

Analisis Bioinformatika GenblaCTX-M Pengkode β -Laktamase Spektrum Luas pada *Klebsiella pneumoniae* Menggunakan Data GenBank NCBI

Dwi Sakila Ulfa^{1*}, Gusti Ayu Niscari Dwi¹, Ira Firati Fionita¹, Faturrahman², Sarkono²

¹ Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mataram, Mataram, Indonesia.

² Laboratorium Teknologi Mikrobial, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mataram, Mataram, Indonesia.

Article Info :

Received : November 21, 2025
Revised : December 15, 2025
Accepted : December 28, 2025
Published : January 20, 2026

Corresponding Author:

Dwi Sakila Ulfa
dwisakiraulfa@gmail.com

DOI:

<https://doi.org/10.29303/6805v662>

Keyword:

Klebsiella pneumoniae; blaCTX-M; genetic variation; phylogenetic analysis; antibiotic resistance

Abstract :

Klebsiella pneumoniae is a short rod-shaped Gram-negative bacterium capable of fermenting lactose and various other carbohydrates, producing acid and gas. The blaCTX-M gene is one of the major genes responsible for β -lactam resistance in *K. pneumoniae*. This study aimed to analyze the genetic variation and phylogenetic relationships of the blaCTX-M gene in *K. pneumoniae* using nucleotide sequence data retrieved from the NCBI GenBank database. A total of 19 sequences representing isolates from different countries were aligned to identify nucleotide variations. The alignment results revealed genetic variation among the isolates, with most forming a closely related cluster indicating high sequence similarity. Eighteen isolates showed identical characteristics with minor variations, while one isolate, NG_048898, exhibited the highest number of nucleotide variations. A total of 168 nucleotide variations were identified, predominantly nonsynonymous substitutions, distributed throughout the nucleotide sequence. Phylogenetic analysis using the Neighbor-Joining method with the Kimura 2-parameter model supported the alignment results, showing a distinct branch for isolate NG_048898, suggesting a different evolutionary origin. These findings highlight the genetic diversity of the blaCTX-M gene in *K. pneumoniae* isolates and provide important insights into the distribution of β -lactamase genes, which are essential for understanding antibiotic resistance patterns.

How to Cite : Ulfa, D. S., Dewi, G. A. N., Fionita, I. F., Faturrahman, & Sarkono. (2026). Analisis Bioinformatika GenblaCTX-M Pengkode β -Laktamase Spektrum Luas pada *Klebsiella pneumoniae* Menggunakan Data GenBank NCBI. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Conservation*, 2(1), 14-24. <https://doi.org/10.29303/6805v662>

PENDAHULUAN

Klebsiella pneumoniae merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang pendek berukuran sekitar $0,5-0,8 \times 1-2 \mu\text{m}$. Bakteri ini memiliki kapsul polisakarida tebal yang membuat koloni tampak *mucoïd* serta bersifat non-motil karena tidak memiliki flagel. Selain itu, *K. pneumoniae* merupakan bakteri fakultatif anaerob yang mampu memfermentasikan laktosa dan berbagai karbohidrat lain sehingga menghasilkan asam dan gas (Tarina dan Kusuma, 2017). Pada media Mac

Conkey, bakteri ini membentuk koloni berwarna merah muda hingga merah bata yang berukuran besar, licin (*smooth*), cembung, dan mukoid. Karakteristik tersebut mencerminkan produksi kapsul polisakarida yang khas (Lenchenko *et al.*, 2020). Selain itu, *K. pneumoniae* dapat menghasilkan *biofilm* kuat yang meningkatkan resistensi terhadap antibiotik dan membantu bakteri bertahan di lingkungan inang (Tu *et al.*, 2022). Patogenesis *K. Pneumoniae* menggambarkan kemampuan bakteri ini dalam menyebabkan infeksi melalui mekanisme adhesi, kolonisasi, dan

kerusakan jaringan Suatu bakteri dianggap patogen apabila mampu melekat pada sel inang, memanfaatkan nutrisi untuk memperbanyak diri, kemudian menyebar sehingga menimbulkan kerusakan sel dan jaringan (Pratiwi, 2017). Sebagai anggota famili *Enterobacteriaceae*, *K. pneumoniae* dapat bertindak sebagai patogen oportunistik, terutama pada saluran pernapasan, dan sering menyerang pasien rawat inap, pengguna ventilator, penderita alkoholisme, serta individu dengan diabetes.

Keberhasilan infeksi dipengaruhi oleh berbagai faktor virulensi seperti kapsul polisakarida tebal yang menghambat fagositosis, lipopolisakarida (LPS) yang memicu respons imun dan kerusakan jaringan, serta produksi beta-laktamase yang menyebabkan resistensi antibiotik. Infeksi umumnya terjadi melalui inhalasi atau aspirasi bakteri dari orofaring yang kemudian mengkolonisasi trakea dan bronkus, menimbulkan inflamasi berat dan nekrosis jaringan paru. Secara klinis, kondisi ini sering ditandai dengan sputum kental berwarna merah gelap menyerupai “selai stroberi” (*currant jelly sputum*), yang menjadi ciri khas infeksi *K. pneumoniae* (Mastra *et al.*, 2025). Resistensi terhadap antibiotik β -laktam pada

K. pneumoniae gen blaCTX-M disebabkan oleh enzim CTX-M yang memecah cincin β -laktam antibiotik seperti cefotaxime, ceftriaxone, dan ceftazidime (Palzkill, 2018). Hal tersebut dapat menghambat kemampuan antibiotik untuk merusak sintesis dinding sel bakteri. Gen blaCTX-M termasuk salah satu gen utama yang bertanggung jawab terhadap resistensi β -laktam pada *K. pneumoniae* (Poirel *et al.*, 2001). Gen ini pertama kali muncul pada awal 1980-an di bakteri lingkungan *Kluyvera* (Rodríguez *et al.*, 2020). Dalam proses evolusinya, gen blaCTX-M telah mengalami beberapa peristiwa diantaranya mutasi titik dan rekombinasi genetik yang menghasilkan berbagai sub tipe seperti CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-9 yang menentukan tingkat resistensi terhadap antibiotik β -laktam. Kombinasi blaCTX-M dengan gen ESBL lain seperti blaTEM atau blaSHV dapat memperluas spektrum resistensi (Sudeep *et al.*, 2025).

Penyebaran gen resistensi blaCTX-M pada *K. pneumoniae* menjadi bagian dari fenomena global

yang mengkhawatirkan. Isolat gen blaCTX-M di berbagai negara dilaporkan dapat menyebar melalui mekanisme transfer gen horizontal. persebaran atau perpindahan tersebut terjadi dengan menggunakan dua komponen penting seperti plasmid konjugatif dan elemen mobile seperti insertion sequence (IS). Plasmid konjugatif dapat membawa gen blaCTX-M berpindah dari satu bakteri ke bakteri lainnya, plasmid seperti IncFII/IncFIB dilaporkan berperan penting dalam penyebaran luas blaCTX-M. Sementara IS yang biasanya terkait dengan penyebaran gen blaCTX-M adalah ISEcp1. ISEcp1 membentuk transposon untuk memobilisasi dan mendorong ekspresi gen blaCTX-M (Wyres *et al.*, 2019). Meskipun persebarannya melalui plasmid keberadaan gen ini dilaporkan terdeteksi terintegrasi pada kromosom bakteri, laporan tersebut menunjukkan bahwa keberadaan gen blaCTX-M tetap dapat terdeteksi meskipun plasmid pembawanya telah hilang atau plasmid curing (Huang *et al.*, 2017).

Perkembangan bidang ilmu terkhususnya bioinformatika menjadi gerbang awal yang memungkinkan suatu penelitian tanpa prosedur isolasi. Penggunaan data publik berupa GenBank seperti NCBI menjadi alternatif yang dapat digunakan untuk analisis filogenetik seperti analisis filogenetik gen blaCTX-M pada bakteri *K. pneumoniae*. Situs NCBI menyajikan banyak database yang dapat digunakan dalam penelitian seperti GenBank yang memuat ratusan ribu data sekuens DNA dari berbagai organisme (Jamal *et al.*, 2014; Wyres *et al.*, 2019). Metode analisis filogenetik melalui database GenBank dapat dilakukan dengan menggunakan metode Multiple Sequence Alignment (MSA) metode ini dapat digunakan untuk menyelaraskan sekuens hingga konstruksi pohon filogenetik, dimana hal tersebut mampu memberikan gambaran mengenai hubungan evolusi atau variasi antar isolat (Zhang *et al.*, 2024).

Isolat klinis gen blaCTX-M *K. pneumoniae* mempunyai prevalensi tinggi yaitu 74,9%. Hal tersebut membuktikan perannya sebagai faktor utama resistensi ESBL (Al-Garni *et al.*, 2018). BlaCTX-M sering berada di plasmid yang dapat berpindah antar bakteri dan mempercepat penyebaran gen resistensi di lingkungan rumah sakit serta komunitas (Zhang *et al.*, 2023). Meskipun

prevalensi gen blaCTX-M ini banyak diteliti sebelumnya namun informasi mengenai variasi sekuens gen di berbagai wilayah, serta hubungan mutasi spesifik dengan tingkat resistensi antibiotik, masih terbatas (Becker *et al.*, 2023). Hal ini menjadi dasar penelitian untuk menganalisis perbedaan sekuens blaCTX-M guna melihat variasi nukleotida antar isolat, serta menyusun pohon filogenetik untuk mengetahui kedekatan hubungan antar isolat *K. pneumoniae*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan dengan metode *in silico* dengan memanfaatkan data dan perangkat bantu berupa komputer. Metode *in silico* memungkinkan analisis dilakukan tanpa memerlukan eksperimen langsung di laboratorium, sehingga lebih efisien dari segi waktu dan biaya (Makatita, 2020). Pendekatan ini banyak digunakan dalam studi genetika dan bioinformatika untuk menganalisis informasi molekuler secara komputasional. Data yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari National Center for Biotechnology Information (NCBI).

NCBI merupakan institusi internasional yang menyediakan basis data publik berupa urutan DNA, RNA, dan protein dari berbagai organisme. Data sekuens yang tersedia di NCBI berasal dari hasil penelitian yang telah dipublikasikan dan terkurasi. Oleh karena itu, pemanfaatan data NCBI memungkinkan analisis variasi genetik dan hubungan filogenetik dilakukan secara akurat dan sistematis.

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan meliputi laptop dengan RAM 8 GB, Koneksi internet, Notepad/Word serta software bioinformatika seperti MEGA 12 Versi 12.0.4 dan Bioedit. Bahan yang digunakan meliputi data sekuensi gen blaCTX-M *K. pneumoniae* dalam format FASTA. Langkah-langkah yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu:

Pengumpulan Data

Data sekuens DNA yang digunakan dalam analisis ini dikumpulkan melalui database

GenBank yang dikelola oleh National Center For Biotechnology Information (NCBI). Pengumpulan data dilakukan dengan melakukan pencarian di NCBI dengan kata kunci “Gen blaCTX-M *K. pneumoniae*” pada database nukleotida sebanyak 19 sekuens dan setiap sekuens DNA yang digunakan disimpan dalam file yang sama dengan format FASTA agar dapat terhubung dengan aplikasi penyelarasan dan analisis selanjutnya (Zheng *et al.*, 2018).

Penyelarasan sekuens

Data sekuens DNA yang telah diperoleh dan disimpan dalam format FASTA selanjutnya dilakukan penyelarasan dengan menggunakan aplikasi BioEdit untuk menghapus bagian yang tidak diperlukan, seperti merapikan susunan sekuens DNA agar analisis selanjutnya menggunakan sampel sekuens DNA yang panjangnya sama. Penyelarasan dilakukan dengan menggunakan ClustalW yang ada pada BioEdit (Alzohairy, 2011).

Analisis Filogenetik

Hasil penyelarasan tadi selanjutnya dianalisis dengan menggunakan aplikasi MEGA 12 (Kumar *et al.*, 2018). Membangun pohon filogenetik dilakukan dengan menggunakan metode Neighbor-Joining. Selanjutnya data diproses lebih lanjut dengan membuat tabel filogeni untuk melihat tingkat kekerabatan (Kumar *et al.*, 2016). Hasil pohon filogenik dan tabel similaritas kemudian dapat digunakan sebagai analisis variasi nukleotida dan tingkat kedekatan hubungan antar isolat *K. pneumoniae*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Deskripsi Umum Analisis

Analisis bioinformatika ini dilakukan untuk mengkaji variasi genetik gen blaCTX-M pada *K. pneumoniae* yang diperoleh dari database nukleotida NCBI. Sekuens gen yang digunakan sebanyak 19 yang berasal dari negara yang berbeda-beda dengan tujuan untuk mengetahui gen blaCTX-M yang resistensi antibiotik ini berubah, menyebar dan berkembang di tingkat global. Dengan data dari berbagai negara, penelitian ini dapat

membandingkan variasi nukleotida dan asam amino yang ada berbagai wilayah. Hal tersebut dapat dijadikan acuan untuk mengetahui pola mutasi tertentu yang hanya muncul di negara atau benua tertentu. Selain itu, data lintas negara yang digunakan untuk menentukan kedekatan dan

perbedaan evolusi antar sekuens melalui perhitungan jarak genetik dan analisis pohon filogenetik dapat dianalisis dengan menggunakan software MEGA 12. Analisis pohon filogenetik yang digunakan menggunakan metode Neighbor-Joining (NJ).

Tabel 1. Data Sekuens Gen blaCTX-M pada *Klebsiella pneumoniae* dari Database NCBI

Kode Akses GenBank	Varian	Panjang sekuens (bp)	Status CDS	Negara asal	Benua
NG_049011	CTX-M-60	941	Lengkap CDS	Bogota, Colombia	Amerika selatan
NG_049013	CTX-M-62	1076	Lengkap CDS	Sydney, Australia	Australia
AY_847148	CTX-M (tipe pKP308)	925	Lengkap CDS	Anhui, China	Asia
NG_244502	CTX-M-279	876	Lengkap CDS	USA	Amerika utara
NG_228668	CTX-M-266	876	Lengkap CDS	Wales, UK	Eropa
OP_807062	CTX-M-15	989	Lengkap CDS	Manama, Bahrain	Asia
MK_113960	CTX-M-115	1007	Lengkap CDS	Russia	Asia
NG_068506	CTX-M-236	1070	Lengkap CDS	Taiwan	Asia
FJ_815436	CTX-M-71	1174	Lengkap CDS	Bulgaria	Eropa
MH_190887	CTX-M-15	876	Lengkap CDS	Portugal	Eropa
KT_997884	CTX-M-173	876	Lengkap CDS	Kuwait	Asia
MF_281085	CTX-M-204	876	Lengkap CDS	Jerman	Eropa
MH_661222	CTX-M-15	876	Parsial CDS	Brazil	Amerika selatan
MN_200769	CTX-M-15	876	Parsial CDS	Iraq	Asia
MK_559063	CTX-M	873	Parsial CDS	Gabon	Afrika
NG_048898	CTX-M-10	1076	Lengkap CDS	Spanyol	Eropa
MW_657987	CTX-M	873	Parsial CDS	India	Asia
MK_585512	CTX-M	825	Parsial CDS	Pakistan	Asia
KR_811026	CTX-M-96	876	Lengkap CDS	Chili	Amerika selatan

Hasil pengamatan dari data sekuens gen blaCTX-M yang diperoleh dari GenBank NCBI menunjukkan rentang panjang sekuens yang digunakan bervariasi mulai dari 825 bp sampai 1174 bp. Varian gen yang berbeda juga terlihat pada tabel 1, dimana varian tersebut merupakan versi-versi berbeda dari gen blaCTX-M yang muncul akibat mutasi kecil pada susunan basa DNA. Perubahan ini menyebabkan setiap varian memiliki ciri genetik yang unik. Meskipun demikian setiap varian memiliki fungsi sebagai penghasil enzim β -laktamase tipe *extended-spectrum* yang mampu merusak antibiotik β -laktam seperti cefotaxime dan ceftriaxone, sehingga berperan dalam resistensi klinis (Sudeep et al., 2025).

Varian dari gen blaCTX-M meliputi CTX-M-60, CTX-M-62, CTX-M(tipe pKP308), CTX-M-279, CTX-M-266, CTX-M-115, CTX-M-236, CTX-M-71, CTX-M-173, CTX-M-204, CTX-M-15, CTX-M-10, CTX-M, CTX-M-96. Hal tersebut

menunjukkan tingginya keragaman *gen Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL) pada *K. pneumoniae*. Sekuens yang ditemukan sebagian besar merupakan *Coding DNA Sequence* (CDS) lengkap dan terdapat lima data parsial. Asal dari sekuens yang ada berasal dari 6 Benua yaitu Benua Asia, Afrika, Amerika utara, Amerika Selatan, Australia, dan Benua Eropa, diantara Benua tersebut dominan sekuens berasal dari Benua Asia.

Tabel 2 menunjukkan sekuens query memiliki kesesuaian yang sangat tinggi dengan 19 sekuens yang terdapat pada tabel. Isolat NG_049011 dijadikan sekuens acuan pembandingan utama dari 19 sekuens. Hal ini dikarenakan sekuens ini memiliki nilai paling tinggi yaitu 100% identity, 100% query cover, dan total score tertinggi yaitu 1738. Berfungsi sebagai titik nol (baseline) untuk mendeteksi variasi pada isolat, seperti untuk menentukan pola mutasi, posisi perubahan nukleotida, maupun untuk melihat apakah variasi

yang muncul bersifat homogen atau terdistribusi acak (Ribeiro et al., 2015).

Isolat yang dibandingkan terhadap sekuens NG_049011 menunjukkan hasil tingkat kemiripan berbeda, dimana tingkat tertinggi ditemukan pada KR_811026 dengan persentase identity 99,77%. Nilai ini menunjukkan bahwa variasinya hanya sekitar 0,23% terjadi 2 perubahan nukleotida. Hal

ini menandakan KR_811026 sangat dekat secara genetik dengan NG_049011 sehingga berada pada zona variasi minimal di dalam kelompok. Sebaliknya, isolat paling jauh adalah NG_048898 dengan identity 97,11% dan query cover 99%, menunjukkan bahwa isolat ini memiliki jumlah perubahan nukleotida yang jauh lebih besar atau sekitar 3% dari keseluruhan sekuens.

Tabel 2. Hasil Homologi Urutan Gen Bla CTX-M pada *Klebsiella Pneumoniae*

Isolat	Total score	Query Cover	E value	% identity
NG_049011	1738	100%	0,0	100,00%
NG_049013	1676	100%	0,0	98,83%
AY_847148	1639	97%	0,0	98,91%
NG_244502	1557	93%	0,0	98,74%
NG_228668	1557	93%	0,0	98,74%
OP_807062	1589	95%	0,0	98,88%
MK_113960	1613	96%	0,0	98,89%
NG_068506	1677	100%	0,0	98,83%
FJ_815436	1672	100%	0,0	98,72%
MH_190887	1563	93%	0,0	98,86%
KT_997884	1557	93%	0,0	98,74%
MF_281085	1563	93%	0,0	98,86%
MH_661222	1563	93%	0,0	98,86%
MN_200769	1563	93%	0,0	98,86%
MK_559063	1552	92%	0,0	98,85%
NG_048898	1576	99%	0,0	97,11%
MW_657987	1557	93%	0,0	98,85%
MK_585512	1474	88%	0,0	98,91%
KR_811026	1607	93%	0,0	99,77%

Rentang data menggambarkan pola variasi yang konsisten dan tidak menunjukkan outlier ekstrim. Rentang total score berada antara 1474-1738 menunjukkan perbedaan kekuatan kecocokan yang masih dalam kategori tinggi. Query cover berkisar 88-100%, menandakan beberapa isolat memiliki sedikit pemotongan ujung sekuen, namun tetap selaras secara keseluruhan. Rentang persentase identitas dari 97,11-100% memperlihatkan bahwa meskipun terdapat variasi,

semua isolat masih berada dalam satu klaster genetik yang sama, karena perbedaan kurang dari 5% biasanya menandakan satu spesies atau satu kelompok gen yang sama. Pola ini mengindikasikan bahwa hubungan evolusionernya cenderung membentuk grup yang rapat, dengan NG_049011 sebagai pusat referensi, isolat bernilai 98-99% sebagai kelompok menengah, dan NG_048898 sebagai batas variasi terjauh.

Tabel 3. Data Variasi Nukleotida Isolat Gen Bla CTX-M pada *Klebsiella Pneumoniae*

Kode Akses Genbank	Lokasi Variasi	Variasi	Sintesis Asam Amino	Jenis Variasi	Jumlah Variasi
NG_049011	-	-	-	-	-
NG_049013	560, 596, 688, 697	C→T, A→G, A→C, G→T,	Ile, Arg, Pro, Ser	Nonsynonymous	4
	327, 789	G→A, C→T	Arg, Gly	Synonymous	2
AY_847148	79, 157, 336, 560, 596, 628, 667	A→G, T→A, C→A, C→T, A→G, G→A, C→T	Asp, Ser, Lys, Ile, Arg, Lys, Cys	Nonsynonymous	7

	520, 789	G→C, C→T	Thr, Gly	Synonymous	2
NG_244502	79, 110, 157, 520, 560, 596, 628, 667	A→G, T→C, T→A, C→A, C→T, A→G, G→A, C→T	Asp, Ala, Ser, Lys, Ile, Arg, Lys, Cys	Nonsynonymous	8
	789	C→T	Gly	Synonymous	1
NG_228668	13, 110, 157, 520, 560, 596, 628, 667	T→G, T→C, T→A, C→A, C→T, A→G, G→A, C→T	Val, Ala, Ser, Lys, Ile, Arg, Lys, Cys	Nonsynonymous	8
	789	C→T	Gly	Synonymous	1
OP_807062	79, 110, 157, 520, 560, 596, 628, 667	A→G, T→C, T→A, C→A, C→T, A→G, G→A, C→T	Asp, Ala, Ser, Lys, Ile, Arg, Lys, Cys	Nonsynonymous	8
	789	C→T	Gly	Synonymous	1
MK_113960	79, 110, 157, 520, 560, 596, 628, 667	A→G, T→C, T→A, C→A, C→T, A→G, G→A, C→T	Asp, Ala, Ser, Lys, Ile, Arg, Lys, Cys	Nonsynonymous	8
	789	C→T	Gly	Synonymous	1
NG_068506	79, 110, 157, 520, 560, 596, 628, 667	A→G, T→C, T→A, C→A, C→T, A→G, G→A, C→T	Asp, Ala, Ser, Lys, Ile, Arg, Lys, Cys	Nonsynonymous	8
	789	C→T	Gly	Synonymous	1
FJ_815436	79, 110, 157, 520, 560, 596, 628, 667	A→G, T→C, T→A, C→A, C→T, A→G, G→A, C→T	Asp, Ala, Ser, Lys, Ile, Arg, Lys, Cys	Nonsynonymous	8
	114, 789	C→A, C→T	Thr, Gly	Synonymous	2
MH_190887	79, 110, 157, 520, 560, 596, 628, 667	A→G, T→C, T→A, C→A, C→T, A→G, G→A, C→T	Asp, Ala, Ser, Lys, Ile, Arg, Lys, Cys	Nonsynonymous	8
	789	C→T	Gly	Synonymous	1
KT_997884	79, 110, 157, 377, 520, 560, 596, 628, 667	A→G, T→C, T→A, C→A, C→T, A→G, G→A, C→T	Asp, Ala, Ser, Lys, Ile, Arg, Lys, Cys	Nonsynonymous	8
	377, 789	C→T, C→T	Arg, Gly	Synonymous	2
MF_281085	79, 157, 332, 520, 560, 596, 628, 667	A→G, T→A, G→A, C→A, C→T, A→G, G→A, C→T	Asp, Ser, Asp, Lys, Ile, Arg, Lys, Cys	Nonsynonymous	8
	789	C→T	Gly	Synonymous	1
MH_661222	79, 110, 157, 520, 560, 596, 628, 667	A→G, T→C, T→A, C→A, C→T, A→G, G→A, C→T	Asp, Ala, Ser, Lys, Ile, Arg, Lys, Cys	Nonsynonymous	8
	789	C→T	Gly	Synonymous	1
MN_200769	79, 110, 157, 520, 560, 596, 628, 667	A→G, T→C, T→A, C→A, C→T, A→G, G→A, C→T	Asp, Ala, Ser, Lys, Ile, Arg, Lys, Cys	Nonsynonymous	8
	789	C→T	Gly	Synonymous	1
MK_559063	79, 110, 157, 520, 560, 596, 628, 667	A→G, T→C, T→A, C→A, C→T, A→G, G→A, C→T	Asp, Ala, Ser, Lys, Ile, Arg, Lys, Cys	Nonsynonymous	8
	789	C→T	Gly	Synonymous	1
NG_048898	28, 103, 157, 166, 181, 199, 226, 253, 259, 382, 460, 493, 541, 560, 596, 628, 670, 694, 697, 710, 743	A→G, G→A, T→A, G→A, G→A, T→C, G→A, C→A, A→C, G→A, A→G, C→T, A→G, C→T, A→G,	Gly, Thr, Ser, Thr, Ser, Arg, Thr, Thr, Arg, Asn, Glu, Phe, Asp, Ile, Arg,	Nonsynonymous	21

		G→A, T→C, T→C, G→T, C→T, G→A	Lys, Arg, Pro, Ser, Leu, His		
	304, 789	C→A, C→T	Arg, Gly	Synonymous	2
MW_657987	79, 110, 157, 520, 560, 596, 628, 667	A→G, T→C, T→A, C→A, C→T, A→G, G→A, C→T	Asp, Ala, Ser, Lys, Ile, Arg, Lys, Cys	Nonsynonymous	8
	789	C→T	Gly	Synonymous	1
MK_585512	79, 110, 157, 520, 560, 596, 628, 667	A→G, T→C, T→A, C→A, C→T, A→G, G→A, C→T	Asp, Ala, Ser, Lys, Ile, Arg, Lys, Cys	Nonsynonymous	8
	789	C→T	Gly	Synonymous	1
KR_811026	110, 596	T→C, A→G,	Ala, Arg	Nonsynonymous	2

Hasil alignment dari 19 sekuens gen blaCTX-M menunjukkan adanya pola variasi nukleotida yang menjadi dasar pembentukan hubungan filogenetik. Pada proses alignment, seluruh sekuens disusun sejajar untuk mengidentifikasi posisi basa yang sama dan posisi yang berbeda dengan menggunakan isolat NG_049011 sebagai isolat acuan. Hasil alignment dari ke-19 isolat blaCTX-M menunjukkan walaupun seluruh isolat berasal dari gen yang sama namun setiap sekuens memiliki variasi pada posisi nukleotidanya. berdasarkan hasil alignment ditemukan variasi nukleotida dari kesembilan belas isolat membentuk variasi yang sebagian besar non sinonimus (tabel 3)

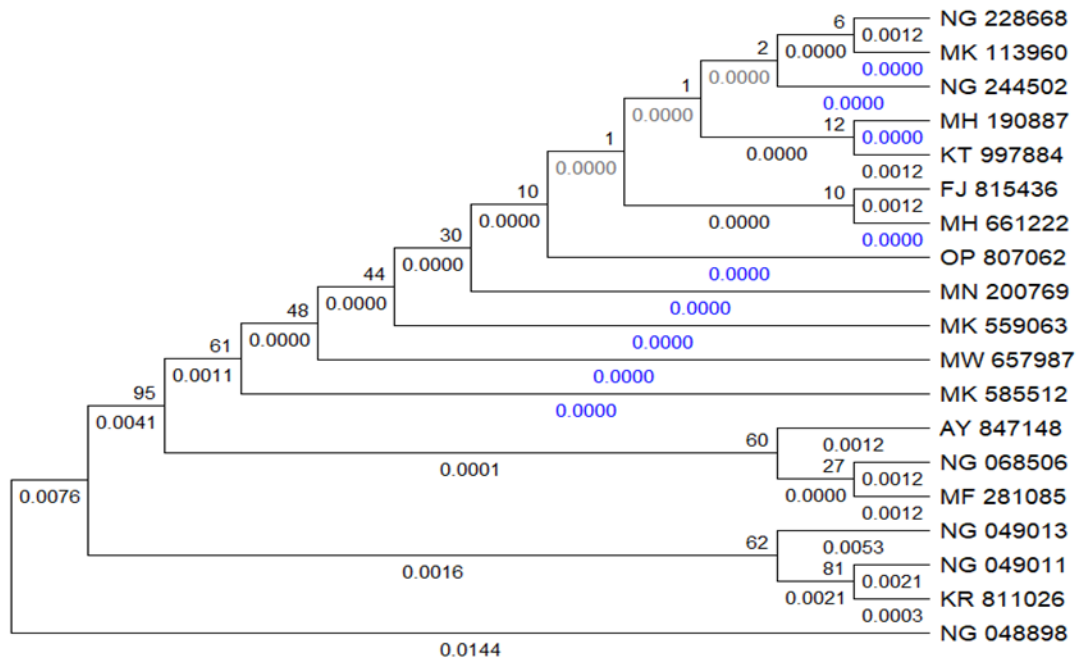
Isolat dengan variasi minor atau bahkan identik, hanya terdapat dua variasi yang ditemukan pada isolat seperti KR_811026. dua variasi tersebut ditemukan pada dua urutan berbeda yaitu pada 110 dan 596 dimana variasi basa nukleotida tersebut membentuk kodon yang mengkode asam amino berbeda. jumlah variasi yang rendah memberikan gambaran bahwa isolat ini memiliki kekerabatan genetik yang dekat dengan isolat acuan. selain isolat tersebut, terdapat juga NG_049013 yang memiliki variasi minim dengan jumlah variasi non sinonimus yang sedikit lebih banyak. meskipun terdapat variasi yang membentuk variasi nonsynonymous, jumlah variasi yang sedikit kemungkinan tidak memiliki pengaruh yang signifikan terhadap kinerja gen blaCTX-M sehingga protein β -laktamase yang dihasilkan kemungkinan tetap sama dengan fungsi yang normal (Patil et al., 2019).

Terdapat 15 isolat yang memiliki variasi sedang dengan variasi nukleotida sebagian besar membentuk kodon yang berbeda dengan isolat lainnya, sehingga ketika diterjemahkan kodon tersebut mengkode asam amino yang berbeda.

banyaknya variasi non sinonimus pada lokasi yang hampir sama mengindikasikan adanya perubahan residu asam amino di beberapa lokasi rentan, dimana perubahan ini dapat memberikan efek pada kinerja enzim, meskipun begitu kombinasi variasi yang dihasilkan dapat memberikan efek lanjutan tergantung dari variasi tambahan. variasi tambahan tersebut dapat memperkuat maupun memperlemah efek yang dihasilkan (Patel et al., 2018).

Jumlah variasi non sinonimus pada kelompok variasi sedang lebih tinggi dari kelompok variasi minor, meskipun begitu pola variasi antar isolat dalam kelompok ini relatif serupa. pola tersebut memberikan gambaran bahwa isolat-isolat dalam kelompok masih berada dalam satu klaster yang sama, yang dapat diartikan bahwa kekerabatan antar isolat dekat satu sama lain. perubahan yang tidak terlalu ekstrim juga mengindikasikan bahwa setiap isolat memiliki rentang kekerabatan yang dekat dengan isolat acuan.

Isolat dengan variasi paling jauh yaitu isolat NG_048898, isolat ini memiliki variasi yang paling mencolok diantara variasi isolat lainnya. perbedaan nukleotidanya dapat divisualisasikan dengan mudah, dimana sebagian besar variasi yang ada pada isolat ini membentuk kodon yang mengkode asam amino yang berbeda dari keseluruhan isolat lainnya. variasi yang ditunjukkan dapat dilihat pada tabel 3. isolat variasi yang tinggi pada isolat ini dapat mengindikasikan bahwa isolat ini kemungkinan berasal dari isolat yang mengalami tekanan lingkungan berbeda, terjadi mutasi maupun sebagai bentuk dari hasil rekombinan. meskipun efek variasi dapat berbeda pada posisi yang berbeda, banyaknya variasi yang terbentuk memiliki indikasi dapat berpotensi mempengaruhi sifat atau kinerja dari enzim beta-laktamase (Qin dan Zhang, 2023).



Gambar 1. Pohon Filogenik Isolat Gen blaCTX-M yang Mengkode β -Laktamase pada *Klebsiella pneumoniae*

Tabel 4. Jarak Genetik Gen blaCTX-M pada *Klebsiella pneumoniae* dari Database NCBI

	NG_0 4901	NG_0 4901	AY_8 4714	NG_2 4450	NG_2 2866	OP_8 0706	MK_1139	NG_0 6850	FJ_81 5436	MH_1908	KT_9 9788	MF_2 8108	MH_6612	MN_2007	MK_5590	NG_0 4889	MW_6579	MK_5855	KR_8 1102
	1	3	8	2	8	2	60	6		87	4	5	22	69	63	8	87	12	6
NG_049011																			
NG_049013	0,009																		
AY_847148	0,011	0,012																	
NG_244502	0,011	0,012	0,002																
NG_228668	0,012	0,013	0,004	0,001															
OP_807062	0,011	0,012	0,002	0,000	0,001														
MK_113960	0,011	0,012	0,002	0,000	0,001	0,000													
NG_068506	0,011	0,012	0,002	0,002	0,004	0,002	0,002												
FJ_815436	0,012	0,013	0,004	0,001	0,002	0,001	0,001	0,004											
MH_190887	0,011	0,012	0,002	0,000	0,001	0,000	0,000	0,002	0,001										
KT_997884	0,012	0,013	0,004	0,001	0,002	0,001	0,001	0,004	0,002	0,001									
MF_281085	0,011	0,012	0,002	0,002	0,004	0,002	0,002	0,002	0,004	0,002	0,004								
MH_661222	0,011	0,012	0,002	0,000	0,001	0,000	0,000	0,002	0,001	0,000	0,001	0,002							
MN_200769	0,011	0,012	0,002	0,000	0,001	0,000	0,000	0,002	0,001	0,000	0,001	0,002	0,000						
MK_559063	0,011	0,012	0,002	0,000	0,001	0,000	0,000	0,002	0,001	0,000	0,001	0,002	0,000	0,000					
NG_048898	0,029	0,027	0,027	0,027	0,029	0,027	0,027	0,027	0,029	0,027	0,029	0,027	0,027	0,027	0,027	0,027			
MW_657987	0,011	0,012	0,002	0,000	0,001	0,000	0,000	0,002	0,001	0,000	0,001	0,002	0,000	0,000	0,000	0,027			
MK_585512	0,011	0,012	0,002	0,000	0,001	0,000	0,000	0,002	0,001	0,000	0,001	0,002	0,000	0,000	0,000	0,027	0,000		
KR_811026	0,002	0,009	0,011	0,009	0,010	0,009	0,009	0,011	0,010	0,009	0,010	0,011	0,009	0,009	0,009	0,029	0,009	0,009	

Analisis pohon filogenetik dengan menggunakan metode Neighbor-Joining (NJ) dengan model Kimura 2-parameter dan bootstrap 1000 kali digunakan untuk mengevaluasi tingkat kepercayaan pada setiap cabang pohon. Proses bootstrap dilakukan dengan cara mengambil ulang (resampling) posisi nukleotida dari alignment secara acak sebanyak 1000 set, sehingga setiap set menghasilkan pohon baru yang kemudian dibandingkan dengan pohon utama. Jika suatu cabang muncul secara konsisten pada banyak pohon hasil bootstrap, maka cabang tersebut dianggap kuat

dan stabil. Hal ini ditunjukkan oleh nilai bootstrap yang tinggi, biasanya $\geq 70\%$ (Sharma dan Kumar, 2021).

Metode NJ menyusun pohon berdasarkan jarak genetik. Semakin kecil nilai jarak antar sekuens semakin dekat keduanya di cabang yang sama. Pada data pohon filogenetik panjang cabang yang muncul berkisar antara 0.0000 hingga 0.0144, dimana nilai yang rendah menunjukkan hampir tidak ada perbedaan nukleotida. Sedangkan nilai yang tinggi menunjukkan akumulasi mutasi yang signifikan. Jarak genetik ini memiliki arti bahwa

jarak evolusi sangat mirip, karena yang namanya variasi gen resistensi biasanya kecil. Nilai bootstrap yang muncul dari 1 sampai 95 menunjukkan bahwa ada bagian pohon yang sangat kuat dukungannya terutama di node-node awal yang percabangannya rapat. Isolat dengan jarak 0.0000-0.0012 biasanya masuk dalam klaster yang sama, karena perbedaan nukleotidanya sangat kecil..

Pola percabangan dan jarak terbentuk dari 19 isolat yang digunakan. Pola tersebut membentuk hubungan kekerabatan dari isolat yang digunakan. Terdapat 2 klaster besar pada pohon filogeni. Klaster 1 merupakan kelompok dengan kekerabatan paling erat 0.0000-0.0053, seperti NG 228668, MK 113960, NG 244502, MH 190887, KT 997884, FJ 815436, MH 661222, OP 807062, MN 200769, MK 559063, MW 657987, MK 585512, AY 847148, NG 068506, MF 281085, NG 049013, NG 049011 dan KR 811026 Hal ini menunjukkan gen blaCTX-M pada kelompok ini memiliki sekuens hampir sama atau bahkan identik (Baron et al., 2021).

Kondisi ini mengindikasikan bahwa gennya berasal dari sumber yang sama dan baru menyebar dalam waktu yang belum lama atau belum banyak terjadi mutasi. Selain hal tersebut pola cabang yang sangat rapat pada klaster utama menunjukkan bahwa dataset ini didominasi oleh isolat yang sangat mirip, dengan satu atau dua sekuens yang mengalami divergensi rendah sehingga pohon ini menggambarkan struktur genetik yang relatif homogen dengan variasi yang terlokalisasi pada bagian tertentu saja. Protein β -laktamase yang dihasilkan juga sama, sehingga kemampuan menghancurkan antibiotik β -laktam seperti cefotaxime dan ceftriaxone tetap konsisten (Sudeep et al., 2025). Cefotaxime dan ceftriaxone merupakan antibiotik β -laktam generasi ketiga dari golongan sefalosporin yang bekerja dengan menghambat sintesis dinding sel bakteri melalui pengikatan pada penicillin-binding proteins (PBP), enzim penting untuk pembentukan peptidoglikan (Mardhia, et al., 2025)

Klaster 2 merupakan kelompok memiliki cabang yang lebih panjang dari sekuens yang lain. Pada klaster ini hanya terdapat satu isolat yaitu NG_048898 dengan jarak cabangnya 0.0144. Varian gen dari isolat ini yaitu CTX-M-10 dan berasal dari Spanyol, Benua Eropa. Perbedaan yang

dimiliki isolat ini cukup besar dan sangat berbeda dari isolat lain dan untuk melihat arah evolusi kelompok lainnya. Secara keseluruhan, pohon filogenetik menunjukkan adanya beberapa klaster utama dari varian blaCTX-M yang di analisis. Setiap klaster menunjukkan hubungan genetik yang berbeda. Hal tersebut menunjukkan jalur evolusi yang spesifik antar varian nya. Klaster 2 memiliki posisi yang paling jauh dibandingkan klaster lainnya dan memiliki jarak genetik yang lebih besar yang menandakan akumulasi mutasi yang lebih banyak. Meskipun beberapa isolat juga berasal dari Eropa namun tidak semua mengikuti pola evolusi di wilayah tersebut. Penyebabnya dapat dikarenakan adanya mobilitas gen dari sumber non-lokal seperti makanan impor, hewan migrasi atau lingkungan air limbah (Saeed et al., 2023).

KESIMPULAN

Hasil alignment 19 isolat gen blaCTX-M menunjukkan dua klaster berdasarkan variasi nukleotida yaitu klaster pertama berisi 18 isolat dengan jarak genetik 0.0000-0.0053 sehingga β -laktamase serupa, klaster kedua terdiri dari satu isolat yaitu NG_048898 dengan jarak 0.0144 dan berasal dari Spanyol. jumlah variasi nukleotida yang ditemukan sebanyak 168, dengan 146 variasi nonsynonymous dan 22 variasi synonymous. Analisis pohon filogenetik menggunakan Neighbor-Joining dan bootstrap 1000 kali memperlihatkan panjang cabang sesuai akumulasi mutasi, menunjukkan hubungan kekerabatan antar isolat, jalur evolusi spesifik varian, serta potensi dampak variasi nukleotida terhadap fungsi β -laktamase.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada dosen pembimbing atas arahan, masukan, dan dukungan akademik yang diberikan selama proses pelaksanaan dan penyusunan penelitian ini. Penulis juga berterima kasih kepada pihak yang menyediakan akses terhadap sumber data dan perangkat lunak yang digunakan dalam analisis penelitian ini.

KONTRIBUSI PENULIS

Penelitian ini dilakukan secara kerja bersama sesuai dengan tugas masing-masing baik dalam pengisolasian bakteri maupun tahapan penulisan.

KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan tidak ada intervensi kepentingan dalam kegiatan penelitian ini.

REFERENSI

- Alzohairy, A. M. (2011). BioEdit: An important software for molecular biology. *GERF Bulletin of Biosciences*, 2(1), 60-61.
- Baron, S. A., Mediannikov, O., Abdallah, R., Yimagou, E. K., Medkour, H., Dubourg, G., Elamire, Y., dan Raoult, D., (2021). Multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* clones from wild chimpanzees and termites in Senegal. *Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 17 August 2021
- Becker, L., Fuchs, S., Pfeifer, Y., Semmler, T., Eckmanns, T., Korr, G., Sissolak, D., Friedrichs, M., Zill, E., Tung, M.-L., Dohle, C., Kaase, M., Gatermann, S., Rüssmann, H., Steglich, M., Haller, S., dan Werner, G. (2018). Whole genome sequence analysis of CTX-M-15 producing *Klebsiella* isolates allowed dissecting a polyclonal outbreak scenario. *Frontiers in Microbiology*, 9, 322.
- Huang, W., Wang, G., Sebra, R., Zhuge, J., Yin, C., Aguerro-Rosenfeld, M. E., Schuetz, A. N., Dimitrova, N., dan Fallon, J. T. (2017). Emergence and evolution of multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* with both blaKPC and blaCTX-M integrated in the chromosome. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 61(7), 1-11.
- Jamal, A., Hermawan, D., dan Nugraha, M. (2014). Pengembangan database Genbank UAI-Bioinformatics menggunakan sistem terdistribusi. *Al-Azhar Indonesia Seri Sains dan Teknologi*, 2(3), 170-177.
- Kumar, S., Ryan, S., dan Hall, T. (2016). Building evolutionary trees using MEGA software: A hands-on approach for students. *The American Biology Teacher*, 78(7), 608-612
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., dan Tamura, K. (2018). MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6), 1547-1549.
- Lenchenko, E., Blumenkrants, D., Sachivkina, N., Shadrova, N., dan Ibragimova, A. (2020). Morphological and adhesive properties of *Klebsiella pneumoniae* biofilms. *Veterinary World*, 13(1), 197.
- Makatita, F. A. (2020). Riset in silico dalam pengembangan sains di bidang pendidikan, studi kasus: analisis potensi cendana sebagai agen anti-aging. *Jurnal ABDI (Sosial, Budaya dan Sains)*, 2(1).
- Mardhia, M., Liana, D. F., Mahyarudin, M., dan Ih, H. (2025). The first report of antibiotic resistance and virulence factor profiles in multidrug-resistant clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* from Pontianak, Indonesia. *Osong Public Health and Research Perspectives*, 16(2), 160-16.
- Mastra, N., S., K. M., Sundari, C. D. W. H., S., K.M., Jirna, I. N., S., K. M., dan Ashari, D. (2025). *Bakteriologi klinik*. CV Rey Media Grafika.
- Palzkill, T. (2018). Structural and mechanistic basis for extended-spectrum drug-resistance mutations in altering the specificity of TEM, CTX-M, and KPC β -lactamases. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 5, 16.
- Patel, M. P., Hu, L., Brown, C. A., Sun, Z., Adamski, C. J., Stojanoski, V., Sankaran, B., Prasad, B. V. V., dan Palzkill, T. (2018). Synergistic effects of functionally distinct substitutions in β -lactamase variants shed light on the evolution of bacterial drug resistance. *The Journal of biological chemistry* 293(46): 17971-17984.
- Patil, S., Chen, X., dan Wen, F. (2019). Exploring the phenotype and genotype of multi-drug resistant *Klebsiella pneumoniae* harbouring blaCTX-M group extended-spectrum β -lactamases recovered from paediatric clinical cases in Shenzhen, China. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 18, 2.
- Poirel, L., Naas, T., Le Thomas, I., Karim, A., Bingen, E., dan Nordmann, P. (2001). CTX-M-type extended-spectrum β -lactamase that hydrolyzes ceftazidime through a single amino acid substitution in the omega loop. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45(12), 3355-3361.
- Pratiwi, R. H. (2017). Mekanisme pertahanan bakteri patogen terhadap antibiotik. *Pro-Life*, 4(3), 418-429.
- Qin, X., dan Zhang, Z. (2023). Emergence of a Hybrid Inc11-Ia Plasmid-Encoded blaCTX-M-101 Conferring Resistance to Cephalosporins in *Salmonella enterica* Serovar Enteritidis. *Microorganisms*, 11(5), 1275.
- Ribeiro, A., Golicz, A., Hackett, C. A., Milne, I., Stephen, G., Marshall, D., Flavell, A. J., & Bayer, M. (2015). *An investigation of causes of*

- false positive single nucleotide polymorphisms using simulated reads from a small eukaryote genome*, BMC Bioinformatics, 16, 382.
- Rodríguez, M. M., Power, P., Naas, T., dan Gutkind, G. (2021). Redefining the origin and evolution of chromosomally encoded blaCTX-M/KLU in the context of a revised taxonomy of genus *Kluyvera*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 65(7), 1-6.
- Saeed, M. A., Khan, A. U., Ehtisham-ul-Haque, S., Waheed, U., Qamar, M. F., Rehman, A. u., Nasir, A., Zaman, M. A., Kashif, M., Gonzalez, J.P., dan Hosny El-Adawy, H. (2023). Detection and phylogenetic analysis of extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-genetic determinants in Gram-negative fecal-microbiota of wild birds and chicken originated at Trimmu Barrage. *Antibiotics*, 12(1376).
- Sharma, S., dan Kumar, S. (2021). Fast and accurate bootstrap confidence limits on genome-scale phylogenies using little bootstraps. *Nature Computational Science*, 1(9), 573–577.
- Sudeep, K. C., Khanal, S., Han, Z., Joshi, T. P., Zhang, Y., Yang, M., dan Joshi, D. R. (2025). Genomic insights into the extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated from hospital wastewater in Nepal. *Total Environment Microbiology*, 1(4), 1-7.
- Tarina, N. T. I., dan Kusuma, S. A. F. (2017). Deteksi bakteri *Klebsiella pneumoniae*. *Farmaka*, 15(2), 119–126.
- Tongsima, S., Assawamakin, A., Piriyaongsa, J., and Shaw, P.J., 2011, Comparative View of In Silico DNA Sequencing Analysis Tools, *Methods in Molecular Biology*, 790: 207-221.
- Tu, I. F., Lin, T. L., Yang, F. L., Lee, I. M., Tu, W. L., Liao, J. H., dan Wu, S. H. (2022). Structural and biological insights into *Klebsiella pneumoniae* surface polysaccharide degradation by a bacteriophage K1 lyase: Implications for clinical use. *Journal of Biomedical Science*, 29(1), 9.
- Wyres, K. L., Hawkey, J., Hetland, M. A. K., Fostervold, A., Wick, R. R., Judd, L. M., Hamidian, M., Howden, B. P., Löhr, I. H., dan Holt, K. E. (2019). Emergence and rapid global dissemination of CTX-M-15-associated *Klebsiella pneumoniae* strain ST307. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 74(3), 577-581.
- Zhang, C., Wang, Q., Li, Y., Teng, A., Hu, G., Wuyun, Q., dan Zheng, W. (2024). The Historical Evolution and Significance of Multiple Sequence Alignment in Molecular Structure and Function Prediction. *Biomolecules*, 14 (12), 1531.
- Zhang, D., Kan, X., Huss, S. E., Jiang, L., Chen, L. Q., dan Hu, Y. (2018). Using Phylogenetic Analysis to Investigate Eukaryotic Gene Origin. *Journal of visualize experiments : JOVE*, (138), 56684.
- Zhang, J., Xu, Y., Wang, M., Li, X., Liu, Z., Kuang, D., Deng, Z., Ou, H.-Y., dan Qu, J. (2023). Mobilizable plasmids drive the spread of antimicrobial resistance genes and virulence genes in *Klebsiella pneumoniae*. *Genome Medicine*, 15, 106.