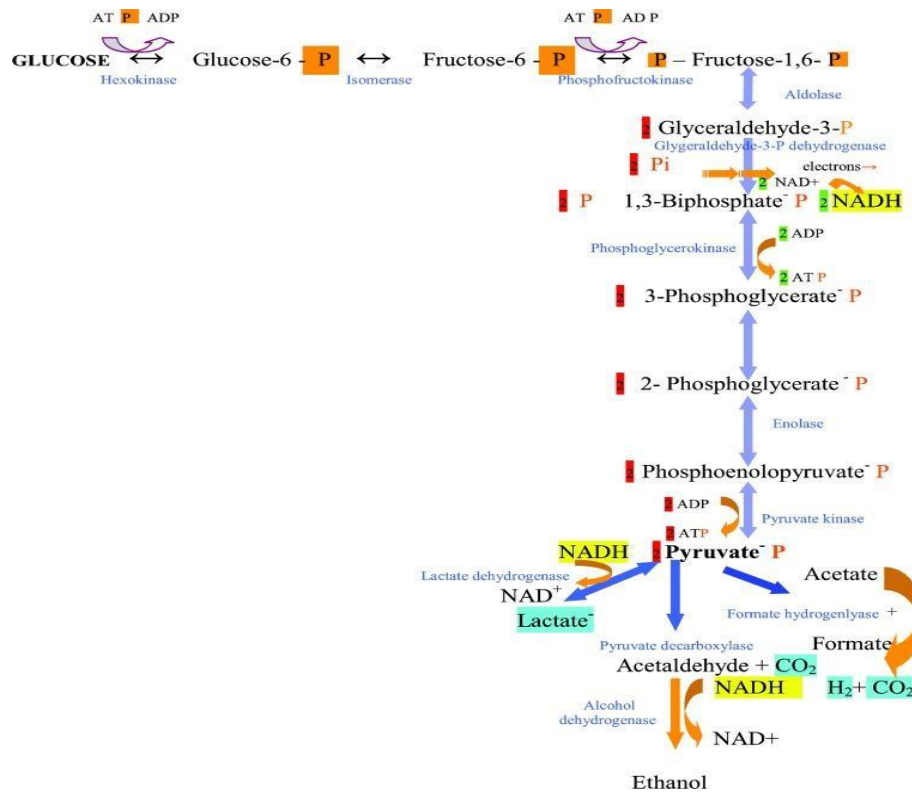
Enterobacter aerogenes adalah bakteri fakultatif anaerob yang menghasilkan hidrogen secara fermentasi mirip dengan *Escherichia coli* dan memiliki kecepatan evolusi hidrogen yang tinggi. Selain itu, *Enterobacter aerogenes* tumbuh dengan cepat selama fermentasi gelap. Fermentasi gelap adalah jenis produksi biologis hidrogen yang dilakukan oleh bakteri obligat anaerob dan fakultatif anaerob tanpa adanya cahaya dan oksigen melalui jalur asidogenik. *Enterobacterium* ini dapat menghasilkan hidrogen menggunakan berbagai macam sumber karbon seperti: limbah pertanian, limbah organik industri, atau kombinasi limbah. *Enterobacter aerogenes* adalah dianggap sebagai strain ideal untuk produksi biohidrogen skala besar. Oleh karena itu, perlu untuk memahami jalur metabolisme untuk menghasilkan hidrogen pada *Enterobacter aerogenes* [21].

Pada *Enterobacter aerogenes*, terdapat dua jalur metabolisme untuk memproduksi hidrogen. Jalur yang pertama adalah jalur format, yang didasarkan pada dekomposisi formate dimediasi oleh sistem *formate hidrogen liase* (FHL). Hasil maksimum hidrogen $2 \text{ mol}^2 / \text{mol}$ glukosa. Diketahui bahwa hasil hidrogen melalui jalur format dapat ditingkatkan dengan manipulasi genetik dari sistem FHL.

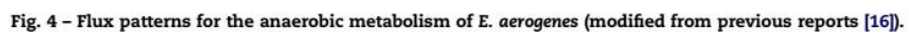
Jalur lainnya adalah jalur NADH, yang dapat diatur dengan mengubah keadaan reduksi intraseluler, dengan menambahkan NADH atau NAD⁺ eksternal, memblokir jalur apapun yang akan bersaing untuk penggunaan NADH, atau mengubah rasio NADH:NAD⁺ selama produksi hidrogen [21].

Reaksi Fermentasi berbeda dengan respirasi dalam mekanisme pembentukan ATP. Pada fermentasi, ATP diproduksi dengan fosforilasi level substrat. Pada proses ini, ATP disintesis secara langsung dari intermediet kaya energi selama proses katabolisme pada komponen yang dapat difermentasi. Tidak semua komponen dapat di fermentasi, contohnya asam lemak dimana sulit untuk direduksi, tetapi banyak komponen yang dapat di fermentasi antara lain gula (terutama hexose) seperti glukosa. Jalur untuk memfermentasi glukosa biasa disebut Glikolisis atau dapat juga disebut jalur *Embden-Meyerhof* . Glikolisis adalah proses anaerob yang dapat dibagi menjadi tiga langkah dimana masing-masing langkah melibatkan reaksi enzimatik. Langkah I adalah reaksi persiapan dimana bukan merupakan reaksi redoks (reduksi) dan tidak mengeluarkan energi tetapi menghasilkan dua molekul yang merupakan kunci intermediet yaitu gliseraldehid 3-fosfat dari glukosa. Pada langkah II reaksi reduksi terjadi dimana

energi dikonversi dalam bentuk ATP dan dua molekul piruvat terbentuk. Langkah III terjadi reaksi reduksi kembali dan produk fermentasi terbentuk [14]



Gambar 6: Glikolisis (jalur Embden-Meyerhof). Urutan reaksi enzimatik dalam konversi glukosa menjadi piruvat dan akhirnya, menjadi produk fermentasi. Pada gambar diatas huruf yang berwarna biru, adalah enzim yang terlibat. Yang di tandai atau di tebalkan warna adalah komponen yang dipertukarkan antara reaksi oksidasi atau reduksi. Jumlah molekul yang dihasilkan ditandai dengan warna merah [22].



Enterobacter aerogenes dapat menghasilkan titer 2,3-BD . yang tinggi dari banyak sumber karbon yang berbeda dan menghasilkan gas fermentasi serta produk samping yang dapat larut. Laktat adalah produk samping yang utama selama proses fermentasi anaerob *E. aerogenes*. Apabila memblokir jalur sintesis laktat dapat meningkatkan hasil 2,3-BD karena kompetisi mereka untuk NADH sebagai kofaktor dan piruvat sebagai prekursor [23].

20

Jalur metabolisme Gliserol pada *Enterobacter aerogenes* belum dapat ditentukan secara pasti. Akan tetapi telah banyak dilakukan studi pada bakteri dengan kedekatan filogenetik terhadap *Enterobacter aerogenes* yaitu *Klebsiella pneumoniae* dan *Enterobacter agglomerans*. Gliserol diambil melalui difusi dan dimetabolisme melalui dua jalur paralel. Jalur pertama, gliserol dikonversi menjadi dihidroksiaseton (DHA) by NAD^+ - berikatan dengan gliserol dehidrogenase (GDH) dan DHA di fosforilasi menjadi DHA fosfat (DHAP) yang kemudian dapat masuk kedalam proses glikolisis lewat enzim *ATP-dependent DHA kinase (DHAK)*. Pada jalur kedua, gliserol terdehidrasi menjadi 3-hidroksipropionaldehid (3-HPA) oleh gliserol dehidratase, dan 3-HPA dikonversi menjadi 1,3-propanediol (1,3-PD) oleh NADH -yang berikatan 1,3-PD oksidoreduktase. NAD^+ yang direduksi oleh GDH pada jalur pertama kemudian di reoksidasi oleh 1,3-PD oksidoreduktase pada jalur kedua. Jalur lain metabolisme gliserol dikenal di *Escherichia coli*. Dalam jalurnya, gliserol kinase (GK) yang bergantung pada ATP memfosforilasi gliserol menjadi sn-gliserol 3- fosfat (G3P), dan kemudian G3P diubah menjadi DHAP oleh anaerobic G3P dehidrogenase (G3PDH) dalam kondisi anaerobik. Enzim Gliserol kinase, mengikuti umpan balik penghambatan oleh fruktosa-1,6-difosfat [24].

Tabel 1. Perbandingan karakteristik *Enterobacter aerogenes* dan *Enterobacteriaceae* lainnya

Karakteristik	<i>E. aerogenes</i> strain ATCC 13048	<i>E. aerogenes</i> / <i>K. mobilis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Klebsiella terrigena</i>	<i>Enterobacter cloacae</i> complex
Motilitas	+	+	-	-	V
Gluconate dehydrogenase	+	+	V	+	-
Lysine decarboxylase	+	+	V	+	-
Ornithine decarboxylase	+	+	-	-	+
Urea hydrolyse	-	-	V	+	-

Tabel diatas menunjukan karakteristik biokimia pada *Enterobacter aerogenes* dan *Enterobacteriaceae* spesies lain. Tanda + mengindikasikan reaksi positif, tanda - mengindikasikan negative dan v mengindikasikan variasi antar strain. Pada *Enterobacter aerogenes* strain ATCC 13048 ,tes dilakukan ole Biro Ilmu Kesehatan dan Penelitian Canada. Bakteri *Enterobacter aerogenes* merupakan bakteri motil dan pada beberapa tes biokimia akan menunjukan hasil positif karena menghasilkan substansi biokimia seperti Glukonat dehydrogenase, Lysine dekarboksilase dan ornitin dekarboksilase. Bakteri ini tidak menghasilkan urea hydrolase [7].

D. Pengaruh Lingkungan

Spesies *Enterobacter* ada di mana-mana dan ditemukan di laut, di perairan tawar, limbah, tanah dan tanaman *Enterobacter aerogenes* telah diisolasi dari berbagai hewan vertebra di daratan dan perairan. Mereka juga ditemukan pada permukaan mukosa hewan. *Enterobacter aerogenes* adalah bagian dari flora normal saluran cerna manusia dan kulit [7, 25].

Suhu merupakan faktor lingkungan terpenting bagi kelangsungan hidup bakteri. Bakteri hidup dalam kisaran suhu tertentu. Kondisi suhu lingkungan yang keluar dari kisaran akan menyebabkan pertumbuhan bakteri terhambat dan mati. Suhu berpengaruh terhadap aktivitas anzim. Suhu yang terlalu rendah dapat menyebabkan aktivitas enzim menurun, sedangkan jika suhu terlalu tinggi maka dapat mendenaturasi protein enzim. pH juga dapat mempengaruhi aktivitas enzim. Enzim akan mengkatalis reaksi lebih cepat pada pH optimum. pH optimum bagi sebagian besar bakteri adalah antara 6,5 dan 7,5. Terdapat juga mikroorganisme yang tumbuh pada keadaan yang sangat asam atau alkali .

Cahaya sangat berpengaruh pada proses pertumbuhan bakteri. Cahaya dapat merusak sel bakteri yang tidak berklorofil. Sinar ultraviolet (UV) yang dapat membunuh bakteri memiliki panjang gelombang 210-300 nm. Asam nukleat merupakan komponen sel yang dapat menyerap sinar UV. Sel yang terpapar akan mengalami ionisasi sehingga mengakibatkan kerusakan, terhambatnya pertumbuhan atau menyebabkan kematian. Bakteri memerlukan kelembaban yang

cukup tinggi, yaitu sekitar 85%. Pengurangan kadar air dari protoplasma menyebabkan kegiatan metabolisme terhenti, misalnya pada proses pembekuan dan pengeringan

Berdasarkan kebutuhannya terhadap oksigen, bakteri *Enterobacter aerogenes* merupakan bakteri fakultatif anaerob. Fakultatif anaerob adalah organisme yang dapat bertahan hidup dengan adanya oksigen dan dapat menggunakan oksigen dalam respirasi aerobik, tetapi juga dapat bertahan hidup tanpa oksigen melalui fermentasi atau respirasi anaerobik.

Di air laut, kelangsungan hidup *Enterobacter aerogenes* terbatas oleh pH tinggi ($\geq 7,5$) dan salinitas lebih besar dari 3%. Bakteri ini tumbuh optimum pada suhu 37 °C (mesofilik) tetapi didapatkan memiliki kemampuan juga untuk bertahan hidup di lingkungan di mana suhu sepanjang tahun tetap mendekati 0 °C. Hal ini menunjukkan bahwa *Enterobacter aerogenes* dapat bertahan hidup di musim dingin. Dalam ekosistem tanah dan laut, *Enterobacter aerogenes* sering menjadi mangsa yang disukai dari berbagai bakteri tetapi berhasil mempertahankan keberadaannya di lingkungan. Secara keseluruhan, mengingat keberadaan spesiesnya ada di mana-mana, kemungkinan strain ini mampu bertahan untuk waktu yang cukup lama di tanah dan media lain bahkan jika tidak terjadi proliferasi [7].

Bakteri memiliki respon untuk bertahan hidup apabila berada pada lingkungan dengan nutrisi yang kurang. Glikogen memiliki peran dalam kelangsungan hidup dari bakteri. Beberapa strain *Enterobacter aerogenes* yang tidak memiliki glikogen dibandingkan dengan strain yang memiliki glikogen dalam hal viabilitasnya dalam media yang tidak memiliki sumber karbon eksogen. Dari perbandingan tersebut, tampak bahwa kelangsungan hidup lebih lama pada strain yang mengandung glikogen. Hal ini menunjukkan bahwa dalam keadaan kekurangan nutrisi, sel enterik yg kurang mengandung glikogen mendegradasi RNA nya dan konstituen protein lainnya menjadi NH₃ dimana hal tersebut tidak terjadi pada sel yang mengandung glikogen. Dapat disimpulkan bahwa ketika glikogen tersedia, glikogen digunakan sebagai sumber energi meminimalkan degradasi RNA dan protein dalam memproduksi energi [26]

Kemampuan bakteri *Enterobacter aerogenes* untuk bertahan terhadap stress lingkungan disebabkan karena adanya mekanisme sinyal ekspresi gen untuk beradaptasi pada kondisi yang kurang menyenangkan. Pada kondisi kultur yang lama (matur), nutrisi akan berkurang dan terjadi akumulasi metabolit. Ekspresi dari gen yang berkaitan dengan stress sangat penting terutama selama transisi fase stasioner karena keterbatasan nutrisi dan adanya stress oksidasi. Gen protein penghambat translasi yaitu protein RaiA diinduksi selama fase stasioner, suhu dingin dan terbatasnya sumber nitrogen. Gen untuk respon stress diregulasi dua protein yaitu uspA dan uspB. UspA telah terbukti meningkat dalam menanggapi berbagai kondisi stress seperti kekurangan karbon, nitrogen, fosfat dan asam amino. UspB ditranskripsikan dalam kondisi stress termasuk kelaparan dan diperlukan untuk mentoleransi etanol pada fase stasioner [17].

BAB IV. GENETIKA *Enterobacter aerogenes*

A. GENOM *Enterobacter aerogenes*

Genom merupakan tempat penyimpanan materi atau informasi genetik. Genom mengandung keseluruhan genetik DNA dengan urutan spesifik nukleotida yang mengkode molekul RNA atau polipeptida. Semua organisme hidup mengandung DNA. DNA mengkode semua informasi yang diperlukan untuk memprogram aktivitas sel termasuk reproduksi, metabolisme, dan fungsi khusus lainnya[27].

DNA terdiri dari dua untai deoksinukleotida. Setiap deoksinukleotida mengandung fosfat, gula 5-karbon (2-deoksiribosa) dan salah satu dari empat basa nitrogen: adenin, sitosin, timin atau guanin. Fosfat dan gula membentuk tulang punggung setiap untai DNA, sedangkan basa bertanggung jawab untuk menyatukan kedua untai melalui ikatan hidrogen dalam struktur yang disebut heliks ganda. Urutan basa dalam untai DNA berisi informasi genetik yang dikodekan. Dengan mempelajari genom bakteri kita dapat lebih memahami kemampuan metabolisme mereka, kemampuan mereka untuk menyebabkan penyakit dan juga kapasitas mereka untuk bertahan hidup di lingkungan yang ekstrim [27].

Genom *Enterobacter aerogenes* G7 (EAG7) mencakup kromosom 5.452.368 bp dengan kandungan GC (Guaninin Sitosin) 54,92% dan 2 plasmid: plasmid besar berukuran 174.066 bp (pGPN1) dan plasmid kecil berukuran 25.284 bp (pGPN2) yang kemungkinan identik dengan pNJS258C2 pada isolat klinis *K. Pneumoniae* yang resisten terhadap karbapenem. Kedua plasmid ini hadir di semua sekuens strain dan mengandung beberapa penanda resistensi antibiotik, termasuk blaTEM-24 pada pGPN1. Isolat P2 hingga P5 memiliki plasmid ketiga sebesar 34.826 bp yang serupa untuk pN-Cit yang ditemukan pada strain CFSTE *Citrobacter freundii*.

Kandungan G+C kromosom *Enterobacter aerogenes* G7 adalah 54,92%, sesuai dengan nilai yang dilaporkan sebelumnya untuk strain KCTC2190 yaitu 54,8% dan strain EA1509E yaitu 55%. Ada 8 operon ribosom dan 88 RNA transfer (tRNA) yang diidentifikasi dalam EAG7, dengan 87 tRNA spesifik untuk biosintesis semua 20 asam amino standar dan 1 tRNA untuk biosintesis selenomethionine, yang identik pada strain EA1509E tetapi berbeda dari KCTC2190 yang membawa total 109 struktur RNA. Kromosom *Enterobacter aerogenes*G7 juga mengandung empat profag utuh, yang berbeda dari genom *Enterobacter aerogenes*KCTC2190, empat elemen IS, dan satu ICE [28].

B. REGULASI DAN EKSPRESI GEN

Ekspresi gen adalah tahap memproses informasi genetik yang terdapat dalam kromosom, plasmid dan transposon yang menghasilkan RNA dan protein. Secara umum ekspresi gen terdiri dari dua tahap yaitu transkripsi dan translasi [29].

B.1. Transkripsi

Ekspresi gen dimulai dengan proses transkripsi. Pada saat transkripsi, urutan gen (DNA *base sequence*) diubah menjadi molekul mRNA yang merupakan komplemen gen urutan DNA. Transkripsi dapat diartikan sebagai *single strand RNA* yang identik dengan salah satu untai dari DNA untai ganda. Biasanya hanya satu dari dua untai ganda DNA mengkode sebuah produk gen yang fungsional. Proses transkripsi menghasilkan mRNA, tRNA dan rRNA. Pada mRNA berfungsi

untuk membawa materi genetik pada sintesis protein yang diperlukan untuk inisiasi sintesis polipeptida, Menyusun urutan asam amino dalam polipeptida, terminasi sintesis polipeptida. Pada tRNA berfungsi sebagai adaptor untuk translasi informasi urutan mRNA menjadi rangkaian spesifik asam amino sehingga memerlukan pengenalan kodon (dalam mRNA) oleh anticodon (tRNA). Sedangkan rRNA merupakan suatu nukleoprotein sitoplasma yang mempunyai peranan structural di ribosom yang membantu dalam pengikatan dan penerjemahan mRNA di ribosom.

B.2. Translasi

Translasi adalah proses penyusunan peptide yaitu suatu sekuen asam amino yang merupakan penyusun protein, dengan mRNA sebagai cetakan [14]. Translasi melibatkan proses sintesis protein. tidak seluruh mRNA ditranslasi contohnya stop kodon yang diperlukan untuk menghentikan translasi.

Fungsi gen dapat diekspresikan dalam bentuk protein dan RNA. Pengaturan ekspresi gen dapat melalui permulaan transkripsi atau terminasi; RNA hasil transkripsi dan pada awal atau terminal translasi. Pada permulaan transkripsi atau terminasi dimana pada tahap ini pengaturan kontrol yang banyak terjadi adalah pada awal transkripsi contohnya pengaturan ekspresi gen oleh *laac-operon* yaitu urutan gen yang berfungsi mengontrol sintesis protein sebagai ekspresi gen [30].

Regulasi ekspresi gen pada *Enterobacter aerogenes* berfungsi untuk mempercepat adaptasi bakteri terhadap stress lingkungan. Regulasi ini melibatkan operon RAmA yang tidak didapatkan pada *Escherichia coli*. Regulator dari Operon RamA berperan penting baik secara langsung atau tidak langsung melalui operon Mar dimana dapat mengontrol ekspresi porin dan kompleks effluks RND. Selain itu dapat melengkapi atau berkaitan dengan kaskade regulasi regulator global lainnya yaitu SoxS atau Rob. Kaskade regulasi ini terlibat pada saat kolonisasi, virulensi, resistensi, perubahan fisiologis lainnya sebagai respon terhadap adanya stress lingkungan. Kemampuan beradaptasi ini menjadikan *Enterobacter* masuk dalam patogen ESKAPE [31].

C. TRANSFER GEN HORIZONTAL

Transfer gen horizontal (HGT) adalah perpindahan informasi genetik antar organisme dimana DNA dapat berpindah secara stabil kedalam resipien (penerima) dan mengubah komposisi genetiknya secara permanen [32]. Hal ini berbeda dengan pewarisan gen orang tua yang disebut pewarisan vertikal. Terdapat empat mekanisme umum yang memediasi perpindahan DNA yaitu:

1. Konjugasi

Konjugasi memerlukan kontak langsung sel donor dan sel penerima yang akan mentransfer untai tunggal dari DNA. Sel penerima akan melengkapi struktur untai ganda DNA dengan mensintesis rantai DNA tunggal untuk melengkapi untai tunggal pada DNA dari sel donor [8].

Plasmid adalah elemen genetik ekstrakromosom yang paling sering dipindahkan dengan cara konjugasi [29]. Pada gambar diatas menunjukkan mekanisme transfer DNA selama konjugasi. Sel donor memiliki seks pili yang dikode oleh plasmid (plasmid F) yang berperan sebagai jalan lewatnya DNA ke sel penerima yang potensial dan tidak memiliki plasmid. Retraksi pilus menyebabkan kedua sel semakin dekat dan membentuk pori-pori pada membrane sel yang berdampingan. Pembentukan “mating pairs” memberikan sinyal kepada plasmid untuk untai ujung 5’rantai tunggal yang kemudian ditransferkan ke resipien melalui pori-pori. Replikasi untai tunggal dimulai dengan mekanisme primer RNA. Kedua sel kemudian mengandung plasmid untai ganda dan “mating pairs” terpisah [8].

2. Transduksi

Transduksi merupakan transfer DNA bakteri ke bakteri lain dengan perantara bakterifaga (spesies virus dari bakteri) tertentu. DNA dari plasmid masuk ke dalam genom bakteriofaga dan oleh bakteriofaga tersebut plasmid tadi ditransfer ke populasi kuman lain di sekitarnya. Transduksi ini biasanya terjadi pada kuman positif

Gram seperti Stafilokokus, tetapi diketahui dapat pula terjadi pada Salmonella [6].

3. Transformasi

Proses transfer materi genetik dapat secara transformasi dimana melibatkan masuknya DNA bebas kedalam sel kompeten bakteri yang mengakibatkan perubahan genotipe. Bakteri yang dapat mengalami proses transformasi ini dapat secara alami atau buatan. Bakteri kompeten alami dipengaruhi oleh fase eksponensial sebagai contoh *Neisseria gonorrhea*. Sedangkan Bakteri kompeten buatan dimana proses ini diinduksi di laboratorium dengan perlakuan seperti pemberian tinggi garam, syok temperatur atau pemberian zat kimia contohnya adalah *E.coli* dengan terlebih dahulu dicuci dengan kalsium klorida [8].

4. Transposisi

Transposisi adalah pemindahan dari rantai DNA pendek (hanya beberapa sekuens saja antara satu plasmid ke plasmid lain, atau dari kromosom ke plasmid dalam sel tersebut yang diperantarai oleh *Transposom I transposable Element (Tn)* atau *Insertion Sequence* [6].

D. MUTASI GEN

Mutasi diartikan sebagai perubahan dalam urutan nukleotida pada regio pendek suatu gen. Mutasi meliputi substitusi basa, penghapusan (delesi) basa, penyisipan (basa), dan penataan ulang. Substitusi dasar dapat muncul sebagai konsekuensi dari mispairing (kesalahan pasangan) antara basa komplementer selama replikasi. Penyisipan dan penghapusan basa merupakan satu atau dua pasangan basa yang berdekatan disisipkan kedalam atau dihilangkan dari struktur DNA. Penyusunan ulang (*rearrangement*) adalah hasil dari penghapusan basa yang menghapus sebagian besar gen atau bahkan beberapa set gen. penghapusan yang besar ini melibatkan rekombinasi antara urutan pengulangan secara langsung (misal elemen IS) yang mana penghapusan ini tidak dapat kembali seperti semula [33].

C.1. Mutasi Spontan

Mutasi spontan terjadi tanpa adanya induksi mutasi dan merupakan hasil dari kesalahan selama replikasi DNA. Ketika DNA Pol III mensintesis untai DNA baru, terkadang nukleotida akan salah berpasangan, ditambahkan, atau dihilangkan. Penambahan atau penghapusan yang terjadi dapat menghasilkan genomik sebagai berikut :

- a. Mutasi *Silent* : Mutasi mengubah kodon asli menjadi kodon lain yang mengkode asam amino yang sama
- b. Mutasi *Missense* (salah makna) : mutasi pada urutan DNA menyebabkan kodon mengkode asam amino yang berbeda
- c. Mutasi *Nonsense* (tanpa arti) : kodon tanpa makna bisa muncul dan menyebabkan terhentinya translasi dan menghasilkan protein pendek (terpotong ditempat mutasi).
- d. Mutasi pergeseran kerangka (*Frameshift*) : Mutasi pergeseran kerangka merupakan suatu mutasi penekan. Pergeseran urutan pengkodean di hilir mutasi

C.2. Mutasi Induksi

Mutagen mungkin berasal dari fisik, kimia, atau biologis. Sebagian besar mereka bertindak pada DNA secara langsung, menyebabkan kerusakan, yang dapat mengakibatkan kesalahan selama replikasi. DNA yang rusak parah dapat mencegah replikasi dan menyebabkan kematian sel tersebut dengan mekanisme SOS. SOS adalah contoh respon seluler terhadap kerusakan DNA yang mengakibatkan penghentian siklus sel dan induksi mutagenesis. *Rec A* menginduksi respon SOS dengan mengenali DNA untai tunggal dan mengaktifkan DNA polimerase mutagenik.

Transfer gen Horizontal dan mutasi gen merupakan penyebab terjadinya peningkatan patogenitas dari bakteri *Enterobacter aerogenes*. *Enterobacter spp.*, termasuk *Enterobacter aerogenes* merupakan anggota kelompok bakteri patogen ESKAPE. ESKAPE yaitu bakteri patogen yang signifikan pada manusia terdiri dari

Enterococcus faecium, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Enterobacter* sp. ESKAPE merupakan penyebab utama infeksi nosokomial pada seluruh dunia. Kebanyakan dari bakteri tersebut adalah isolat resisten multiobat sehingga menjadi tantangan terbesar dalam praktek klinis sehari-hari [34]. *Enterobacter* sp. semakin banyak disebutkan terkait dengan resistensi multiobat (MDR), termasuk resistensi terhadap Karbapenem. *Enterobacter* sp. adalah *Enterobacteriaceae* karpabemen resisten (CRE) kedua yang paling umum di Amerika Serikat [35].

Beberapa mekanisme telah menjelaskan terjadinya resisten multiobat (MDR) pada *Enterobacter aerogenes* termasuk resistensi terhadap karbapenem. Resistensi terhadap β -laktam terutama disebabkan oleh degradasi enzimatis oleh sefalosporinase dan β -laktamase spektrum luas yang dimediasi oleh plasmid. Baru-baru ini juga diperoleh karbapenemase yang menyebabkan resisten β -laktam. Perubahan dalam selubung sel bakteri juga merupakan kontributor utama untuk tingginya tingkat resistensi terhadap β -laktam, termasuk antibiotik karbapenem dan antibiotik lainnya seperti fluoroquinolone. Perubahan ini juga karena adanya modifikasi kualitatif dari porin membran luar bakteri dan peningkatan kadar pompa effluks. Mutasi juga terjadi pada porin yang menyebabkan perubahan bentuk di daerah lubang dari lumen (*eyelet*) Omp36 (*OmpC like porin* pada *Enterobacter aerogenes*) sehingga mengganggu difusi β -laktam [31].

Dalam *Enterobacteriaceae*, MDR dikendalikan oleh beberapa gen pengatur dan faktor eksternal. Gen MarA, RamA, dan SoxS adalah beberapa gen pengatur MDR yang telah dipelajari dengan baik. Beberapa mutasi telah diidentifikasi pada marRAB, ramAR atau soxRS pada isolat klinis dan terkait dengan MDR. Jalur regulasi utama ini saling berhubungan dan berfungsi mengatur ekspresi protein effluks dan menurunkan ekspresi porin. Selain itu, MDR juga dapat diinduksi oleh antibiotik yang digunakan secara klinis seperti imipenem. Fenomena ini telah diamati secara *in vitro*, ketika bakteri ditumbuhkan dalam konsentrasi obat imipenem yang meningkat dan secara *in vivo* selama pengobatan antibiotik pada

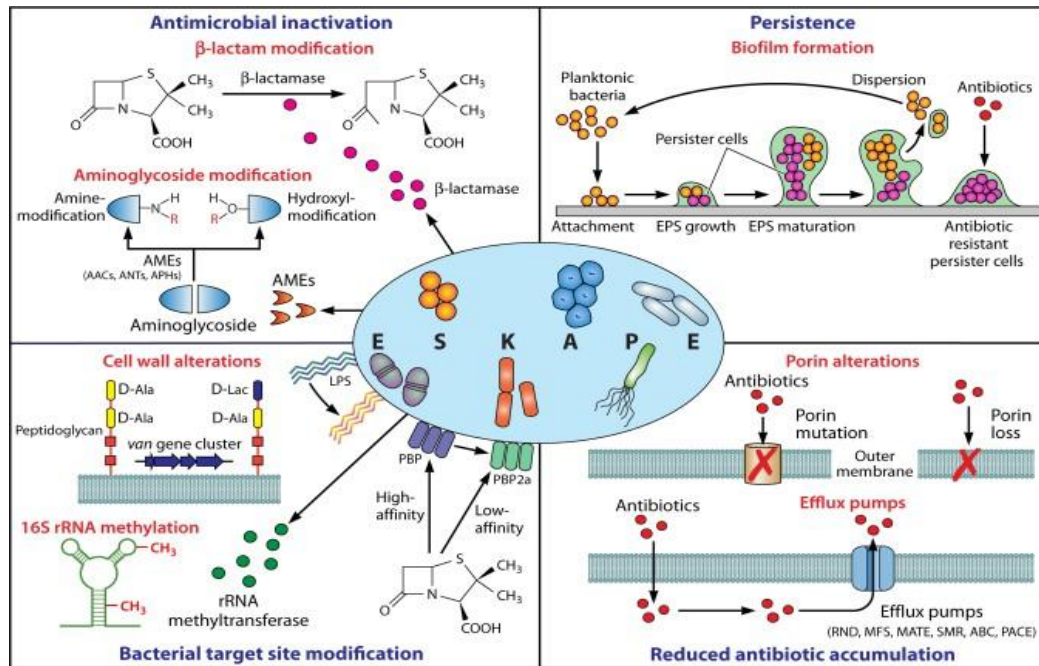
pasien yang terinfeksi dimana ditemukan terjadinya resistensi terhadap imipenem. Hal ini disebabkan adanya respon adaptif terhadap imipenem yang mengubah ekspresi porin termasuk pergeseran ekspresi porin dan berkurangnya porin. Imipenem dan efektor lain mungkin bertindak dengan mengaktifkan regulator MDR seperti: MarA atau RamA [28, 36].

Simbol Gen	Karakteristik/fungsi gen
ampC	B-laktamase, degradasi agen antimikroba (penisilin dan sefalosporin)
ampD	N-asetilmuramoyl-L-alanine amidase, regulasi ekspresi ampC

Tabel 2. Gen yang terlibat pada netralisasi antibiotik [7].

Simbol Gen	Karakteristik/fungsi gen
marA	Aktivator transkripsi marB
marB	Pompa resisten multiple antibiotik, efluks agen multipel antibiotic
acrA	Activator transkripsi acrB
acrB	Pompa efluks multiobat, efluks agen multiple antimikroba
acrR	Represor transkripsi pada pompa efflux multiobat acrB
tolC	Sekresi tipe 1 dari protein membrane luar, efluks agen multipel antimikroba

Tabel 3. gen yang terlibat terhadap resistensi antibiotik pada genom strain *Enterobacter aerogenes* ATCC13048 [7].



Gambar 8. Mekanisme yang Memfasilitasi Bakteri Patogen ESKAPE menjadi resisten antibiotik dibagi menjadi empat kelompok: inaktivasi yang dimediasi oleh enzim, modifikasi lokasi target bakteri, penurunan akumulasi antibiotik melalui mutasi atau hilangnya saluran membrane luar dan persisrensi melalui pembentukan biofilm pada sel [37].

Resistensi *Enterobacter sp.* terhadap kolistin mulai muncul, meskipun tingkat resistensinya relatif rendah diseluruh dunia. Kolistin merupakan peptida antimikroba polikationik yang sering direkomendasikan sebagai pilihan terapi lini terakhir karena adanya peningkatan resistensi multiobat dan resistensi karbapenem pada patogen Gram-negatif termasuk *Enterobacter aerogenes*. Munculnya resistensi kolistin disebabkan karena mutasi pada kromosom dan transfer gen resisten kolistin melalui plasmid yang baru-baru ini telah dilaporkan dimana hal ini merupakan ancaman besar bagi kesehatan masyarakat. Pada penelitian di Bangladesh, di antara spesies *Enterobacter* yang resisten terhadap kolistin ditemukan 6 (85,71%) *E. cloacae* dan 1 (14,28%) *Enterobacter aerogenes* yang diisolasi dari sampel klinis yang berbeda. Ditemukan juga bahwa resistensi kolistin pada *Enterobacter sp.* mungkin dikaitkan dengan mutasi kromosom pada *mgrB*, *phoP/phoQ*, *pmrA*, *pmrB*, *pmrC* dan *crrABC* [35].

BAB V. INTERAKSI HOST DAN *Enterobacter aerogenes*

A. TAHAPAN INFEKSI ORGANISME

Kompleks *Enterobacter aerogenes* dan *E.cloacae* telah ditemukan pada beberapa wabah infeksi nosokomial yang bertanggungjawab pada lebih dari 5% bakterimia di rumah sakit, 5% pneumonia, 4% ISK (terutama terkait dengan penggunaan kateter) dan 10 % kasus peritonitis pasca bedah. Wabah ini terutama disebabkan karena sebaran klonal strain *Enterobacter aerogenes* yang membawa plasmid spesifik berisi gen resisten antibiotik. Selain itu, *Enterobacter aerogenes* juga terlibat pada infeksi lainnya seperti abses serebral, meningitis, sepsis yang dapat menyebabkan sepsis pada neonatus serta infeksi saluran pencernaan[2].

Enterobacter aerogenes merupakan flora normal pada saluran pencernaan dan kulit manusia. Pada orang dengan faktor resiko tertentu bakteri ini dapat menyebabkan infeksi oportunistik. Faktor risiko untuk terjadinya infeksi terutama infeksi nosokomial yang disebabkan oleh *Enterobacter aerogenes* yaitu rawat inap lebih dari dua minggu, prosedur invasif dalam 72 jam terakhir, pengobatan dengan antibiotik dalam 30 hari terakhir dan penggunaan alat medis seperti kateter urin, kateter vena sentral atau selang intubasi dsb. Pada pasien dengan kondisi immunosupresif apabila terjadi pertumbuhan bakteri yang berlebihan, memudahkan terjadinya infeksi *Enterobacter aerogenes* dimana terjadi perpindahan mikroorganisme dari saluran usus ke dalam darah dan bagian tubuh lainnya [38]

Enterobacter aerogenes diisolasi dari spesimen klinis saluran pernapasan, saluran kemih, darah dan saluran pencernaan manusia. Epidemiologi dari spesies ini terutama pada benua Eropa khususnya Eropa Barat dimana terlibat dalam wabah infeksi nosokomial sejak tahun 1993. *Enterobacter aerogenes* merupakan patogen oportunistik yang sering menyebabkan infeksi nosokomial sehingga terjadi peningkatan penggunaan antibiotik yang membawa pada kegawatan resistensi antibiotik. Kemampuan *Enterobacter aerogenes* untuk menginfeksi baik pada manusia maupun hewan belum sepenuhnya dipahami, tetapi mekanisme yang menyebabkan penempelan, invasi, penyerangan sistem imun inang dan kerusakan

jaringan inang telah dapat diketahui dimana hal ini memegang peran penting terhadap terjadinya infeksi[7].

Infeksi *Enterobacter aerogenes* dimulai dari penempelan bakteri ke sel inang yang dimediasi oleh beberapa tipe pili yang disebut juga fimbriae. *Enterobacter aerogenes* diketahui mempunyai fimbriae tipe 1 dan 3. Fimbriae tipe 1 berhubungan dengan infeksi saluran kemih dan infeksi saluran nafas. Fimbriae 1 dapat berikatan dengan trisakarida yang mengandung mannose pada permukaan glikoprotein sel inang seperti yang ditemukan pada permukaan pada sel epitel saluran urogenital dan saluran nafas. Fimbriae tipe 3 merupakan hemagglutinin resisten mannose yang membantu bakteri menempel pada berbagai macam sel inang, tetapi perannya pada patogenesis masih belum jelas. Fimbriae tipe 3 tidak secara langsung menyebabkan infeksi tetapi penting bagi pembentukan biofilm pada Enterobacteriaceae secara umum sehingga merupakan faktor yang penting penyebab infeksi pada pasien yang menggunakan kateter Walaupun *Enterobacter aerogenes* belum diketahui dapat membentuk biofilm sendiri, tetapi telah diketahui bahwa *Enterobacter aerogenes* dapat membentuk biofilm yang dihasilkan oleh mikroorganisme lain [7].

B. INTERAKSI *Enterobacter aerogenes* TERHADAP HOST MANUSIA

Interaksi antara bakteri dan sel inang melibatkan sistem pertahanan yang dimiliki bakteri maupun sistem pertahanan sel inang. Pada sistem pertahanan bakteri, adanya siderofor pada *Enterobacter aerogenes* berkontribusi pada kemampuannya untuk bertahan pada jaringan tubuh inang. Ada atau tidaknya zat besi merupakan faktor yang membatasi infeksi bakteri. Pada tubuh manusia, kompleks zat besi dibawa oleh molekul pembawa seperti hemoglobin, transferin dan laktoferin, sedangkan sebagian kecil zat besi yang bebas akan di ambil oleh mikroorganisme. Pada kondisi kekurangan zat besi, bakteri membutuhkan sistem afinitas yang tinggi yang dikenal dengan siderofor. Siderofor digunakan untuk melarutkan dan memindahkan zat besi sehingga dapat digunakan bakteri untuk menopang pertumbuhan [39].

Kapsul yang dimiliki oleh bakteri *Enterobacter aerogenes* berkontribusi pada kemampuannya untuk meloloskan diri dari sistem imun. Seperti halnya pada *Klebsiella* spesies yang memiliki selubung kapsul tersusun dari unit berulang polisakarida yang dikenal dengan K-antigen. K antigen memproteksi bakteri dari fagositosis oleh sel PMN dan mencegah pembunuhan bakteri yang diperantarai serum dengan menghambat jalur alternatif komplemen. Berapa K-antigen berhubungan dengan virulensi bakteri contohnya adalah strain yang memiliki K:1, K:2, K:4 dan K:5 terbukti lebih virulen dibandingkan tipe lainnya pada percobaan dengan tikus. Terdapat 78 K-antigen diantara *Klebsiella* spesies dan yang berhubungan dengan *Enterobacter aerogenes* dan *K.mobilis* terutama adalah K:68 atau K:26. Selain itu, terdapat juga seperti K:42, K:59, K:11 dan K:4 [16].

Sistem imun alami pada manusia akan diaktivasi sebagai pertahanan terhadap adanya LPS (Lipopolisakarida) dari membran luar bakteri *Enterobacter aerogenes*. Hal ini merupakan respon imun yang penting untuk membunuh mikroorganisme yang menginvasi sel inang. Selama terjadinya infeksi berat oleh bakteri Gram negatif, replikasi bakteri dan kematian sel menyebabkan lepasnya sejumlah LPS kedalam aliran darah yang kemudian berikatan dengan protein dalam aliran darah. Hal ini menyebabkan produksi dan sekresi sitokin inflamasi. Sitokin yang dikeluarkan dapat menyebabkan terjadinya sepsis yaitu suatu respon inflamasi sistemik terhadap adanya infeksi. Sitokin dan mediator lain yang dikeluarkan selama infeksi, dapat berefek pada organ manusia seperti ginjal, hepar dan paru-paru, hati dan pembuluh darah. Sepsis dapat menyebabkan septik syok jika disertai hipotensi dan dapat terjadi disfungsi multiorgan yang meningkatkan angka kematian [38].

Enterobacter aerogenes secara intrinsik resisten terhadap amoksisilin dan banyak golongan sefalosporin. Pilihan pengobatan pada bakteri ini secara umum meliputi gentamisin, tobramisin, amikasin atau ciprofloksasin. Tes sensitifitas antibiotik dilakukan pada isolat klinis menunjukkan adanya variabilitas yang luas diantara isolat tergantung pada mutasi gen kromosom. *Enterobacter aerogenes* sangat efisien dalam menghindari efek merugikan dari antibiotik selama terapi obat

dan infeksi berat dapat terjadi pada pasien imunokompromais dimana sistem imun tidak dapat mengeliminasi agen infeksi. Kematian yang berhubungan dengan infeksi *Enterobacter aerogenes* sangat berhubungan dengan terapi antibiotik yang tidak adekuat. Ketika terjadi infeksi oleh *Enterobacter aerogenes* yang menghasilkan ESBL, maka antibiotik meropenem, imipenem, doripenem atau cefepime dapat direkomendasikan. Akan tetapi peningkatan penggunaan antibiotik terhadap *Enterobacter aerogenes* telah meningkatkan juga resistensi [40].

C. FAKTOR VIRULENSI

Faktor Virulensi	Gen
Fimbriae tipe 1	- Protein penopang FimD - Regulasi protein FimB dan FimE - Subunit Mayor FimA - Protein FimI
Siderofor	- Sintesis Enterobactin EntE dan EntF - Reseptor aerobactin siderofor - Transporter Iron-hidromaxate, EhuABC
LPS	Banyak gen terlibat pada pembentukan LPS dan transport periplasma

Tabel 4. Gen Faktor virulensi pada *Enterobacter aerogenes* [7]

Diantara genus *Enterobacter*, patogenitas yang berbeda ditunjukkan pada *Enterobacter aerogenes*. Disebutkan bahwa adanya kode gen yang mengkode virulensi pada *Enterobacter aerogenes* telah teridentifikasi. Sebagai contoh, gen fimH dan mrkD mengkode adhesin fimbria tipe 1 dan 3. En vcfM terdeteksi memberikan peranan penting pada penempelan bakteri dan pembentukan biofilm dimana hal ini merupakan aspek penting pada virulensi bakteri [31].

Perpindahan zat besi melibatkan gen *kfu*, *entB* dan *vbtS* yang berfungsi untuk menghasilkan siderofor pada *Enterobacter aerogenes*. seperti disebutkan sebelumnya, siderofor penting bagi bakteri untuk bertahan hidup pada sel inang. Selain itu, virulensi TEM-24 yang dihasilkan oleh *Enterobacter aerogenes* telah ditemukan pada *Caenorhabditid elegans*. Hal ini berhubungan dengan perubahan membrane fisiologi dari *Enterobacter aerogenes* yang memberi kemampuan resistensi terhadap antibiotik[1].

Enterobacter aerogenes memiliki membran luar yang utamanya terdiri dari Lipopolisakarida (LPS). Komponen utama dari membran ini berperan penting terhadap patogenesis semua bakteri Gram negatif termasuk *Enterobacter aerogenes*. LPS dapat mengaktifasi sistem imun untuk merespon terhadap adanya invasi bakteri. Lipid A pada LPS merupakan endotoksin yang dapat menyebabkan sepsis [38]. Banyak gen yang terlibat pada pembentukan LPS dimana akan meningkatkan daya virulensinya

Transfer gen horizontal merupakan mekanisme utama terjadinya evolusi mikroorganisme kearah patogen.. Adanya gen baru atau klaster gen mengkode faktor penentu virulensi dari *Enterobacter aerogenes* seperti resistensi antibiotik, peningkatan kemampuan invasi ke sel inang dan penemuan habitat baru untuk hidup. Beberapa plasmid dan integron yang membawa gen penyebab resisten β -laktam, kloramfenikol, imipenem, sulfonamide trimethropin dan aminoglikosid telah diisolasi dari *Enterobacter aerogenes*. Transfer plasmid antarspesies memudahkan *Enterobacter aerogenes* mendapatkan dan menyebarkan plasmid yang resisten antibiotik. Plasmid bawaan kelas A ESBL (*extended-spectrum β -lactamases*) terutama yang masuk dalam kelompok TEM (varian gen pada ESBL) merupakan plasmid yang paling sering ditemukan dan sering dihubungkan dengan adanya wabah infeksi oleh *Enterobacter aerogenes* di rumah sakit [41] .

Pada satu literatur penelitian ditemukan bahwa *Enterobacter aerogenes* dapat memproduksi toksin eksogen. Toksin eksogen tersebut adalah toksin alfa atau Lesitinase yang terdeteksi pada satu strain *Enterobacter aerogenes* diisolasi dari sampel makanan. Lesitinase memecah lesitin menjadi fosforilkolin dan digliserid

dimana dapat menyebabkan keracunan makanan. Hanya saja pada tes yang dilakukan oleh Canada Health menunjukan bahwa *Enterobacter aerogenes* strain ATCC 13048 tidak memproduksi lesitinase[7].

BAB VI

PEMERIKSAAN LABORATORIUM *Enterobacter Aerogenes*

A. SPESIMEN PEMERIKSAAN

E aerogenes, sering ditemui pada spesimen klinis. *Enterobacter aerogenes* diisolasi dari spesimen klinis saluran pernapasan, saluran kemih, darah, luka infeksi, saluran pencernaan dan bisa juga ditemui pada cairan serebrospinal manusia. Hal ini berhubungan dengan adanya infeksi oportunistik oleh *Enterobacter aerogenes* seperti saluran pernafasan, saluran kemih, luka infeksi di kulit dan dapat juga terjadi sepsis dan meningitis[31].

Terdapat penelitian yang dilakukan oleh Raphael, dkk (2011) yang meneliti mengenai jumlah isolat *Enterobacter* spesies dari beberapa spesimen klinis di Rumah sakit Pendidikan di Nigeria. Pada penelitian ini, *Enterobacter aerogenes* merupakan isolat yang dominan ditemukan. Jumlah spesimen yang diambil yaitu 6632 dimana 1678 (25.3%) dari pria dewasa, 2010 (30,32%) dari perempuan dewasa dan 2944 (44,38%) dari anak-anak. Spesimen diambil dari luka infeksi sekitar 2960 (44.63%), sampel urin 1840 (27,74%), sampel darah 328 (4,95%) dan sampel cairan serebrospinal 1504 (22,7%).

Pengambilan spesimen tersebut harus melalui langkah-langkah yang tepat agar terhindar dari kontaminasi. Pada infeksi kulit dan jaringan lunak dapat dilakukan swab pada lesi ulkus, pus supuratif, dasar luka, dan dapat dilakukan aspirasi pada abses dimana pada penelitian ini swab luka dapat langsung dikultur pada agar Mac Conkey. Sampel darah harus secara aseptis diambil dari pasien sejumlah 1 ml yang kemudian dapat langsung dimasukan pada tioglikolat cair. Cairan serebrospinal juga diambil secara aseptis sebanyak 0,5 ml dengan pungsi spinal. Sampel urin dapat dikoleksi dari urin porsi tengah, urin kateter, urin aspirat suprapubik sejumlah 20 ml kemudian di letakan pada kontainer steril

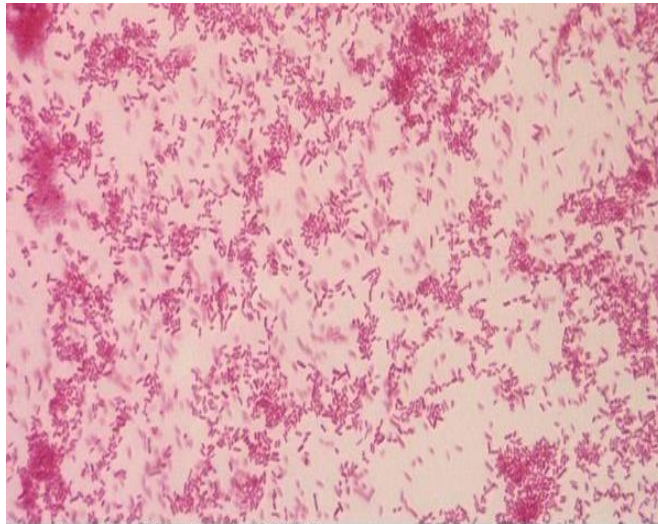
Dari hasil penelitian dari 107 isolat *Enterobacter spesies* ditemukan 104 *Enterobacter aerogenes* dan 3 *E. sakazakii*. *Enterobacter aerogenes* ditemukan pada seluruh spesimen luka, urin dan cairan serebrospinal dengan total secara berurutan 45, 44 dan 1 isolat. Sedangkan pada spesimen darah dari 17 spesimen ditemukan 14 isolat *Enterobacter aerogenes* [42].

B. PEMERIKSAAN MIKROSKOPIS

Pemeriksaan mikroskopis dilakukan untuk melihat karakteristik bentuk dari bakteri. Pemeriksaan ini diawali dengan menyiapkan preparat spesimen pada objek glass. Suspensi kuman disebar setipis mungkin sehingga membentuk lingkaran dengan diameter kira-kira 1 cm. Sediaan dibiarkan mengering di udara, kemudian direkat/difiksasi dengan melewati di atas api tiga kali dan siap untuk diwarnai dengan pengecatan Gram. Sifat kuman terhadap pewarnaan Gram merupakan sifat penting untuk membantu determinasi suatu kuman.

Semua *Enterobacteriaceae* memiliki morfologi yang mirip dibawah mikroskop. *Enterobacter aerogenes* adalah bakteri Gram negatif, berukuran 0,5 μm x 3,0 μm berbentuk batang, tidak membentuk spora. Dibawah mikroskop cahaya akan nampak bakteri batang berwarna merah setelah dilakukan pengecatan Gram. Pengecatan Gram tidak signifikan untuk mengidentifikasi dugaan *Enterobacteriaceae*. Deteksi langsung pada

Enterobacteriaceae di feces dengan pengecatan Gram tidak signifikan karena adanya sejumlah besar Gram negatif mikrobiota normal[29].



© www.doc-stock.com Bildnr./image no: 10374271

Gambar 9. *Enterobacter aerogenes* dibawah mikroskop cahaya yang tampak sebagai bakteri batang Gram negatif

C. KULTUR BAKTERI

Media standar untuk mengisolasi *Enterobacteriaceae* dapat digunakan untuk menumbuhkan *Enterobacter aerogenes* tetapi tidak dapat digunakan untuk membedakan *Enterobacter aerogenes*. Pada agar metilen biru (EMB), *Enterobacter aerogenes* menghasilkan koloni mukoid, besar, berwarna merah muda keunguan seperti *Klebsiella spesies*. Pada agar MacConkey, *Enterobacter aerogenes* menghasilkan koloni berwarna merah muda, hal ini dikarenakan *Enterobacter aerogenes* dapat memfermentasi laktosa. Pada media MacConkey, pertumbuhan *Enterobacter aerogenes* tidak dihambat oleh garam empedu dan kristal violet sehingga merupakan bakteri Gram negatif. *Enterobacter aerogenes* tumbuh dengan baik pada media rutin di laboratorium baik cair maupun padat seperti tercantum pada tabel dibawah ini [7].

Tabel 5. Pertumbuhan *Enterobacter aerogenes* strain ATCC 13048 pada berbagai media cair dengan suhu bervariasi

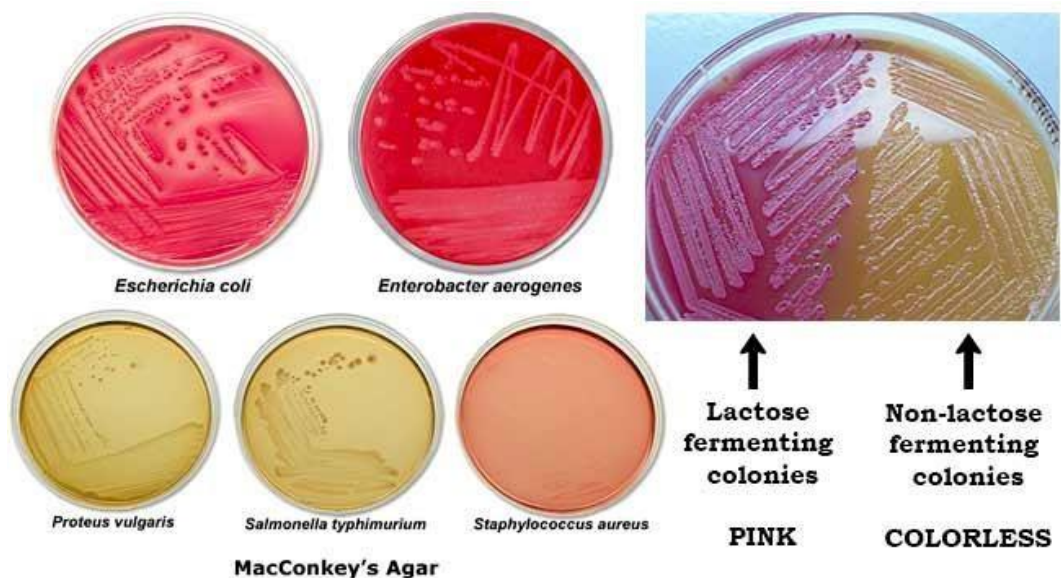
Media	28° C	32 ° C	37 ° C	42 ° C
<i>Trypticase Soy Broth</i>	Tumbuh	Tumbuh	Tumbuh	Tumbuh
<i>Sheep Serum</i>	Tumbuh sedikit	Tumbuh sedikit	Tumbuh sedikit	Tumbuh sedikit
<i>Dulbecco's Modified Eagles Medium</i>	Tumbuh	Tumbuh	Tidak tumbuh	Tidak tumbuh

Tabel 6. Pertumbuhan *Enterobacter aerogenes* strain ATCC 13048 pada berbagai media padat dengan suhu bervariasi

Media	28° C	37 ° C
<i>Simmon Citrate</i>	N/A	+
<i>Lysine Iron</i>	+	+
<i>Growth on MacConkey Agar</i>	+	+
<i>Lactose fermentation on MacConkey Agar</i>	+	+
<i>Mannitol Salt Agar</i>	-	-
<i>Growth on Starch agar</i>	N/A	+
<i>Starch Hydrolysis</i>	N/A	+
<i>Triple Sugar Iron - with phenol Red</i>	+	+
<i>Growth on Urea agar</i>	+	+
<i>Hydrolysis of Urea</i>	-	-
<i>Catalase activity on TBS</i>	+	N/A
<i>Growth on Sheep blood agar</i>	+	+
<i>Hemolysis of Sheep blood</i>	-	-

* N/A + tidak ada data; + mengindikasikan adanya pertumbuhan atau tes positif; - mengindikasikan tidak adanya pertumbuhan atau tes negatif

Agar Simmon citrate digunakan untuk tes penggunaan sitrat sebagai sumber karbon. Deteksi secara simultan dengan media lysine iron (LIA) untuk deteksi adanya *lysine decarboxylase* dan pembentukan hydrogen sulfida. Hidrolisis pati digunakan untuk mengetahui kemampuan bakteri mengeluarkan ezim ekstraseluler untuk menghidrolisis pati. Triple sugar iron (TSI) digunakan untuk pemeriksaan bakteri koliform berdasarkan fermentasi glukosa, laktosa dan sukrosa serta pembentukan hydrogen. Agar urea untuk menskrining pertumbuhan bakteri patogen dari feses dimana dapat memetabolisme urea. Pada media agar darah, *Enterobacter aerogenes* tidak dapat menghemolisis agar darah [29].



Gambar 10. koloni *Enterobacter aerogenes* pada media kultur
(https://www.researchgate.net/figure/Bacterial-colonies-on-MacConkey-agar-12-13_fig2_384090852)

D. IDENTIFIKASI KONVENSIONAL

Identifikasi bakteri hingga tingkat spesies merupakan aspek yang sangat penting dalam mikrobiologi. Identifikasi spesies secara konvensional bergantung pada karakteristik fenotipik. Identifikasi metode konvensional membutuhkan inokulum dalam jumlah yang lebih besar sehingga kadang membutuhkan tindakan subkultur selama 24-48 jam setelah kultur pada media selektif dimana hal ini meningkatkan waktu identifikasi sehingga

dapat memperlambat intervensi terapi. Pada negara berkembang, media kultur seperti agar MacConkey, agar coklat, agar darah, sering digunakan di laboratorium medis untuk menunjukkan keberadaan isolat *Enterobacteriaceae* dalam sampel klinis. Setelah pertumbuhan isolat pada media kultur, pewarnaan Gram juga digunakan untuk membantu identifikasi. Tes biokimia, misalnya tes Beta-glucoronidase, uji pemanfaatan sitrat, uji urease, uji indol, adalah tes dasar yang digunakan untuk identifikasi *Enterobacteriaceae*. Di fasilitas kesehatan di negara berkembang. Uji biokimia pada *Enterobacteriaceae* yang dapat dilakukan antara lain [43] :

1. Tes Beta-Glukoronidase

Suspensi keruh seperti susu dari organisme yang akan diuji disiapkan dalam tabung kecil yang berisi 0,25 ml saline. Satu tablet asam 4-nitrofenil- β -D-glukopiranosiduronat (PGUA) untuk mendeteksi aktivitas -glukoronidase ditambahkan ke dalam tabung. Tabung diaduk dengan kuat selama beberapa detik. Setelah itu tabung diinkubasi pada suhu 35-37C selama 4 jam. Berubahnya warna kuning pada supernatan menunjukkan hasil positif. Tes ini membedakan *Enterobacteriaceae* pada spesies E.coli dengan yang lain dimana E.coli memberikan hasil positif.

2. Uji Pemanfaatan Sitrat

Uji ini untuk menilai kemampuan organisme memanfaatkan natrium sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon untuk pertumbuhan dan metabolisme yang menghasilkan alkalinisasi medium. Media simmons citrate yang digunakan mengandung natrium sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon dan bromotimol biru sebagai indikator. Pemanfaatan sitrat untuk pertumbuhan bakteri menghasilkan produk samping basa yang meningkatkan pH medium dan akhirnya menyebabkan perubahan warna dari hijau menjadi biru. Kultur isolat uji yang sudah diinkubasi selama 24 jam diinokulasi ke dalam 3 mL alikuot media. Kemudian

diinkubasi pada 37 °C selama empat hari dan diamati setiap hari adanya degradasi sitrat yang mengarah ke alkalinisasi medium. Alkalinisasi medium ditunjukkan oleh indikator pH bromothymol biru berubah warna dari hijau menjadi biru tua seiring dengan pertumbuhan organisme. Hal ini menunjukkan hasil yang positif. Reaksi uji negatif ditunjukkan dengan tidak ada perubahan warna tanpa adanya pertumbuhan.

3. Uji Urease

Isolat uji diinokulasi dalam tabung yang berisi media agar miring Christensen urea dan diinkubasi pada suhu 35 °C selama 72 jam. Tabung diperiksa pada inkubasi 12 jam dan setelah 24 jam. Produksi urease menyebabkan hidrolisis urea menjadi amonia yang meningkatkan pH yang ditunjukkan dengan perubahan warna media dari kuning menjadi merah muda.

4. Uji indol

Media steril air tripton diinokulasi dengan isolat uji dan diinkubasi pada 35–37 °C hingga 48 jam. Pereaksi Kovac kemudian ditambahkan dengan volume 0,5 mL ke dalam kultur dan dikocok perlahan. Warna merah pada permukaan (lapisan alkohol) medium menyiratkan reaksi positif. Perubahan tanpa warna menunjukkan reaksi negatif.

5. Uji Fermentasi Laktosa

Semua isolat *Enterobacteriaceae* diinokulasi pada plat agar Macconkey dan diinkubasi selama 18 jam pada suhu 37 °C. Pelat kemudian diamati untuk pewarnaan pertumbuhan, warna merah muda koloni sebagai reaksi positif

Tes	Hasil Tes			
	EC	Ksp	KO	Esp
Pengecatan Gram	Gram negatif	Gram negative	Gram negatif	Gram negative
Morfologi	Batang kecil	Batang	Batang	Batang
Fermentasi Laktosa	Positif	Positif	Positif	Positif
Indol	Positif	Negatif	Positif	Negatif
Urease	Negatif	Positif	Positif	Negatif
Sitrat	Negatif	Positif	Positif	Positif

Tabel 7. Hasil identifikasi konvensional menggunakan perwarnaan Gram, uji indol, urease, sitrat, fermentasi laktosa dan Beta-glukoronidase pada *Eschericia Coli (EC)*; *Klebsiella Pneumoniae (Ksp)*, *Klebsiella Oxytica (KO)* dan *Enterobacter sp. (Esp)*

Isolat *Enterobacter aerogenes* dapat dilakukan uji terhadap kepekaan beberapa antibiotik dengan menggunakan metode difusi. Tes difusi menggunakan cakram antibiotik atau yang dikenal dengan tes *Kirby Bauer* telah banyak digunakan di laboratorium klinis sebagai tes kepekaan antibiotik. Suspensi bakteri terstandarisasi *McFarland 0.5* diusap ke permukaan agar Mueller Hinton dan kertas cakram, yang berisikan agen antimikroba dengan konsentrasi spesifik, diletakan pada permukaan inokulasi. Setelah diinkubasi selama semalaman, diameter zona yang dihasilkan karena adanya daya hambat antibiotik diukur dan hasilnya diinterpretasikan dengan resisten, *susceptible* atau intermediet terhadap antibiotik tertentu berdasarkan kriteria yang ada. Tes kepekaan antibiotik dengan metode difusi pada *Enterobacter aerogenes* tampak pada gambar dibawah [44].

E. IDENTIFIKASI SEMI-OTOMATIS DAN OTOMATIS

Identifikasi bakteri secara konvensional (klasik) masih banyak digunakan walaupun memiliki beberapa kekurangan seperti hanya bisa dilakukan pada bakteri yang dapat dibiakan secara *in vitro*. Selain itu pada metode konvensional, tidak dapat membedakan secara spesifik strain yang menunjukkan karakteristik biokimia unik yang tidak sesuai dengan pola genus dan spesies yang telah diketahui. Oleh karena itu, identifikasi metode modern sangat berperan untuk mengidentifikasi mikroba karena tidak bergantung pada kultur yang hidup dan dapat membedakan secara spesifik organisme yang tidak dapat diidentifikasi secara konvensional.

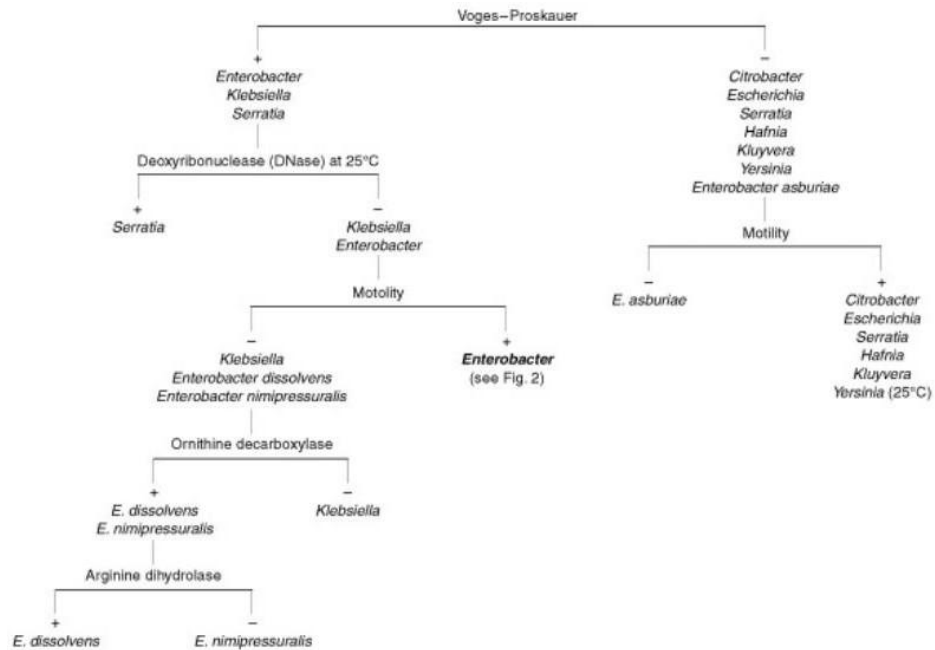
a. Pemeriksaan Biokimia dengan API 20 E

Enterobacter aerogenes dan *Enterobacter* lainnya dapat diidentifikasi menggunakan kit API 20 E. API 20 E merupakan sistem identifikasi terstandarisasi untuk bakteri golongan *Enterobacteriaceae* dan bakteri Gram negatif batang *non fastidious*, yang menggunakan miniatur uji biokimia dan data dasar (database). Prinsip kerja dari API 20 E adalah strip API 20 E terdiri dari 20 microtube (tabung kecil dari bahan plastik) yang mengandung substrat yang telah di dehidrasi. Uji-uji tersebut diinokulasikan dengan suspensi bakteri yang berfungsi juga sebagai media. Selama inkubasi, metabolisme menghasilkan perubahan warna secara cepat maupun lambat setelah ditambahkan reagen tertentu

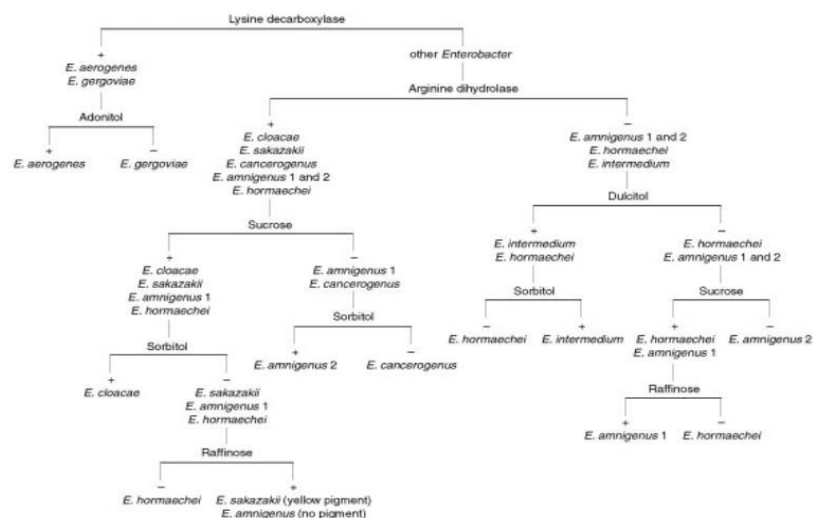
Kit API 20 E dapat mendeteksi adanya senyawa biokimia seperti dibawah ini [45]:

1. **ONPG**: tes untuk enzim β -galactosidase dengan menghidrolisis substrat
2. **ADH**: dekarboksilasi asam amino arginin oleh arginin dihidrolase
3. **LDC**: dekarboksilasi asam amino lisin oleh lisin dekarboksilase
4. **ODC**: dekarboksilasi asam amino ornithin oleh ornithine decaboxilase
5. **CIT**: penggunaan sitrat sebagai sumber utama karbon
6. **H₂S**: produksi hydrogen sulfida
7. **URE**: tes untuk enzim urease
8. **TDA** (Tryptophan deaminase): deteksi enzim triptodfan deaminase
9. **IND**: tes produksi indol dari triptophan oleh enzim triptophanase
Reagen indol dideteksi dengan penambahan reagen Kovac
10. **VP**: tes Voges-Proskauer untuk deteksi acetoin (acetyl methylcarbinol) dihasilkan oleh fermentasi glukosa oleh bakteri yang menggunakan jalur butylene glikol
11. **GEL**: tes untuk produksi enzim gelatinase yang melarutkan gelatin
12. **GLU**: fermentasi glukosa (gula hexose)
13. **MAN**: fermentasi mannose (gula hexose)
14. **INO**: fermentasi inositol
15. **SOR**: fermentasi sorbitol
16. **RHA**: fermentasi rhamnose (gula methyl pentose)
17. **SAC**: fermentasi sukrosa (disaccharide)
18. **MEL**: fermentasi melibiose (disaccharide)

19. **AMY:** fermentasi amygdalin (glycoside)
 20. **ARA:** fermentasi arabinose (gula pentose)



Gambar 11. Bagan pemeriksaan untuk identifikasi organisme koliform yang dicurigai. *Enterobacteriaceae* yang menghidrolisis o-nitrofenil β -o-galactopiranosida (ONPG) dipertimbangkan menjadi koliform (yang memfermentasi laktosa) [46] .



Gambar 12. Bagan identifikasi spesies *Enterobacter* berdasarkan uji biokimia [46].

b. Identifikasi Molekuler

Identifikasi patogen yang baru-baru ini dikembangkan yaitu menggunakan metode deteksi molekuler. Deteksi molekuler mempunyai keunggulan dalam waktu pemeriksaan yang lebih cepat dan dengan jumlah sampel yang lebih kecil dibanding identifikasi konvensional. Identifikasi molekuler yang dapat dilakukan yaitu antara lain: *pulsed-field gel electrophoresis* (PFGE), *multilocus sequence typing* (MLST), *plasmid fingerprinting* (PF), *restriction fragment length polymorphism* (RFLP) dan PCR spesifik gen. Ribotyping, PCR dan PFGE telah diketahui dapat digunakan untuk studi epidemiologi dari isolat infeksi nosokomial *Enterobacter aerogenes*. Serotyping berdasarkan adanya variasi genetik pada permukaan polisakarida yang mendasari antigenik dari *Enterobacter aerogenes* tetap menjadi pilihan untuk mendeteksi strain yang patogen pada spesimen klinis dan sampel lingkungan serta untuk surveilen maupun penelurusan epidemiologi [47].

Dasar genetik dan struktur variasi serologis belum dapat dijelaskan pada beberapa patogen yang muncul pada wabah infeksi nosokomial . Pengembangan *Next Generation Sequencing* (NGS) telah memungkinkan untuk mendeteksi dengan cepat hampir semua karakteristik genetik dari banyak patogen, termasuk penjelasan mengenai gen PSgcs yang baru-baru ini diduga muncul pada bakteri patogen sehingga skema serotipe molekuler dapat dikembangkan berdasarkan keragaman sekuen gen PSgcs [47]

Polisakarida pada permukaan bakteri *Enterobacter aerogenes*, terutama terdiri dari antigen somatik tahan panas (O) dan atau antigen kapsular (K). Kedua antigen tersebut merupakan target utama sistem imun inang dan bakteriofaga. Gen yang terlibat pada sintesis polisakarida permukaan ini secara umum terdiri dari kluster gen dan adanya variasi antara polisakarida ini disebabkan oleh variasi genetik dari gen kluster polisakarida (PSgcs) yang digunakan sebagai dasar molekuler untuk *serotyping*.

PCR dapat dilakukan untuk mendeteksi adanya gen resisten antibiotik pada bakteri *Enterobacter aerogenes*. Primer PCR untuk deteksi spesifik *Enterobacter aerogenes* terdiri dari primer maju (forward) dan primer kebalikanya (reverse) dimana forward primer F adalah 5'-GTAACCGGTGAAACCGAAAGC-3 sedangkan reverse primer R adalah 5'-GATGCCGCCTTCGTAGTGGAAATGG-3. Telah dilakukan penelitian mengenai gen resisten antibiotik Colistin pada *Enterobacter aerogenes* yang dideteksi dengan PCR. Sebelum dilakukan PCR, DNA harus diekstraksi terlebih dahulu. Beberapa langkah dapat dilakukan untuk mengekstraksi DNA yaitu suspensi kuman pada media TSB di inkubasi selama 24 jam. Setelah itu disentrifugasi 4000 g selama 10 menit. Supernatan dibuang sehingga dalam tabung hanya mengandung sisa bakteri yang disimpan pada suhu -20°C untuk dilakukan ekstraksi DNA. 300

mikroliter air steril ditambahkan dan dicampur merata. Setelah itu di panaskan pada suhu 100° C selama 10 menit. Pasangan primer untuk deteksi gen resisten antibiotik Colistin dapat dilihat pada table dibawah[35]:

DAFTAR PUSTAKA

1. Davin-Regli, A., J.-P. Lavigne, and J.-M. Pagès, *Enterobacter spp.: update on taxonomy, clinical aspects, and emerging antimicrobial resistance*. Clinical microbiology reviews, 2019. **32**(4): p. e00002-19.
2. Jalaluddin, S., et al., *Molecular epidemiological study of nosocomial Enterobacter aerogenes isolates in a Belgian hospital*. Journal of Clinical Microbiology, 1998. **36**(7): p. 1846-1852.
3. Hormaeche, E., *Taxonomic Hierarchy Enterobacter aerogenes*. 1960: ITIS.
4. Wesevich, A., et al., *Newly named Klebsiella aerogenes (formerly Enterobacter aerogenes) is associated with poor clinical outcomes relative to other Enterobacter species in patients with bloodstream infection*. Journal of clinical microbiology, 2020. **58**(9): p. e00582-20.
5. Humann, J.L., et al., *Complete genome of the switchgrass endophyte Enterobacter cloacae P101*. Standards in genomic sciences, 2014. **9**(3): p. 726-734.
6. Staf Pengajar Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia., *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. 2010.
7. Environment and Climate Change Canada, H.C. *Final Screening Assessment for Enterobacter aerogenes strain ATCC 13048*. 2018.
8. Geo F Brooks , K.C.C., Janet S Butel , Stephen A Morse, *Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology 27th ed*. 2016: McGraw-Hill Education.
9. Silhavy, T.J., D. Kahne, and S. Walker, *The bacterial cell envelope*. Cold Spring Harbor perspectives in biology, 2010. **2**(5): p. a000414.
10. Ghai, I. and S. Ghai, *Understanding antibiotic resistance via outer membrane permeability*. Infection and drug resistance, 2018. **11**: p. 523.
11. Masi, M., et al., *The Enterobacter aerogenes outer membrane efflux proteins TolC and EefC have different channel properties*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes, 2007. **1768**(10): p. 2559-2567.
12. Rai, A.K. and A.M. Mitchell, *Enterobacterial common antigen: synthesis and function of an enigmatic molecule*. Mbio, 2020. **11**(4): p. e01914-20.
13. Levinson, W., *Review of Medical Microbiology and Immunology 13th ed*. 2014: McGraw Hill-LANGE.
14. Michael T. Madigan, J.M.M.e.a., *Brock Biology of Microorganism fourteenth edition*. 2015, United State: Pearson Education, Inc. .
15. Tortora GJ, F.B., Case CL, M, ed. M.i.I.e. edition. 2013, United States: Pearson.
16. Simoons-Smit, A., A. Verweij-van Vught, and D. MacLaren, *The role of K antigens as virulence factors in Klebsiella*. Journal of medical microbiology, 1986. **21**(2): p. 133-137.
17. Graniczowska, K.B., C.L. Shaffer, and V.M. Cassone, *Transcriptional effects of melatonin on the gut commensal bacterium Klebsiella aerogenes*. Genomics, 2022. **114**(2): p. 110321.

18. Maier, R.M. and I.L. Pepper, *Bacterial growth*, in *Environmental microbiology*. 2015, Elsevier. p. 37-56.
19. Siegal-Gaskins, D. and S. Crosson, *Tightly regulated and heritable division control in single bacterial cells*. *Biophysical Journal*, 2008. **95**(4): p. 2063-2072.
20. Mukherjee, J., S. Majumdar, and T. Scheper, *Studies on nutritional and oxygen requirements for production of L-asparaginase by Enterobacter aerogenes*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2000. **53**(2): p. 180-184.
21. Wu, Y., et al., *Impairment of NADH dehydrogenase and regulation of anaerobic metabolism by the small RNA RyhB and NadE for improved biohydrogen production in Enterobacter aerogenes*. *Biotechnology for biofuels*, 2017. **10**(1): p. 1-15.
22. Papagianni, M., *Metabolic engineering of lactic acid bacteria for the production of industrially important compounds*. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 2012. **3**(4): p. e201210003.
23. Zhang, C., K. Ma, and X.-H. Xing, *Regulation of hydrogen production by Enterobacter aerogenes by external NADH and NAD⁺*. *international journal of hydrogen energy*, 2009. **34**(3): p. 1226-1232.
24. Hatayama, K. and T. Yagishita, *Regulation of glycerol metabolism in Enterobacter aerogenes NBRC12010 under electrochemical conditions*. *Applied microbiology and biotechnology*, 2009. **83**(4): p. 749-756.
25. Leclerc, H., et al., *Advances in the bacteriology of the coliform group: their suitability as markers of microbial water safety*. *Annual review of microbiology*, 2001. **55**: p. 201.
26. Preiss, J., *Bacterial Glycogen Inclusions: Enzymology and Regulation of Synthesis*. 2006. p. 71-108.
27. Dicenzo, G.C. and T.M. Finan, *The divided bacterial genome: structure, function, and evolution*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2017. **81**(3): p. e00019-17.
28. Philippe, N., et al., *In Vivo Evolution of Bacterial Resistance in Two Cases of Enterobacter aerogenes Infections during Treatment with Imipenem*. *PloS one*, 2015. **10**: p. e0138828.
29. Tille, P.M., *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology*. 2014: Elsevier Mosby, Inc.
30. Szauter, D.P. *Prokaryotic Regulation*. 2013.
31. Davin-Regli, A. and J.-M. Pagès, *Enterobacter aerogenes and Enterobacter cloacae; versatile bacterial pathogens confronting antibiotic treatment*. *Frontiers in microbiology*, 2015. **6**: p. 392.
32. Burmeister, A.R., *Horizontal gene transfer*. *Evolution, medicine, and public health*, 2015. **2015**(1): p. 193.
33. Watford, S. and S.J. Warrington, *Bacterial DNA mutations*. 2017.
34. Santajit, S. and N. Indrawattana, *Mechanisms of Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens*. *Biomed Res Int*, 2016. **2016**: p. 2475067.
35. Munny, N.N., S. Shamsuzzaman, and T. Hossain, *Antibiotic resistance and phenotypic and genotypic detection of colistin resistance among*

- Enterobacter* species isolated from patients of a tertiary care hospital, Bangladesh. Archives of Microbiology & Immunology, 2021. **5**(3): p. 337-352.
36. Lavigne, J.-P., et al., *An adaptive response of Enterobacter aerogenes to imipenem: regulation of porin balance in clinical isolates*. International journal of antimicrobial agents, 2013. **41**(2): p. 130-136.
 37. De Oliveira, D.M., et al., *Antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens*. Clinical microbiology reviews, 2020. **33**(3): p. e00181-19.
 38. Boban, N., A. Jerončić, and V. Punda-Polić, *Outbreak of nosocomial bacteremias, caused by Enterobacter gergoviae and Enterobacter aerogenes, in the neonatal intensive care unit, case-control study*. Signa vitae: journal for intensive care and emergency medicine, 2011. **6**(1): p. 27-32.
 39. Grimont, F. and P.A. Grimont, *The genus enterobacter*. Prokaryotes, 2006. **6**: p. 197-214.
 40. Bornet, C., et al., *Imipenem resistance of Enterobacter aerogenes mediated by outer membrane permeability*. Journal of clinical microbiology, 2000. **38**(3): p. 1048-1052.
 41. Claeys, G., et al., *Extended-Spectrum beta-lactamase (ESBL) producing Enterobacter aerogenes phenotypically misidentified as Klebsiella pneumoniae or K. terrigena*. BMC Microbiol, 2004. **4**: p. 49.
 42. Mordi, R.M. and P. Hugbo, *Frequency of isolation of Enterobacter species from a variety of clinical specimens in a Teaching Hospital in Nigeria*. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 2011. **10**(6): p. 793-800.
 43. Jesumirhewe, C., et al., *Accuracy of conventional identification methods used for Enterobacteriaceae isolates in three Nigerian hospitals*. PeerJ, 2016. **4**: p. e2511.
 44. Connie R. Mahon, D.C.L., George Manuselis, *Textbook of Diagnostic Microbiology Fifth edition*. 2015, United States: Elsevier, Inc.
 45. Aryal, S. *API (Analytical Profile Index) 20E Test – Procedure, Uses and Interpretation*. 2019.
 46. Huber, T.W., *Enterobacter*, in *Medical Microbiology and Immunology*. 1999, Academic Press: Texas A&M College of Medicine, USA.
 47. Guo, X., et al., *Establishment of a molecular serotyping scheme and a multiplexed luminex-based array for Enterobacter aerogenes*. Frontiers in microbiology, 2018. **9**: p. 501.