

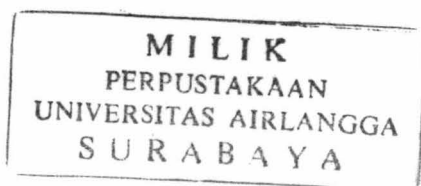
Karya Ilmiah Akhir

**PENGARUH HIPEROKSIA HIPERBARIK TERHADAP  
PERTUMBUHAN *METHICILLIN-RESISTANT STAPHYLOCOCCUS  
AUREUS* (MRSA) PENYEBAB INFEKSI LUKA OPERASI**

**(Studi *In Vitro*)**

PPDS. IB. 17/10

Sum  
P



Oleh :

Anang Mufti Sumarsono, dr

Pembimbing :

Bedah : Prof. Sunarto Reksoprawiro, dr. SpB(K) Onk

Mikrobiologi : Prof. Dr. Ni Made Mertaniasih, dr. MS. SpMK

Hiperbarik : Dr. Guritno, dr. SMHS. DEA

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-I  
LABORATORIUM ILMU BEDAH FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA / RSU Dr. SOETOMO SURABAYA**

**2009**

**LEMBAR PENGESAHAN KARYA ILMIAH AKHIR PPDS-I ILMU BEDAH**

**PENGARUH HIPEROKSIA HIPERBARIK TERHADAP PERTUMBUHAN**  
***METHICILLIN-RESISTANT STAPHYLOCOCCUS AUREUS (MRSA)***  
**PENYEBAB INFEKSI LUKA OPERASI**  
**( Studi *In Vitro* )**

Telah disetujui oleh:

Panitia penguji pada tanggal 06 Februari 2009

Sebagai persyaratan dalam mendapatkan keahlian di bidang Ilmu Bedah Umum dalam Program Studi Ilmu Bedah Umum Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

Oleh:

Anang Mufti Sumarsono, dr

Pembimbing:

Prof. Sunarto Reksoprawiro, dr. SpB(K) Onk



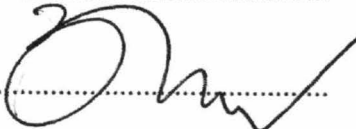
.....

Prof. Dr. Ni Made Mertaniasih, dr. MS. SpMK



.....

Dr. Guritno, dr. SMHS. DEA



.....

Mengetahui

Mengetahui

Ketua Program Studi Ilmu Bedah

Koordinator Penelitian PS Ilmu bedah



Yoga Wijayahadi, dr. FINACS



Dr. Vicky Sumarki B, dr. SpB (K) BD

**LEMBAR PERSETUJUAN HASIL KOREKSI KARYA AKHIR**

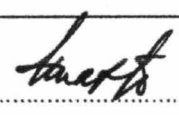
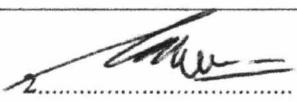
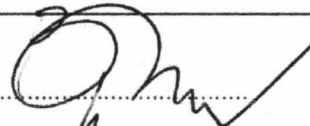

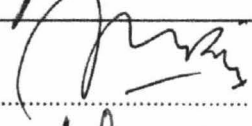
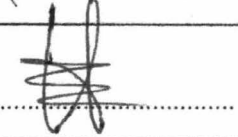
Nama : Anang Mufti Sumarsono, dr

Program Studi : Ilmu Bedah

Judul : **PENGARUH HIPEROKSIA HIPERBARIK TERHADAP  
PERTUMBUHAN *METHICILLIN-RESISTANT*  
*STAPHYLOCOCCUS AUREUS* (MRSA) PENYEBAB INFEKSI  
LUKA OPERASI ( Studi *In Vitro* )**

Ujian Karya Akhir, 06 Februari 2009

**TIM PENGUJI**

No	NAMA	TANDA TANGAN
1	Prof. Sunarto Reksoprawiro, dr, SpB(K)Onk	1. 
2	Prof. Dr. Ni Made Mertaniasih, dr. MS. SpMK	2. 
3	Dr. Guritno, dr. SMHS. DEA	3. 
4	Dr. Heru Purwanto, SpB(K)Onk	4. 
5	Adria Hari Astawa, dr. SpBSpBA	5. 
6	Yoga Wijayahadi, dr. SpB	6. 

Surabaya, 19 Februari 2009

Mengetahui:

KPS Ilmu Bedah



Yoga Wijayahadi, dr. SpB

Peneliti



Anang Mufti Sumarsono, dr

## KATA PENGANTAR

Segala puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT yang telah memberikan karunia-Nya sehingga karya ilmiah akhir ini dapat diselesaikan sebagai salah satu persyaratan untuk menyelesaikan program pendidikan dokter spesialis I bidang studi Ilmu Bedah di Laboratorium Ilmu Bedah FK Unair/ RSUD Dr. Soetomo Surabaya.

Karya ilmiah ini berjudul pengaruh hiperoksia hiperbarik terhadap pertumbuhan *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) penyebab infeksi luka operasi, suatu studi *in vitro*.

Dalam penulisan laporan karya ilmiah akhir ini masih jauh dari sempurna, adanya kritik dan saran sangat dibutuhkan untuk perbaikan dan penyempurnaan karya akhir ini.

Penulis juga menyatakan rasa hormat dan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah ikut membimbing, mendidik, dan membantu saya selama menempuh pendidikan program pendidikan spesialis saya.

Dalam kesempatan ini, saya menyatakan rasa terima kasih sebesar-besarnya dan penghargaan setinggi-tingginya kepada :

1. Rektor Universitas Airlangga Surabaya, atas kesempatan yang diberikan kepada saya untuk mengikuti program pendidikan spesialis dalam bidang studi Ilmu Bedah di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.



2. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya, atas kesempatan yang diberikan kepada saya untuk mengikuti program pendidikan spesialis dalam bidang studi Ilmu Bedah di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya
3. Direktur Rumah Sakit Umum Dr. Soetomo Surabaya, atas kesempatan yang diberikan kepada saya sehingga dapat bekerja sekaligus menimba ilmu di Rumah Sakit Dr. Soetomo Surabaya.
4. Yoga Wijayahadi, dr. SpB(K)KL, selaku Ketua Program Studi Ilmu Bedah sekaligus sebagai penguji dalam karya tulis ilmiah akhir saya, yang atas ketekunan, ketelitian dan kesabaran beliau dalam memberikan arahan dalam penelitian saya serta menanamkan disiplin yang tinggi selama saya menempuh pendidikan.
5. Prof. Sunarto Reksoprawiro, dr. SpB(K)Onk, selaku Ketua Departemen Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga sekaligus sebagai pembimbing I penelitian ini, yang telah memberikan arahan dalam penelitian saya serta selalu memberikan motivasi dan bimbingan selama saya menjalani pendidikan.
6. Prof. Dr. Ni Made Mertaniasih, dr. MS. SpMK, selaku pembimbing II penelitian ini, yang telah memberi arahan, bimbingan dan dengan penuh kesabaran membantu penyelesaian penelitian ini.
7. Laksamana Pertama Dr. Guritno, dr. SMHS. DEA, selaku pembimbing III penelitian ini, yang telah memberi motivasi dan bimbingan, arahan serta perlindungan dalam melaksanakan penelitian ini.

8. Dr. Heru Purwanto, dr, SpB(K)Onk, sebagai penguji karya tulis ilmiah akhir saya, yang atas ketekunan, kesabaran dan ketelitian beliau dalam memberikan arahan dan koreksi penelitian ini.
9. Adria Hari Astawa, dr, SpBSpBA, sebagai penguji karya tulis ilmiah akhir saya, yang atas ketekunan, kesabaran dan ketelitian beliau dalam memberikan arahan dan koreksi penelitian ini.
10. Dr. Vicky Sumarki B, dr SpB(K)BD, selaku koordinator bidang penelitian sekaligus penguji proposal karya tulis ilmiah akhir saya yang atas kesabaran dan ketelitian beliau dalam memberikan arahan dalam penelitian saya.
11. Dr. Heru Koesbianto, dr. SpB(K)TKV, sebagai penguji proposal karya tulis ilmiah akhir saya, yang atas ketekunan, kesabaran dan ketelitian beliau dalam memberikan arahan dalam penelitian saya.
12. Budiono, dr, MS, yang telah meluangkan waktu dan pikirannya dalam membimbing saya khususnya dalam bidang statistik dan metodologi penelitian.
13. Kolonel Laut (K) dr. Rahardjo Ario Mataram, selaku Kepala Lakesla, yang telah memberi fasilitas tempat penelitian saya sehingga dapat dilaksanakan dengan dukungan penuh baik moril maupun spirituil.
14. Seluruh Senior dan Staf SMF Ilmu Bedah FK Unair-RSU Dr. Soetomo yang telah berkenan mendidik dan membimbing penulis selama masa pendidikan di laboratorium ini.
15. Seluruh teman sejawat / rekan residen, paramedik, dan karyawan di lingkungan Bagian Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

- RSU Dr. Soetomo Surabaya yang telah banyak membantu dan jalinan kerjasama yang baik selama masa pendidikan maupun selama menyelesaikan penelitian ini.
16. Semua pihak yang telah membantu dalam kelancaran penelitian ini serta ucapan terima kasih yang tulus saya sampaikan kepada seluruh pasien yang telah memberikan peranan besar dalam penelitian ini.
17. Terima kasih dan rasa hormat saya yang tulus dan tak terhingga saya sampaikan kepada kedua orangtua saya yang tercinta, Bapak Abdul Mukti Amir (Alm) dan Ibu Mariani, yang dengan penuh kasih sayang mendidik dan membesarkan saya, memberikan dukungan semangat dan bantuan biaya selama pendidikan, serta senantiasa mendo'akan saya hingga dapat menempuh pendidikan dokter dan dokter spesialis bedah.
18. Kedua mertua saya Bapak Hambyah dan Ibu Sri Mariani dan seluruh keluarga atas pengertian dan pengorbanannya, yang dengan penuh kasih sayang memberikan dukungan semangat dan senantiasa mendo'akan saya hingga dapat menyelesaikan pendidikan dokter spesialis bedah.
19. Istriku tercinta Nur Faisjah, dr , anakku tersayang Andhika Daniswara Mufti, terima kasih untuk seluruh cinta, kasih sayang, pengorbanan, kesabaran, pengertian, dan do'a yang tak pernah berhenti, yang terus menerus diberikan selama pendidikan saya.

Surabaya, 9 Februari 2008

Penulis

## Pengaruh Hiperoksia Hiperbarik terhadap Pertumbuhan *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) Penyebab Infeksi Luka Operasi

Anang Mufti, Sunarto Reksoprawiro, Ni Made Mertaniasih, Guritno

### ABSTRAK

**Latar belakang :** *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) adalah bakteri yang memiliki potensi resisten terhadap berbagai antibiotik di rumah sakit. Prevalensi MRSA di berbagai negara cenderung meningkat. Di Indonesia, dilaporkan peningkatan MRSA dari 2,5% pada tahun 1986 menjadi 9,4% pada tahun 1993 dan meningkat 23,5% pada tahun 2006. Survei di SMF Ilmu Bedah RSUD dr Soetomo Surabaya pada bulan Januari - Agustus 2008 dilaporkan 34,92% terdeteksi MRSA dari 63 isolat *Staphylococcus aureus* dari infeksi luka operasi. Infeksi MRSA pada pasien, mengakibatkan morbiditas bahkan mortalitas, perawatan lebih lama serta biaya yang tinggi. Untuk membantu proses penyembuhan, perlu diteliti kemungkinan modalitas terapi tambahan untuk mengatasi infeksi bakteri MRSA. Terapi oksigen hiperbarik (HBOT) pada tekanan hiperoksia hiperbarik 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> menimbulkan luapan senyawa oksigen reaktif (SOR) yang tidak dapat diatasi oleh enzimatis dalam sel organisme, sehingga memungkinkan peningkatan kematian sel. Berdasarkan efek hiperoksia hiperbarik pada sel organisme, kemungkinan juga memiliki efek toksik terhadap bakteri strain MRSA.

**Tujuan :** Mempelajari pengaruh hiperoksia hiperbarik 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> terhadap pertumbuhan bakteri MRSA penyebab infeksi luka operasi secara *in vitro*.

**Metode :** Studi eksperimental laboratoris pada bakteri MRSA yang diperoleh dari infeksi luka operasi. Pada isolat MRSA dilakukan perlakuan dengan hiperoksia hiperbarik dosis terapi 1 sesi, 5 sesi dan 10 sesi secara *in vitro* dan kontrol penelitian dengan normoksia normobarik.

**Hasil :** Terdapat perbedaan jumlah koloni bakteri MRSA secara bermakna antara sebelum perlakuan dan setelah pemberian hiperoksia hiperbarik 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> baik pada 1 sesi, 5 sesi atau 10 sesi. Tidak terdapat perbedaan jumlah koloni kuman MRSA secara bermakna jika dibandingkan antara waktu pemberian hiperoksia hiperbarik 1 sesi, 5 sesi dan 10 sesi.

**Kesimpulan :** Pemberian hiperoksia hiperbarik 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> selama 90 menit, 450 menit dan 900 menit menghambat pertumbuhan MRSA atau menurunkan jumlah koloni (CFU/ml) secara signifikan ( $p < 0,05$ ).

**Kata kunci :** *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), hiperoksia hiperbarik

## **The Effect of Hyperbaric Hyperoxia to The Growth of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) from Surgical Site Infection**

Anang Mufti, Sunarto Reksoprawiro, Ni Made Mertaniasih, Guritno

### **ABSTRACT**

**Background :** Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) is a bacteria which have the resistance potential to many antibiotic in hospitals. The prevalence of MRSA in many countries was increasing. In Indonesia, the prevalences of MRSA from 2.5% in 1986, 9.4% in 1993, and increased to 23.5% in 2006 have been reported. A survey from 63 Staphylococcus aureus isolate of surgical site infection at Surgery Departement of Dr. Sutomo Hospital in January to August 2008 found 34.92% of the patients were infected by MRSA. MRSA infection might caused morbidity or mortality, longer hospital stay and higher treatment costs. Beside the antibiotic treatment, adjuvant treatment should be developed to get the maximal results againts MRSA infection. Hyperbaric oxygen therapy (HBOT) 2.4 ATA 100% O<sub>2</sub> increases the reactive oxygen species (ROS) which can not be surpass by enzymatic processes in the cells, and causes the cell death.

**Objectives :** To know the effect of hyperbaric hyperoxia 2.4 ATA 100% O<sub>2</sub> (therapeutic dose) on MRSA bacteria growth in vitro.

**Methods :** The study was a laboratory experimental on MRSA bacteria which were isolated from the surgical site infection and divided into 3 groups (8 isolates each in group). The MRSA isolates were exposed to the hyperbaric hyperoxia in therapeutic dose (1 session in group 1, 5 session in group 2, and 10 session in group 3) in vitro, with normobaric normooxia as a control group.

**Results :** There were the significantly difference the number of MRSA colony before and after hyperbaric hyperoxia 2.4 ATA 100% O<sub>2</sub> treatment either in 1 session, 5 sessions, or 10 sessions, and no significantly difference the number of MRSA colony after 1 session, 5 sessions, and 10 sessions treatment.

**Conclutions:** Hyperbaric hyperoxia 2.4 ATA 100% O<sub>2</sub> treatment could inhibited the MRSA bacteria growth in vitro.

**Keywords :** Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA), hyperoxia hyperbaric

## DAFTAR ISI

MILIK  
PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA

	Halaman
Lembar Pengesahan .....	i
Kata Pengantar .....	ii
Abstrak .....	vi
Daftar Isi .....	vii
Daftar Tabel .....	x
Daftar Gambar .....	xi
Daftar Lampiran .....	xiii
Daftar Singkatan .....	xv
 BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar belakang .....	1
1.2 Rumusan masalah.....	4
1.3 Tujuan penelitian.....	5
1.4 Manfaat penelitian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	7
2.1 MRSA .....	7

2.1.1	Morfologi dan Sifat Biologis <i>Staphylococcus aureus</i> .....	7
2.1.2	Patogenitas .....	11
2.1.3	Sejarah dan Sebaran MRSA .....	12
2.1.4	Mekanisme Resistensi MRSA .....	14
2.2	Oksigen Hiperbarik .....	16
2.2.1	Aspek Fisika Oksigen Hiperbarik .....	17
2.2.2	Pengaruh Oksigen Hiperbarik terhadap Kelarutan Oksigen di Darah.....	18
2.2.3	Pengaruh Hiperbarik terhadap Mikroorganisme .....	22
 BAB III KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESA PENELITIAN		
3.1	Kerangka Konseptual Penelitian.....	24
3.2	Hipotesis Penelitian.....	25
 BAB IV METODE PENELITIAN		
4.1.	Jenis dan Rancangan Penelitian.....	26
4.2.	Sampel , Besar Sampel, Teknik Sampling.....	26
4.2.1.	Sampel .....	26
4.2.2.	Besar Sampel .....	26
4.2.3	Teknik Sampling .....	27

4.3. Variabel Penelitian.....	27
4.4. Definisi Operasional .....	28
4.5 Kerangka Operasional.....	29
4.6. Lokasi dan Waktu Penelitian.....	31
4.7. Pengumpulan Data dan Analisa Data.....	32
BAB V. HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA.....	33
5.1. Hasil Penelitian.....	33
5.2. Analisa Data.....	37
BAB VI. PEMBAHASAN.....	45
BAB VII. KESIMPULAN DAN SARAN.....	52
DAFTAR KEPUSTAKAAN.....	53
LAMPIRAN.....	56



## DAFTAR TABEL

1. Tabel 5.1. Hasil pemeriksaan kultur mikrobiologis, spesimen dari infeksi luka operasi pasien poliklinik bedah dan ruangan bedah RSUD Dr Soetomo, pada bulan September 2008-Oktober 2008.....34
2. Tabel 5.2. Pola bakteri MRSA dan kepekaan terhadap antimikroba.....35
3. Tabel 5.3. Hasil eksperimen perlakuan hiperoksia hiperbarik 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 1 sesi, 5 sesi dan 10 sesi terhadap pertumbuhan koloni MRSA (CFU/ml).....36
4. Tabel 5.4.. Hasil analisis statistik distribusi normal pertumbuhan koloni MRSA (CFU/ml) pada kelompok perlakuan hiperoksia hiperbarik 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 1 sesi , 5 sesi, 10 sesi dan kelompok sebelum perlakuan.....38
3. Tabel 5.5. Uji t untuk perbedaan rerata pertumbuhan koloni MRSA (CFU/ml) antara kelompok sebelum perlakuan (VAR1) dengan kelompok perlakuan 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 1 sesi (VAR2).....39
4. Tabel 5.6. Uji t untuk perbedaan rerata pertumbuhan koloni MRSA (CFU/ml) antara kelompok sebelum perlakuan (VAR1) dengan kelompok perlakuan 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 5 sesi (VAR3).....40

5. Tabel 5.7. Uji t untuk perbedaan rerata pertumbuhan koloni MRSA (CFU/ml) antara kelompok sebelum perlakuan (VAR1) dengan kelompok perlakuan 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 10 sesi (VAR4)..... 40
6. Tabel 5.8. Uji t untuk perbedaan rerata pertumbuhan koloni MRSA (CFU/ml) antara kelompok perlakuan 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 1 sesi (VAR2) dengan kelompok perlakuan 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 5 sesi (VAR3)..... 41
7. Tabel 5.9. Uji t untuk perbedaan rerata pertumbuhan koloni MRSA (CFU/ml) antara kelompok perlakuan 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 1 sesi (VAR2) dengan kelompok perlakuan 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 10 sesi (VAR4)..... 42
8. Tabel 5.10 Uji t untuk perbedaan rerata pertumbuhan koloni MRSA (CFU/ml) antara kelompok perlakuan 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 5 sesi (VAR3) dengan kelompok perlakuan 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 10 sesi (VAR4) ..... 43

**DAFTAR GAMBAR**

1. Gambar 1 : Mikroskop elektron *Staphylococcus aureus* ..... 8

2. Gambar 2 : Struktur dinding sel bakteri *Staphylococcus aureus*.....10

3. Gambar 3 : Patogenesis infeksi *Staphylococcus aureus*... ..12

4. Gambar 4 : Mekanisme resistensi *Staphylococcus aureus* ... ..15

5. Gambar 5 : Tipe RUBT, 5a,b: *Multiplace chamber*, 5c :*Monoplace chamber*  
     5.d*Animal/research chamber*.....17

6. Gambar 6: Pengaruh oksigen hiperbarik terhadap sel bakteri ..... 19

7. Gambar 7 : Jalur produksi oksigen aktif .....20

## DAFTAR LAMPIRAN

1. Daftar pasien yang mengalami infeksi luka operasi di lingkungan Bedah  
RSU Dr Soetomo pada bulan September 2008 sampai dengan Oktober 2008
2. Hasil laboratorium
3. Hasil analisa statistik
4. Foto penelitian
  - 4.1 Gambar 1. Infeksi luka operasi
  - 4.2 Gambar 2. Isolat murni MRSA di *Tripicase soy plate agar*
  - 4.3 Gambar 3. A. *Animal Monoplace Chamber*.  
  
3.B. Perlakuan hiperoksia hiperbarik terhadap MRSA secara  
*in vitro*
  - 4.4 Gambar 4. A. Pertumbuhan koloni bakteri MRSA sebelum perlakuan  
  
4.B. Pertumbuhan koloni bakteri MRSA setelah perlakuan
  - 4.5 Gambar 5. Pertumbuhan MRSA setelah perlakuan hiperoksia  
hiperbarik 90 menit .
  - 4.6 Gambar 6. Pertumbuhan MRSA setelah perlakuan hiperoksia  
hiperbarik 450 menit .
  - 4.7 Gambar 7. Pertumbuhan MRSA setelah perlakuan hiperoksia  
hiperbarik 900 menit .

## DAFTAR SINGKATAN

MRSA	: <i>Methicillin-resistant Staphylococcus aureus</i>
NNIS	: <i>National Nosocomial Infection Surveillance</i>
VRSA	: <i>Vancomycin-resistant Staphylococcus aureus</i>
HBOT	: <i>Hyperbaric Oxygen Therapy</i>
RUBT	: Ruang udara bertekanan tinggi
ATP	: <i>Adenosin Triphosphat</i>
SOR	: Spesies Oksigen Reaktif
ATA	: <i>Atmosphere absolute</i>
PBP	: <i>Penicillin Binding Protein</i>
SOD	: <i>Superoxide dismutase</i>

**BAB I**  
**PENDAHULUAN**

MILIK  
PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA

**1.1. Latar Belakang**

Infeksi nosokomial merupakan masalah global dan menurut *National Nosocomial Infection Surveillance* (NNIS) dilaporkan bahwa persentasi *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) 2,4% dari isolat nosokomial di Amerika tahun 1975, dan meningkat menjadi 35 % dari isolat *Staphylococcus* pada tahun 1996. Sedangkan menurut data *The Surveillance Network Database-USA* (TSN) untuk 6 bulan pertama tahun 1999 menunjukkan data MRSA 38,6% dari infeksi *Staphylococcus aureus*.<sup>1,2</sup>

Prevalensi MRSA bervariasi di negara satu dengan lainnya dan menunjukkan kecenderungan meningkat. Di Eropa, seperti yang terjadi di Italia, angka prevalensi MRSA yang diperoleh sebesar 34,4% pada tahun 1991, kemudian pada tahun 2002 menjadi 40%, dan di negara Jerman prevalensi MRSA diperoleh sebesar 5,5% pada tahun 1991 menjadi 19% pada tahun 2002. Demikian juga di Asia, seperti angka prevalensi MRSA di Jepang dari 43,5% pada tahun 1986 menjadi 57% pada tahun 1989, dan kewaspadaan juga terjadi di Indonesia, dilaporkan peningkatan MRSA dari 2,5% pada tahun 1986 menjadi 9,4% pada tahun 1993.<sup>3</sup> Prevalensi di Indonesia pada tahun 2006 meningkat menjadi 23,5%.<sup>4</sup> Survei di SMF Ilmu bedah RSUD dr Soetomo Surabaya pada bulan Januari - Agustus 2008 menunjukkan angka 34,92% (22 per 63 spesimen infeksi luka operasi) terinfeksi MRSA.<sup>5</sup>

*Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* adalah suatu bakteri yang memiliki potensi mengalami resistens terhadap antibiotik di rumah sakit, yang mengancam kegagalan pengobatan modern. Selain itu MRSA adalah bakteri patogen manusia yang sangat oportunistis, karena berhasil hidup dalam tubuh manusia dan pada lingkungan rumah sakit serta secara genomik memiliki gen resisten terhadap antimikroba  $\beta$  laktam, dan vankomisin merupakan salah satu antibiotika yang saat ini termasuk menjadi pilihan. Namun dilaporkan mulai muncul strain *Staphylococcus aureus* dengan penurunan sensitivitas terhadap vankomisin. Bahaya dari *Vancomycin-Resistant Staphylococcus aureus* (VRSA) menjadi tantangan khusus, karena pengaruh antimikroba menjadi sangat terbatas. Infeksi MRSA pada pasien, bermasalah pada peningkatan morbiditas dan mortalitas, perawatan lebih lama serta biaya yang tinggi.<sup>1,5</sup> Berdasarkan kegawatan ini, perlu diteliti kemungkinan modalitas tambahan terapi untuk mengatasi resistensi antibiotika.<sup>6</sup>

Bakteri anaerob seperti strain *Clostridium* kurang tahan terhadap oksidan dan multiplikasi organisme ini dapat dihambat dengan peningkatan tekanan oksigen. Terapi oksigen hiperbarik (HBOT) dengan tekanan hiperoksia hiperbarik dilaporkan dapat meningkatkan PO<sub>2</sub> jaringan pada kadar yang secara signifikan merusak pertumbuhan bakteri anaerob, dan telah diteliti secara klinik menguntungkan pada terapi infeksi oleh bakteri anaerob.<sup>6</sup>

Bakteri aerob memiliki kadar antioksidan endogen lebih tinggi dari pada bakteri anaerob dan bakteri ini dilaporkan resisten terhadap hiperoksia hiperbarik. Namun beberapa laporan menunjukkan eksposur hiperoksia hiperbarik dapat

menghambat pertumbuhan pada beberapa bakteri aerob fakultatif, termasuk *E.coli*, *Enterobacteriaceae* dan *Streptococcus faecalis*. *Staphylococcus aureus* juga merupakan bakteri berpotensi aerob fakultatif. Kelebihan oksigen hiperbarik selain dapat menurunkan infeksi pada luka, infeksi pada luka bakar, osteomyelitis dan ulkus diabetik, oksigen hiperbarik juga mempunyai keuntungan klinis mengendalikan infeksi organisme aerob.<sup>6</sup>

Kemungkinan kondisi hiperoksia hiperbarik menimbulkan luapan konsentrasi hiperoksida yang berlebihan sehingga enzim-enzim hiperoksidase maupun superoksid dismutase yang dihasilkan bakteri tidak dapat mengatasi dan berakibat kematian sel bakteri aerob fakultatif.

Radikal bebas menjadi dasar terjadinya gangguan integritas sel dengan akibat terjadinya gangguan fungsi sel. Radikal bebas adalah atom atau molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan dalam orbital luarnya sehingga atom atau molekul tersebut menjadi sangat reaktif.<sup>7,8,9,10</sup>

Radikal bebas yang terlibat dalam berbagai proses biologis sebagian besar justru berasal dari proses yang melibatkan senyawa oksigen reaktif (SOR) termasuk radikal bebas oksigen. Senyawa tersebut terbentuk dari oksigen, yaitu suatu senyawa yang diperlukan oleh semua organisme aerob.<sup>7</sup> Organisme aerob memerlukan oksigen untuk menghasilkan ATP melalui fosforilasi oksidatif. Dalam keadaan biasa, 3-5% oksigen diubah menjadi SOR di sitoplasma sel.<sup>11</sup> Senyawa reaktif ini akan merusak komponen sel yang penting untuk mempertahankan integritas dan kehidupan sel apabila tidak mampu diredam oleh



antioksidan.<sup>7,9</sup> Bila radikal hidroksil (salah satu bentuk SOR) bereaksi dengan komponen asam lemak dari membran sel, maka akan terjadi reaksi berantai yang dikenal sebagai peroksidasi lemak. Hasil akhir adalah terputusnya rantai asam lemak menjadi berbagai senyawa toksik terhadap sel termasuk senyawa *malondialdehyde* (MDA), menyebabkan membran sel rusak dan kematian sel.<sup>7,9</sup>

Bakteri aerob atau aerob fakultatif memiliki kemampuan produksi enzim peroksidase atau superoksid dismutase yang dapat mengendalikan kadar SOR. Namun pada kondisi terapi hiperoksia hiperbarik 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> maka terjadi luapan SOR yang tidak dapat diatasi oleh enzimatis dalam sel organisme, sehingga memungkinkan peningkatan kematian sel. Berdasarkan efek hiperoksia hiperbarik pada sel organisme, kemungkinan juga memiliki efek toksik terhadap bakteri strain MRSA.

Selama ini efek oksigen hiperbarik terhadap viabilitas MRSA masih belum banyak diketahui, diperlukan investigasi lebih lanjut untuk menjelaskan sensitivitas organisme ini terhadap hiperoksia hiperbarik. Studi ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh hiperoksia hiperbarik 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> terhadap pertumbuhan jumlah koloni bakteri MRSA secara *in vitro*.

## 1.2. Rumusan Masalah

Seberapa besar pengaruh hiperoksia hiperbarik 2,4 ATA 100%O<sub>2</sub> terhadap pertumbuhan jumlah koloni bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) penyebab infeksi luka operasi secara *in vitro*?

### **1.3. Tujuan Penelitian**

#### **1.3.1 Tujuan Umum**

Mempelajari pengaruh hiperoksia hiperbarik 2,4 ATA 100%O<sub>2</sub> terhadap pertumbuhan bakteri *methicilin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) penyebab infeksi luka operasi secara *in vitro*.

#### **1.3.2 Tujuan Khusus**

1. Mempelajari pengaruh hiperoksia hiperbarik dosis terapi 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 1 sesi (3x30 menit = 90 menit) terhadap pertumbuhan jumlah koloni bakteri MRSA (CFU/ml)
2. Mempelajari pengaruh hiperoksia hiperbarik dosis terapi 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 5 sesi (5x90 menit = 450 menit) terhadap pertumbuhan jumlah koloni bakteri MRSA (CFU/ml)
3. Mempelajari pengaruh hiperoksia hiperbarik dosis terapi 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 10 sesi (10x90 menit = 900 menit) terhadap pertumbuhan jumlah koloni bakteri MRSA (CFU/ml)
4. Membandingkan pengaruh hiperoksia hiperbarik dosis terapi terhadap pertumbuhan jumlah koloni bakteri MRSA (CFU/ml) antara 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 1sesi dengan 5 sesi; 1 sesi dengan 10 sesi; juga 5 sesi dengan 10 sesi.

## 1.4 Manfaat Penelitian

### 1.4.1 Manfaat Teoritis

Sumbangan terhadap pengembangan IPTEK dengan mengetahui pengaruh hiperoksia hiperbarik terhadap pertumbuhan jumlah koloni bakteri *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) penyebab infeksi luka operasi.

### 1.4.2 Manfaat Klinis

Dengan mengetahui pengaruh dari hiperoksia hiperbarik terhadap pertumbuhan jumlah koloni bakteri MRSA penyebab infeksi luka operasi pasca pembedahan, maka :

1. Pasien yang mengalami luka operasi yang positif terinfeksi MRSA dapat diberi oksigen hiperbarik sebagai terapi tambahan.
2. Terapi oksigen hiperbarik kemungkinan dapat juga diberikan pada *healthy carier* MRSA, baik pasien maupun petugas kesehatan.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

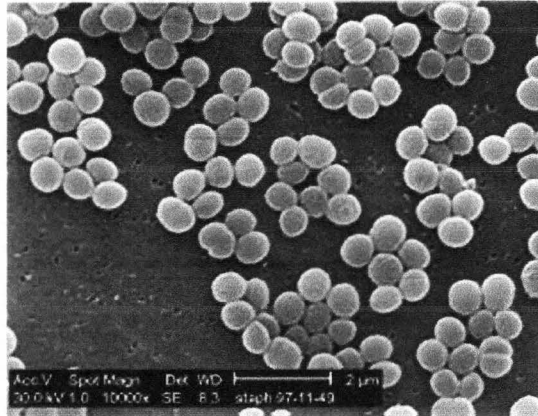
#### 2.1 MRSA

##### 2.1.1 Morfologi dan Sifat Biologis *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* berasal dari bahasa Yunani dari kata “*staphyle*” yang berarti kelompok buah anggur dan kokus berarti yang bulat.<sup>12</sup>

Morfologi bakteri yang terlihat pada mikroskop dengan cara pewarnaan Gram pada bakteri *Staphylococcus aureus* berbentuk sferis. Diameter bakteri antara 0,5 sampai 1.0  $\mu$ . Bakteri ini bersifat tidak bergerak, tidak berkapsul dan tidak membentuk spora. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif, tetapi pada kultur sel yang sudah tua kadang-kadang menunjukkan beberapa perubahan warna pada pewarnaan Gramnya.<sup>12,13</sup>

Koloninya pada isolasi primer dengan menggunakan benih yang diperkaya berupa koloni bakteri yang berbentuk cembung membentuk pigmen berwarna putih keabuan sampai kuning emas sebagai hasil dari pigmen karotenoid selama pertumbuhannya, dengan ukuran koloni 1-4 mm<sup>15</sup>



Gambar 1 : Mikroskop elektron *Staphylococcus aureus* (Dikutip dari : Wikipedia, *Staphylococcus aureus*, accessed August 2008, <http://www.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus><sup>12)</sup>)

*Staphylococcus aureus* termasuk dalam genus *Staphylococcus*. Dikenal beberapa spesies dari genus *Staphylococcus* yaitu *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus capitis* dan *Staphylococcus haemolyticus* merupakan spesies yang berhubungan dengan manusia. Spesies ini dapat dibedakan melalui tes koagulasi dimana *Staphylococcus aureus* dapat memproduksi enzim koagulasi, sedangkan spesies lainnya termasuk sebagai *Staphylococcus* yang bersifat koagulasi negatif.<sup>12,15</sup>

Bakteri ini termasuk bakteri kemoorganotropik, bersifat aerob dan fakultatif anaerob. *Staphylococcus aureus* termasuk mikroflora normal pada manusia, banyak ditemukan pada kulit dan rongga hidung.<sup>12,14</sup> Bakteri ini dapat tumbuh dalam udara yang hanya mengandung hidrogen, dan pH optimum untuk pertumbuhan adalah 7,4.<sup>14</sup>

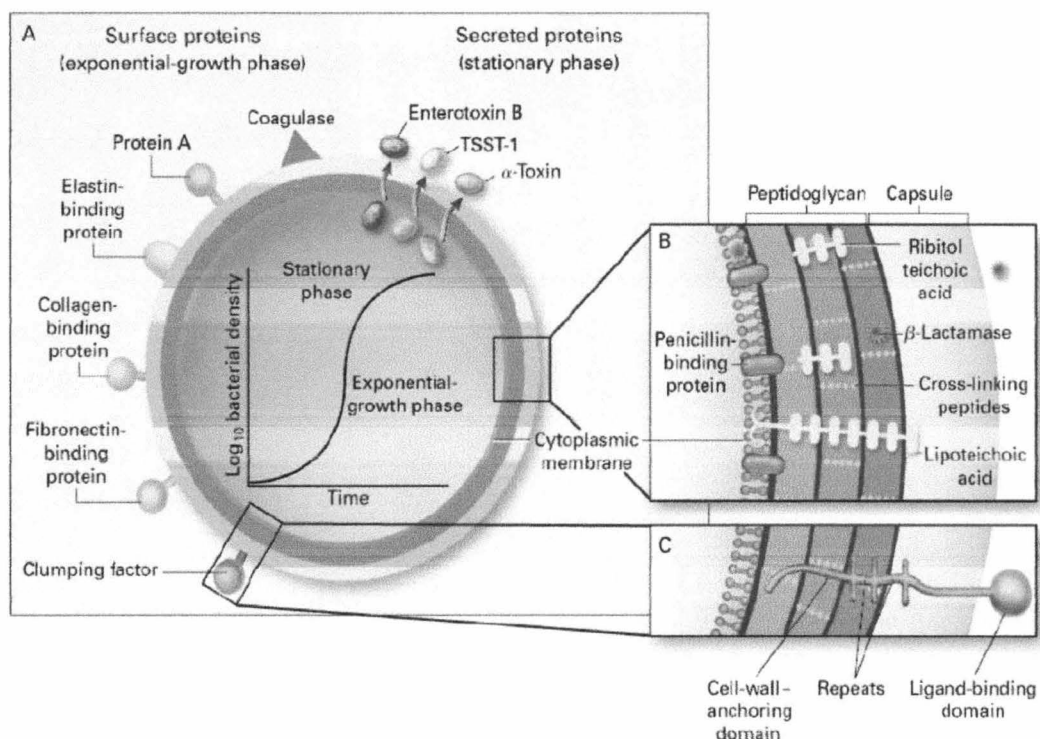
Bakteri menghasilkan zona hemolisis pada lempeng agar darah (adanya faktor hemolisin), menghasilkan reaksi katalase dan kogulase positif. Pada uji reaksi biokimia memberikan hasil positif pada uji gula-gula manitol, hal ini dapat membedakan *Staphylococcus aureus* dan spesies lainnya.<sup>12,15</sup>

Koagulase ekstraseluler lainnya termasuk koagulase bebas, dimana koagulase yang bereaksi dengan prothrombin membentuk *Staphylothrombin* sehingga mengubah fibrinogen menjadi fibrin (efeknya sama dengan thrombin). Sekitar 97 % dari isolat *Staphylococcus aureus* menghasilkan protein A.<sup>16</sup> Protein ini mempunyai afinitas tertentu ke reseptor Fe dari IgG1, IgG2 dan IgG4 dan protein tersebut berikatan kovalen dengan lapisan peptidoglikan.<sup>15</sup>

Daya tahan *Staphylococcus aureus* terhadap lingkungan fisik dan kimia ternyata paling kuat diantara bakteri-bakteri yang tidak membentuk spora. Dalam keadaan kering pada benang, kertas, kain dan dalam nanah dapat tetap hidup sampai 6 – 14 minggu. Pada agar miring seperti nutrisi agar dapat tetap hidup sampai 6 bulan baik dalam lemari es maupun pada suhu kamar. Bakteri ini mempunyai daya tahan terhadap alkohol 50 – 70% selama 1 jam dan 15 menit dalam larutan fenol 2%.<sup>17</sup>

Sebagian besar dinding sel dari *Staphylococcus aureus* dilindungi oleh suatu kapsul polisakarida. Kapsul polisakarida dapat diklasifikasikan ke dalam tujuh serotip yang berbeda. Dinding sel *Staphylococcus aureus* mengandung dua komponen utama yaitu peptidoglikan dan asam teikoat. Peptidoglikan terdiri dari lapisan rantai glikan yang tersusun dari 10 – 12 subunit *N-cetyl muramic acid*

(NAM) dan *N-acetylglucosamine* (NAG). Rantai samping tetrapeptida berikatan pada subunit NAM dan berikatan silang dengan jembatan peptida. Lapisan peptidoglikan dari organisme Gram positif terdiri dari banyak lapisan ikatan silang sehingga membuat dinding sel menjadi lebih kaku.<sup>15</sup>



Gambar 2 : Struktur dinding sel bakteri *Staphylococcus aureus*.

(Dikutip dari : Franklin D, Lowy FD. *Staphylococcus aureus* infection, *The New England J of Medicine*, 1998;339(8):520-32<sup>15</sup>)

Bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki 4 *Penicillin Binding Protein* (PBP) yaitu PBP 1-4, yang berhubungan dengan perakitan dinding sel peptidoglikan. Aktivitas biologi dari PBPs ternyata sama dengan *serine protease* dan berperan sebagai transpeptidase dalam ikatan silang rantai glikan. PBP2a

adalah protein bifungsional yaitu meningkatkan aktivitas transpeptidase dan ikut reaksi transglukosilase. PBPs berikatan secara efektif terhadap antibiotik  $\beta$  laktam dan adanya antibiotik tersebut perakitan dinding sel tidak dapat dilanjutkan.<sup>15</sup>

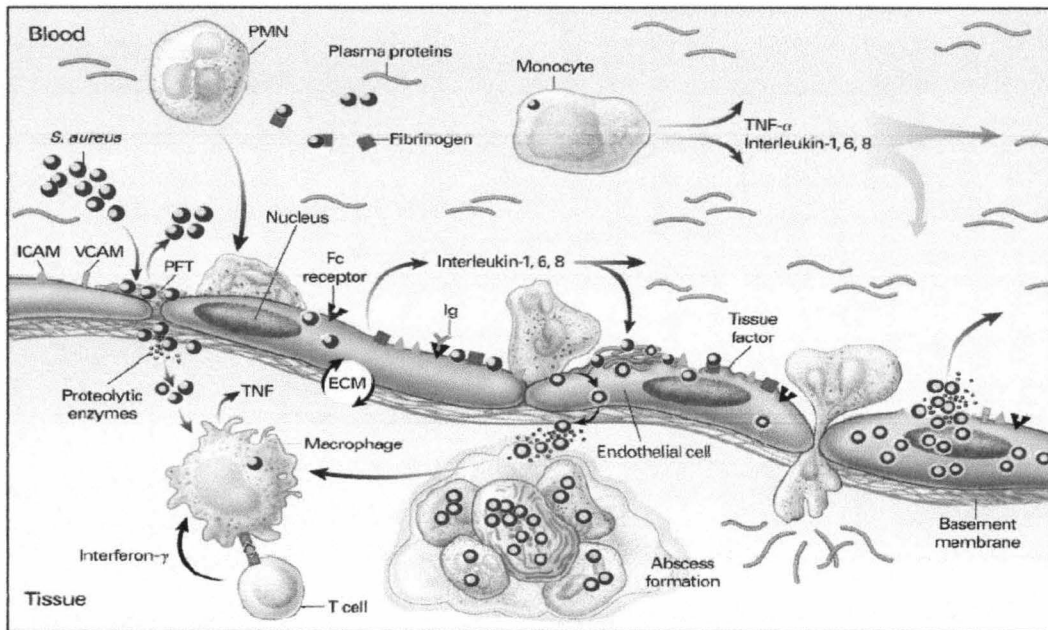
### 2.1.2 Patogenitas

Sekitar 10% - 30% manusia adalah pembawa *Staphylococcus aureus* pada hidungnya.<sup>18</sup> Kemampuan patogenik *Staphylococcus aureus* merupakan efek gabungan faktor-faktor ekstraseluler, toksin, serta sifat invasif strain tersebut. Infeksi bakteri dapat menimbulkan penyakit dengan tanda-tanda khas yaitu peradangan, nekrosis dan pembentukan abses.<sup>19</sup>

Karen B (2001) menyatakan bahwa infeksi *Staphylococcus aureus* dapat melalui beberapa tahap. Penempelan, kondisi yang dibutuhkan untuk kolonisasi terjadi jika bakteri menempel pada asam teikoat dari dinding sel. Penempelan dan kolonisasi tidak mengaktifkan sistem imun. Invasi terjadi jika epidermis terganggu melalui suatu luka atau tahap iatrogenik, dan bakteri masuk ke jaringan atau aliran darah, mengaktifkan pertahanan imun. Pengaruh antara faktor virulensi bakteri dan faktor-faktor kepekaan bakteri menentukan terjadinya proliferasi bakteri. Tahap akhir patogenesis, secara klinis tampak infeksi pada jaringan lokal dan sistemik.<sup>19</sup>

Infeksi dapat berupa furunkel yang ringan pada kulit sampai berupa suatu piema yang fatal. Infeksi ini juga berasal dari kontaminasi luka operasi atau infeksi kronik osteomielitis dan luka terbuka, juga dapat menyebabkan pneumonia, meningitis dan endokarditis.<sup>19</sup>





Gambar 3 : Patogenesis infeksi *Staphylococcus aureus*

(Dikutip dari : Franklin D, Lowy FD. *Staphylococcus aureus* infection, *The New England J of Medicine*, 1998;339(8):520-32<sup>15</sup>)

Infeksi *Staphylococcus aureus* paling sering terjadi di rumah sakit. Infeksi tersebut disebut infeksi nosokomial. Umumnya infeksi terjadi di rumah sakit timbul pada pasien pasca operasi dan pasien yang mengalami trauma pada jaringan lunak atau tulang.<sup>18</sup>

### 2.1.3 Sejarah dan Sebaran MRSA

Pada tahun 1940 awal ditemukan penisilin sebagai antimikroba termasuk untuk anti *Staphylococcus aureus*. Namun awal tahun 1942 sudah ditemukan *penicillin resistant Syaphylococcus aureus*. Pada tahun 1959 diperkenalkanlah metisilin, suatu penisilin semisintetik pertama yang dibuat mengandung  $\beta$  laktam dengan spektrum yang sempit yaitu hanya dipergunakan untuk mengatasi infeksi

*Staphylococcus* penghasil penisilinase. Namun tidak lama kemudian, tahun 1961 di Eropa, timbul resistensi *Staphylococcus aureus* terhadap metisilin. Resistensi tersebut dikenal dengan MRSA (*methicillin-resistant Staphylococcus aureus*). MRSA menjadi masalah dunia dan pada tahun 2007 dinyatakan sebagai tahun MRSA dengan 19.000 kematian pertahun.<sup>19</sup>

MRSA hidup di kulit dan hidung sebagai flora normal, tetapi jika bakteri tersebut masuk ke dalam luka dapat menimbulkan infeksi MRSA, sebenarnya tidak lebih berbahaya atau virulen dibandingkan *Staphylococcus aureus*, namun bila terjadi infeksi maka penanganannya sangat sulit. MRSA ditubuh memiliki 2 sifat, yaitu kolonisasi dan infeksi. Kolonisasi yaitu bila MRSA ada pada suatu tempat ditubuh (kulit, hidung dan tenggorokan) tanpa membahayakan tubuh.<sup>4,20,21</sup>

Karen (2001) menyatakan bahwa kolonisasi dapat terjadi juga pada rektum atau luka terbuka seperti luka dekubitus. Pasien yang terkolonisasi biasanya tidak menimbulkan gejala. Semua individu terkolonisasi (bersifat sementara) oleh *Staphylococcus aureus* di hidung bagian dalam. Sedangkan yang terkolonisasi *Staphylococcus aureus* secara permanen di hidung bagian dalam sekitar 20-30%. Pekerja kesehatan lebih banyak yang terkolonisasi daripada orang yang tidak berada di lingkungan rumah sakit, mungkin karena meningkatnya paparan.<sup>4,19,20,21</sup>

Sedangkan infeksi dapat didefinisikan sebagai adanya invasi jaringan oleh *Staphylococcus aureus* dengan menimbulkan gejala klinis. Manifestasi klinik infeksi disebabkan *Staphylococcus aureus* yang menimbulkan peradangan pada permukaan kulit seperti bisul atau menjadi infeksi lebih dalam seperti pneumonia

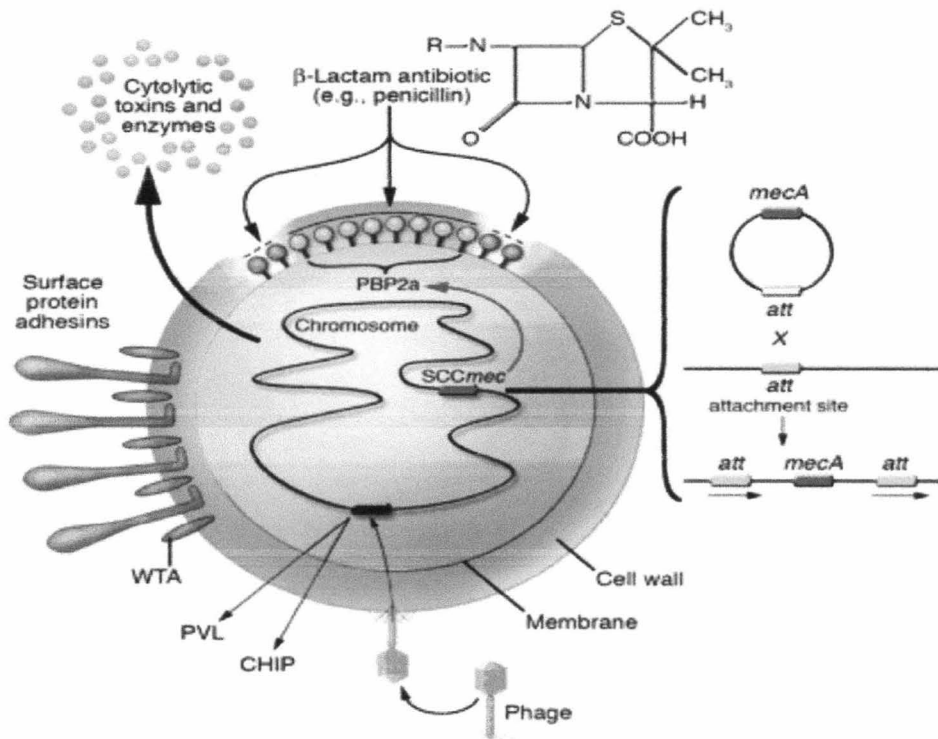
yang akan mengakibatkan kematian. Gejala lokal dan tanda-tanda infeksi, manifestasi sistemik penyakit seperti demam, malaise dan leukositosis merupakan gejala yang sering terjadi.<sup>21</sup> Penyebaran infeksi MRSA di rumah sakit terjadi dari reservoir alami melalui tangan menyebar ke bagian luka bakar atau operasi dan saluran pernafasan. Infeksi MRSA ditubuh menimbulkan terjadinya kerusakan jaringan dan menimbulkan infeksi yang serius dan berat, seperti bakteremia hingga sepsis, endokarditis dan lainnya.<sup>21</sup>

#### 2.1.4 Mekanisme Resistensi MRSA

Bakteri yang bersifat sensitif terhadap suatu antimikroba dapat menjadi resisten. Mekanisme resisten dapat terjadi dengan adanya mutasi gen resisten atau didapat dari gen baru. Gen baru yang menjadi perantara timbulnya resistensi umumnya dibawa dari sel ke sel dengan cara melalui elemen genetik, seperti plasmid, transposon dan bakteriofag. Bakteri menjadi resisten terhadap antibiotika  $\beta$  laktam melalui beberapa mekanisme, yaitu destruksi obat dengan enzim  $\beta$  laktamase (dengan cara menghidrolisis) dan adanya perubahan PBP sehingga menurunkan afinitas obat.<sup>14</sup>

Resistensi timbul karena strain *Staphylococcus aureus* menghasilkan PBP2a atau PBP2', dikendalikan oleh gen pengatur DNA<sub>mec</sub>, yaitu *mecA*, *mecI* dan *mecR1*, yang memiliki afinitas rendah terhadap metisilin. PBP2a mampu bertahan pada konsentrasi hambat minimum metisilin. Peran PBP2a sama seperti PBP yang lain pada strain MRSA, dimana PBP2a mengambil alih fungsi PBP

yang terinaktivasi, PBP2a dapat menghasilkan peptidoglikan yang stabil walaupun sedikit berbeda dengan hasil PBP.<sup>14,22</sup>



Gambar 4 : Mekanisme resistensi *Staphylococcus aureus*

(Dikutip dari : Foster TJ, *The Staphylococcus aureus "superbug"*, *The American Society for Clinical Investigation, J Clin Invest* 2004;114(12):1693-6<sup>14</sup>)

Komposisi genetik MRSA dan DNA<sub>mec</sub> disusun oleh 2 elemen kromosom, yaitu kromosom MSSA dan kromosom DNA<sub>mec</sub>. DNA<sub>mec</sub> diduga berasal dari *Staphylococcus* kogulase negatif yang bersifat resisten terhadap metisilin (MRC-NS). Pada MRSA terdapat 30-50 kb dari kromosom DNA tambahan *mec* yang tidak terdapat pada strain *Staphylococcus* yang sensitif. *Mec*

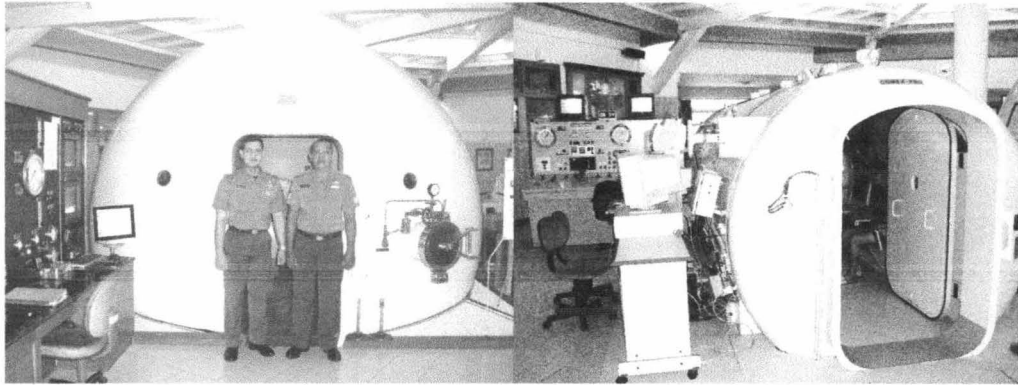
mengandung *mecA* yang merupakan gen struktur untuk PBP2a, sedangkan *mec1* dan *mecR1* merupakan elemen regulator yang mengontrol transkripsi *mecA*. Bagian kromosom yang mengkode *mec* ini juga disebut “*Staphylococcal cassette chromosome*” *mec* (SCC*mec*), berukuran 21 – 60 kb merupakan elemen genetik yang mobil dan mengandung struktur genetik yang berperan mengkode resistensi antibiotik non  $\beta$  laktam.<sup>14</sup>

## 2.2 OKSIGEN HIPERBARIK

Oksigen hiperbarik adalah pemberian oksigen tekanan tinggi untuk pengobatan yang dilaksanakan dalam ruang udara bertekanan tinggi (RUBT). Ada beberapa tipe RUBT :

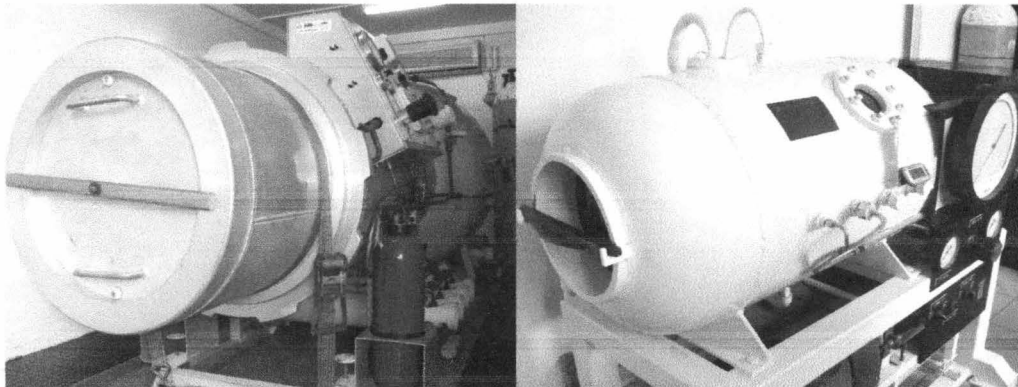
- a. *Multiplace chamber*, dapat menampung 2-18 orang.
- b. *Duoplace chamber*, memuat 1 pasien dan 1 pendamping pasien
- c. *Monoplace chamber*, dirancang untuk 1 orang saja.
- d. *Animal monoplace chamber*, khusus untuk binatang dan penelitian.
- e. *Hyperlite chamber*, chamber yang ringan, murah dan mudah dibawa.

RUBT ini dikonstruksi tahan terhadap tekanan tinggi, kemudian oksigen dimasukkan ke dalam ruangan tersebut dengan tekanan lebih dari 1 *Atmosphere absolute* (ATA).<sup>23</sup>



5a

5b



5c

5d

Gambar 5 : Tipe RUBT, 5a dan 5b : *Multiplace chamber*,

5c : *Monoplace chamber*,

5d : *Animal monoplace chamber*.

(Dikutip dari : Koleksi foto fasilitas RUBT Lakesla Surabaya)<sup>24</sup>

### 2.2.1 Aspek Fisika Oksigen Hiperbarik

Atmosfer terdiri dari campuran gas, 20,94% oksigen, 78,08% nitrogen, 0,04% CO<sub>2</sub>, dan sebagian kecil gas-gas lain. Untuk praktisnya, komposisi udara disederhanakan menjadi 21% oksigen dan 79% nitrogen. Tekanan total dari campuran gas ini pada permukaan air laut adalah 760 mmHg.<sup>25</sup>

Ketika berada di dalam RUBT, maka tekanan total akan meningkat, dan :

- a. Hukum Dalton menyebutkan bahwa tekanan suatu gas pada suatu campuran gas berbanding lurus dengan proporsi gas terhadap total volume campuran gas itu:

Tekanan parsial suatu gas = tekanan absolut x proporsi volume total gas

Jadi tekanan parsial oksigen ( $PO_2$ ) di udara adalah  $760 \times (21/100) = 160$  mmHg. Konsentrasi gas pada suatu cairan tidak hanya ditentukan oleh tekanan melainkan juga oleh koefisien kelarutan gas tersebut.

Total tekanan pada campuran gas adalah jumlah dari masing-masing tekanan parsial gas.  $P_{tot} = PO_2 + PN_2 + P_{lainnya}$

- b. Hukum Boyle menyebutkan bahwa volume berbanding terbalik dengan tekanan absolut.  $P_1 / P_2 = V_2 / V_1$
- c. Hukum Henry menyatakan bahwa jumlah konsentrasi gas yang larut adalah berbanding lurus dengan tekanan parsial gas terlarut  $P_1 / P_2 = A_2 / A_1$ <sup>25,26</sup>

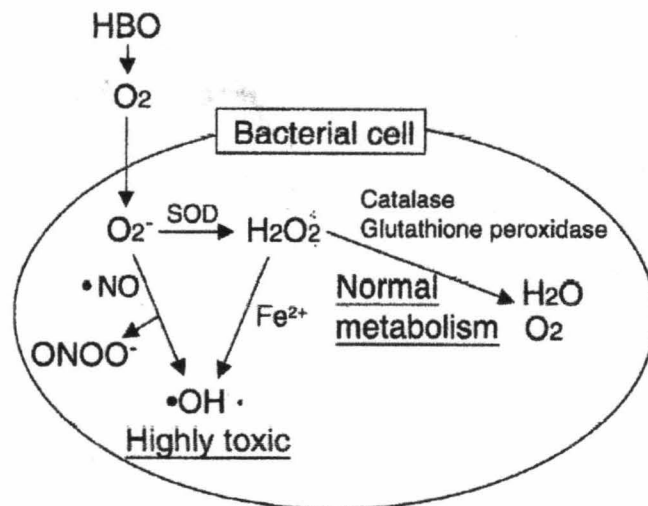
## 2.2.2 Pengaruh Oksigen Hiperbarik terhadap Kelarutan Oksigen di Darah

### a. Radikal bebas dan senyawa oksigen reaktif (SOR)

Elektron pada suatu atom menempati daerah ruang yang disebut orbit. Setiap orbit dapat menampung dua elektron yang bergerak berkeliling berlawanan arah. Radikal bebas didefinisikan sebagai spesies yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Elektron tersebut berdiri sendiri dalam orbitnya, sehingga radikal bebas ini bertindak sebagai oksidan (suatu senyawa yang bisa

menerima elektron). Radikal bebas ini bersifat magnetik dan sangat reaktif, karena itu radikal bebas dianggap merusak sel-sel tubuh.<sup>27,28</sup>

Sebagian besar dari molekul biologis merupakan non radikal, hanya terdiri dari elektron yang berpasangan. Dalam keadaan normal, sistem proteksi tubuh yang baik dapat meredam oksidan-oksidan tersebut dengan memproduksi antioksidan yang memadai. Apabila keseimbangan antara oksidan dan antioksidan terganggu, maka terjadilah “*oxydative stress*” karena jumlah oksidan yang berlebihan bila dibanding antioksidan yang meredamnya.<sup>27,28</sup>



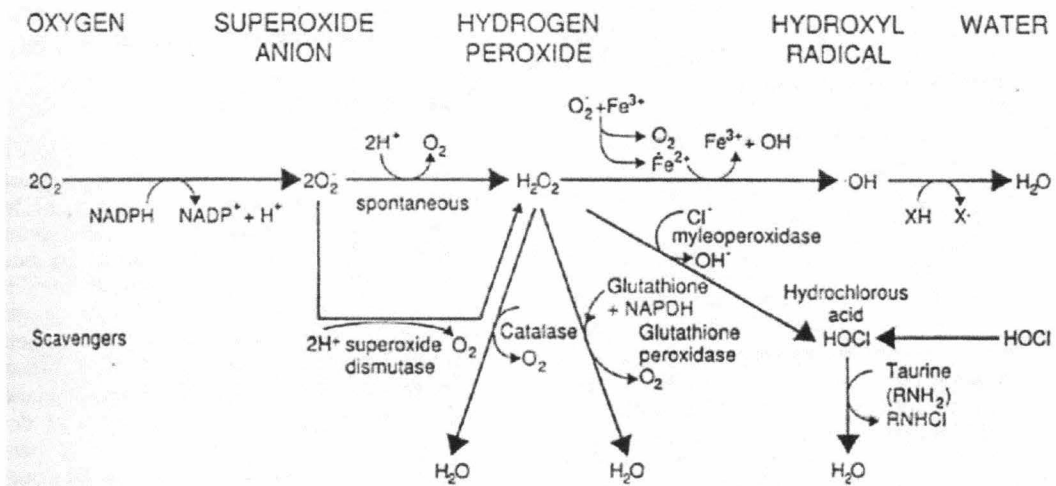
Gambar 6: Pengaruh oksigen hiperbarik terhadap sel bakteri

(Dikutip dari : Tsuneyoshi, Boyle WA, *Hyperbaric hyperoxia suppresses growth of Staphylococcus aureus, including methicilin-resistant strain*, J.Anesthesia 2001;15:29-32<sup>6</sup>)

Spesies oksigen reaktif diperoleh melalui proses penambahan maupun reduksi molekul oksigen (O<sub>2</sub>). Berbagai spesies oksigen yang merupakan radikal yang reaktif antara lain : superoksida (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), peroksida serta radikal hidroksil. Pada



keadaan tertentu seperti infeksi, enzim NAD(P)H-oksida yang terletak pada membran neutrofil akan teraktivasi 20 kali lebih banyak dibandingkan keadaan normal. Pada satu sisi superoksida yang dihasilkan dapat membunuh bakteri, namun pada sisi lain juga dapat menyebabkan kerusakan jaringan. Enzim *superoxide-dismutase* (SOD) dapat mengubah superoksida menjadi hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ). Hidrogen peroksida juga dapat diubah menjadi air ( $H_2O$ ) dengan bantuan katalase atau *glutathione peroxidase* (GSH).<sup>27</sup>



Gambar 7 : Jalur produksi oksigen aktif

(Dikutip dari: Wahl SM. Inflammation. In Cohen IK, Diegelmann RF, Lindblad WJ. Wound Healing: Biochemical & Clinical Aspects. Philadelphia. WB Saunders. 1992:p40-62<sup>29</sup>)

Hidrogen peroksida bukan suatu radikal bebas, tetapi dapat menginisiasi terbentuknya radikal bebas. Hidrogen peroksida ini banyak diproduksi di mitokondria dan mikrosom. Produksi hidrogen peroksida ini akan meningkat jika

konsentrasi  $O_2$  meningkat. Hidrogen peroksida ini mempunyai kemampuan menembus membran sel, sehingga apabila sistem proteksi di luar sel sedikit atau menurun maka dengan adanya transisional metal ( $Fe^{2+}$ ) akan membentuk radikal hidroksil (-OH).<sup>27,29</sup>

Dibandingkan dengan radikal bebas lainnya, radikal hidroksil (-OH) adalah paling reaktif dengan waktu paruh sangat pendek ( $10^9$  detik) dan dengan cepat akan merusak molekul didekatnya. Radikal hidroksil ini dapat menyerang membran fosfolipid sel pada rantai "*poly unsaturated fatty acids*" (PUFA) dan terjadilah peroksidasi lemak. PUFA dalam membran fosfolipid dan kolesterol merupakan zat yang paling mudah terkena reaksi radikal bebas karena PUFA merupakan struktur ikatan rangkap karbon yang mudah bereaksi dengan radikal bebas.<sup>27</sup>

#### **b. Species Nitrogen Reaktif**

Oksida nitrit (NO) merupakan spesies nitrogen yang paling reaktif. Oksida nitrit yang dihasilkan oleh berbagai sel dan jaringan dengan bantuan enzim *Nitric Oxide Synthase* (NOS) yang akan mengkatalisis konversi L-arginin menjadi L-sitrulin, dengan NO sebagai produk sisa.

Ada 3 bentuk isoform enzim NOS, yaitu :

1. *neuronal* NOS (nNOS; tipe 1) yang ditemukan pada sistem saraf.
2. *inducible* NOS (iNOS; tipe 2) yang ditemukan pada makrofag dan sel imun;
3. *endotelial* NOS (eNOS; tipe 3) yang ditemukan pada sel-sel endotel.

Banyak jaringan yang dapat mengekspresikan satu atau lebih dari ketiga isoform ini. Isoform nNOS dan eNOS dihasilkan terus-menerus (consecutive NO) oleh jaringan sehat dan aktivitasnya sangat dipengaruhi oleh substrat yang dapat meningkatkan konsentrasi kalsium intraselular seperti asetilkolin dan bradikinin. Namun stimulasi terhadap enzim tersebut hanya menghasilkan sejumlah kecil NO, sedangkan isoform iNOS merupakan enzim yang tidak tergantung kalsium dan hanya diekspresikan oleh makrofag melalui stimulasi sitokin serta lipolisakarida pada proses inflamasi yang pada akhirnya akan menghasilkan NO dalam jumlah besar.<sup>27</sup>

### c. Peroksinitrit (ONOO<sup>-</sup>)

Reaksi antara superoksida dan NO akan membentuk peroksinitrit. Peroksinitrit merupakan molekul yang lebih reaktif dibandingkan superoksida maupun NO sendiri. Peroksinitrit dapat menyebabkan berbagai reaksi kimia pada sistem biologi, meliputi pemicu peroksidasi lipid, penghambatan transport elektron mitokondria, oksidasi komponen *thiol*, dan juga mempunyai aktivitas pemotongan DNA yang poten, oleh karenanya peroksinitrit memegang peranan penting dalam apoptosis dan mutasi gen.<sup>27</sup>

### 2.2.3. Pengaruh Hiperbarik terhadap Mikroorganisme

Penggunaan terapi hiperbarik untuk melawan infeksi dimulai tahun 1961 ketika Brummelkamp dan Boerema melaporkan kesuksesan pertama mereka mengobati gas gangren pada manusia di Amsterdam. Beberapa tahun kemudian

osteomielitis kronis yang sukar disembuhkan menjadi indikasi pemberian terapi oksigen hiperbarik.<sup>31</sup>

Toleransi bakteri terhadap oksigen hiperbarik dapat dikelompokkan sebagai berikut :

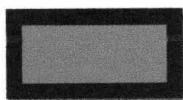
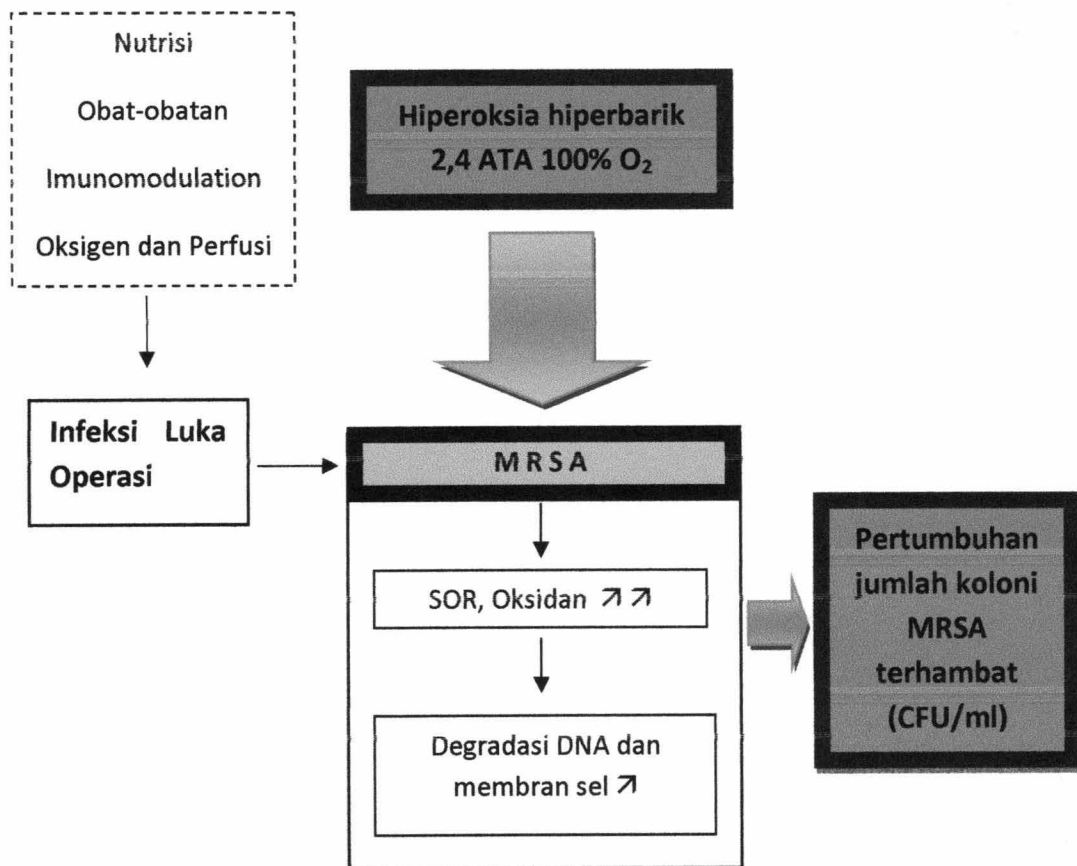
1. Aerob murni, absolut membutuhkan molekul O<sub>2</sub> untuk hidup.
2. *Microaerophiles*, dapat menggunakan oksigen tapi berkembang dengan baik pada konsentrasi oksigen lebih rendah daripada udara.
3. *Aero-anaerobes* atau fakultatif anaerob, dapat berkembang dengan atau tanpa oksigen, metabolisme berdasar respirasi atau proses fermentasi (*Staphylococcus* dan *entero-bacteriaceae*).
4. *Aerotolerant anaerobes*, masih dapat berkembang dengan adanya O<sub>2</sub> tapi berkembang lebih baik tanpa oksigen (*Streptococcus* dan *Enterococcus*).
5. Anaerob murni dengan metabolisme anoksibiotik, pada bakteri ini O<sub>2</sub> akan menyebabkan kematian. Bakteri ini memakai proses fermentasi untuk menghasilkan energi.<sup>31</sup>

Efek toksis oksigen bervariasi, beberapa bakteri *Extremely Oxygen Sensitive* (EOS) dan mati dalam waktu singkat ketika terekspos oksigen. Bakteri-bakteri ini bertahan dengan kadar oksigen dibawah 0,1%. Sebagian besar bakteri anaerob termasuk yang menyebabkan patologi adalah bakteri anaerob moderat dengan toleransi oksigen 0,5-5%. Hiberbarik oksigen dapat bersifat bakteristatik dan kadang bersifat bakterisid pada bakteri anaerob fakultatif.<sup>31</sup>

### BAB III

## KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESA PENELITIAN

### 3.1. Kerangka Konsep Penelitian



Diteliti

### 3.2. Hipotesis Penelitian

Hiperoksia hiperbarik 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> dapat menghambat pertumbuhan jumlah koloni bakteri *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)

## BAB IV

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan studi eksperimental laboratoris dengan rancangan *randomized controlled trial* pada bakteri MRSA yang didapat dari infeksi luka operasi pasca pembedahan. Kelompok perlakuan pada isolat MRSA akan dilakukan perlakuan dengan hiperoksia hiperbarik dan kelompok kontrol penelitian dengan perlakuan normoksia normobarik secara *in vitro*.

#### 4.2 Sampel, Besar Sampel, Teknik Sampling

##### 4.2.1. Sampel

Sampel penelitian adalah isolat MRSA yang didapat dari infeksi luka operasi.

##### 4.2.2 Besar Sampel

Perhitungan besar sampel setiap kelompok (perlakuan dan kontrol) menggunakan rumus besar sampel penelitian analitik numerik berpasangan.<sup>32</sup>

$$n = \frac{(Z\alpha + Z\beta)^2 Sd^2}{d^2}$$

Untuk kelompok yang berpasangan,  $Sd^2 / d^2 = 1$ , sehingga jumlah sampel setiap kelompok :

$$n = (Z\alpha + Z\beta)^2$$

Pada penelitian ini digunakan  $\alpha = 0,01$  ( $Z\alpha = 1,96$ ) dan  $\beta = 0,2$  ( $Z\beta = 0,84$ ). Maka besar sampel tiap kelompok adalah :

$$\begin{aligned} n &= (Z\alpha + Z\beta)^2 \\ &= (1,96 + 0,84)^2 \\ &= 7,84 \approx 8 \end{aligned}$$

#### 4.2.3 Teknik Sampling

Sampel penelitian diambil secara random.

#### 4.3 Variabel Penelitian

Pada penelitian ini variabel penelitian yang diteliti adalah :

4.3.1 Variabel tergantung adalah jumlah koloni bakteri MRSA.

4.3.2 Variabel bebas adalah pemberian oksigen, dengan kondisi :

- a. Normoksia normobarik
- b. Hiperoksia hiperbarik



## 4.4 Definisi Operasional

### 4.5.1 Isolat MRSA

Isolat bakteri *Staphylococcus aureus* strain MRSA yang diisolasi dan diidentifikasi dari spesimen dari infeksi luka operasi secara standar (WHO). Identifikasi MRSA berdasarkan : koloni yang tumbuh pada media agar CHROM<sup>TM</sup>MRSA berwarna pink, mikroskopis kokus Gram positif, uji *Staphylase* positif dan resisten Sefoksitin (WHO).<sup>40</sup>

**4.4.1 Jumlah Koloni CFU/ml** : Hitungan jumlah koloni yang tumbuh pada media agar CHROM<sup>TM</sup>MRSA dari inokulasi, kultur atau subkultur 1 ml suspensi MRSA dalam media cair *Triptycase soy*. Penghitungan koloni menggunakan *colony counter Quibec*.

$$\text{CFU} = \text{Colony-forming units}^{33}$$

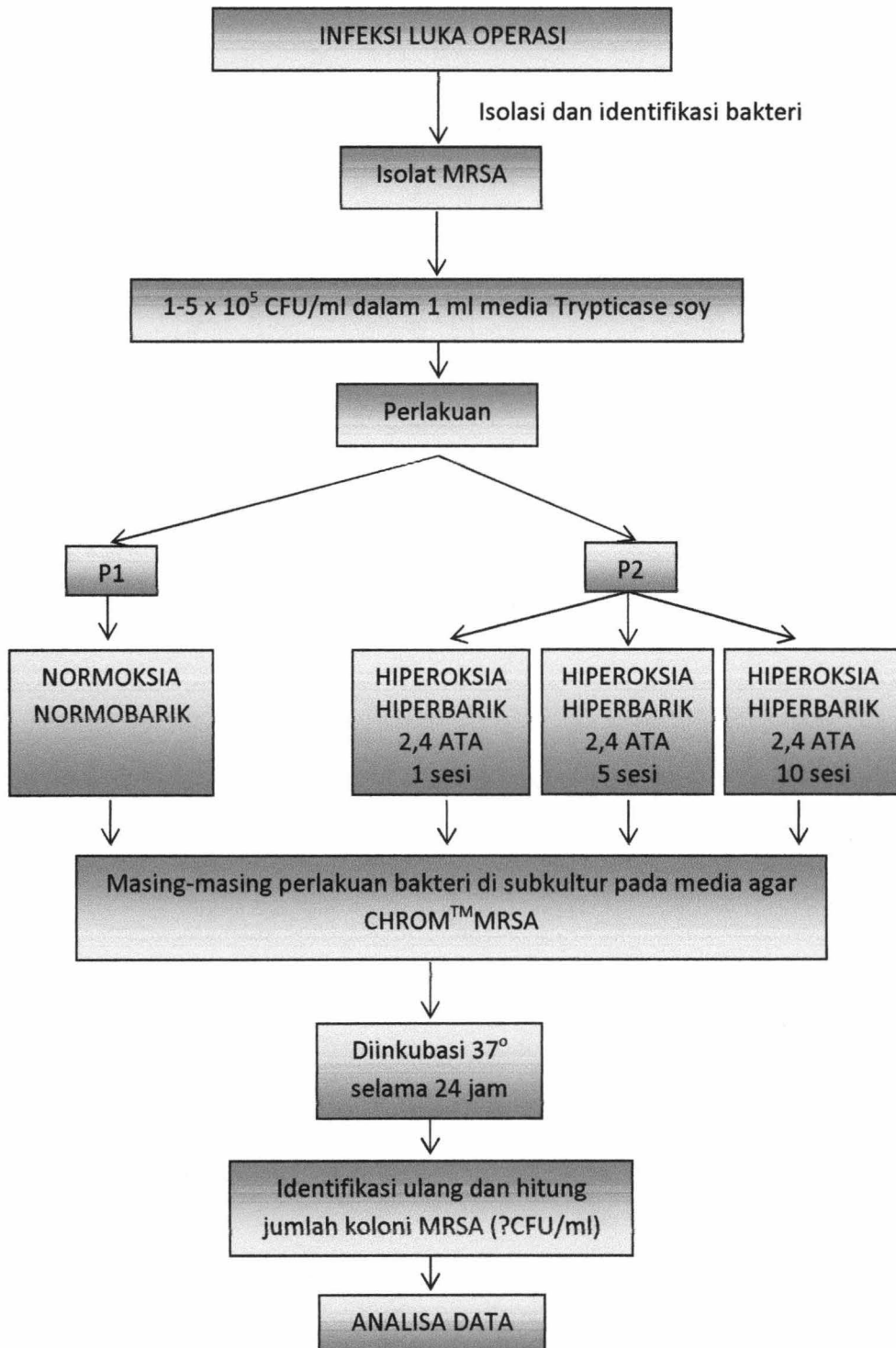
**4.4.2 Hiperoksia hiperbarik** : Tekanan 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> dosis terapi :

- 1 sesi : (3x30 menit interval 5 menit udara) x 1 = 90 menit
- 5 sesi : (3x30menit interval 5 menit udara) x 5 = 450 menit
- 10 sesi : (3x30menit interval 5 menit udara) x 10 = 900 menit<sup>34</sup>

**4.4.3 Normoksia normobarik** : Tekanan 1 ATA, 21% O<sub>2</sub><sup>34</sup>

**4.4.4 Infeksi Luka Operasi** : Infeksi luka operasi adalah infeksi yang berhubungan dengan tindakan operasi yang terdapat di atau sekitar insisi operasi sampai 30 hari paska operasi atau 1 tahun jika dengan implan.<sup>35,36,38,39</sup>

#### 4.5 Kerangka Operasional



## Prosedur Penelitian :

1. Penentuan dan pemilihan sampel infeksi luka operasi
2. Isolasi dan identifikasi bakteri MRSA (standar WHO) dari spesimen *pus/* usapan luka pasien bedah dengan infeksi luka operasi. Isolat *Staphylococcus aureus* yang diperoleh secara standar WHO di Laboratorium Mikrobiologi, dilakukan identifikasi MRSA dengan melakukan subkultur pada media CHROM<sup>TM</sup>MRSA, bila tumbuh koloni *pink* dilakukan pemeriksaan mikroskopis pada sediaan dengan pewarnaan Gram, uji *staphylase*, dan uji resistensi Sefoksitin. Diagnosis MRSA bila Gram positif, uji *staphylase* positif dan resisten Sefoksitin.
3. Hitung koloni dalam media cair *Trypticase soy* ( $1,5 \times 10^5$  CFU/ml)
4. Preparasi suspensi bakteri MRSA,  $1,5 \times 10^5$  CFU/ml dalam petri disk steril sebanyak 2x (duplo), masing-masing 1 ml.
5. Perlakuan hiperoksia hiperbarik dosis terapi 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> tiga kali pemberian selama 30 menit dengan interval antar kali pemberian 5 menit udara, dilakukan sejumlah 1 sesi (90 menit), 5 sesi (450 menit) dan 10 sesi (900 menit) dengan interval antar sesi 20 menit udara pada sepasang suspensi MRSA duplo dan sepasang MRSA duplo dengan perlakuan normoksia normobarik dalam waktu yang sama (sebagai kelompok kontrol perlakuan).

6. Subkultur suspensi MRSA setelah perlakuan dalam media agar CHROM<sup>TM</sup>MRSA (*ITK Diagnostic BV*) inkubasi pada 35-37<sup>0</sup> C selama 18-24 jam.
7. Pengamatan pertumbuhan dan hitung jumlah koloni (CFU/ml) menggunakan *colony counter*.

## **4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian**

### **4.6.1 Lokasi Penelitian**

1. Instalasi Rawat Inap Bedah RSUD Dr Soetomo Surabaya
2. Instalasi Rawat Jalan Bedah RSUD Dr Soetomo Surabaya
3. Laboratorium Mikrobiologi Klinik RSUD Dr Soetomo Surabaya
4. Lembaga Kesehatan TNI AL (Lakesla)

### **4.6.2 Waktu Penelitian**

Dilakukan selama 5 bulan, dimulai dari pengumpulan data sampai analisa

## **4.7 Pengumpulan Data dan Analisa Data**

### **4.7.1 Pengumpulan data**

Data penelitian dikumpulkan dalam suatu formulir penelitian yang telah disiapkan kemudian dilakukan *entry* data dengan menggunakan *software SPSS version 13.0*.

#### 4.7.2 Analisis data

Data dianalisis dengan cara :

1. Deskriptif dengan menampilkan tabel distribusi frekuensi.
2. Uji statistik dengan *paired t- test*.

Tabel 5. 2. Pola bakteri MRSA dan kepekaan terhadap antimikroba

Jenis bakteri	Resistensi terhadap antimikroba												Jml
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
MRSA	10R	5R	2R	10R	3R	3R	5R	10R	5R	8R	0R	3R	10 iso lat
	0I	5I	2I	0I	7I	7I	5I	0I	4I	1I	2I	4I	
	0I	0I	6S	0S	0S	0S	2S	0S	1S	1S	8S	3S	
Prosentase resistensi	100	50	20	100	30	30	50	100	50	80	0	30	

Keterangan :

1=SXT:Sulfametoksazol Trimetoprim	7=FOS:Fosfomisin	
2=TZP:Tazobaktam piperasilin	8=DA :Klindamisin	
3=VA :Vankomisin	9=E :Eritromisin	
4=CN :Gentamisin	10=TE :Tetrasiklin	
5=AMC:Amoksisilin-asam klavulanat	11=LZO:Linezolid	
6=CAZ:Ceftazidim	12=C :Cloramfenikol	
R=Resisten	I=Intermediet	S=Sensitif

Pada hasil uji kepekaan strain MRSA, ditemukan masalah multiresisten terhadap antimikroba, seperti : Sulfametoksazol Trimetoprim , Gentamisin Klindamisin sebesar 100%, sensitif terhadap Linesolid sebesar 100% dan sudah ada resistensi terhadap Vankomisin sebesar 20%. (Tabel 5.2)

Pada isolat koloni MRSA yang ditemukan pada media agar CHROM<sup>TM</sup>MRSA diperoleh karakteristik koloni bulat cembung diameter 1-2 mm, berwarna merah pink. Pada pemeriksaan mikroskopis ditemukan karakter bentuk kokus Gram positif. Pada uji *Staphylase* dari suspensi koloni dengan hasil positif, dan uji resistensi terhadap cakram antibiotik Sefoksitin tidak ada zona hambatan pertumbuhan atau kurang dari 21 mm (resisten).<sup>40</sup>

Pada 8 isolat MRSA dilakukan eksperimen dengan perlakuan hiperoksia hiperbarik dosis terapi 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 1sesi, 5sesi, 10sesi dan dibandingkan kontrol normoksi normobarik. Perlakuan hiperoksia hiperbarik 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> pada isolat MRSA dengan dosis terapi 3x30 menit interval 5 menit udara dilakukan sejumlah 1 sesi, 5 sesi dan 10 sesi dalam waktu 90 menit, 450 menit dan 900 menit dan sepasang duplo dengan perlakuan normoksia normobarik dalam waktu yang sama.

Tabel 5.3. Hasil eksperimen perlakuan hiperoksia hiperbarik 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 1 sesi, 5 sesi dan 10 sesi terhadap pertumbuhan koloni MRSA (CFU/ml)

Rerata pertumbuhan koloni MRSA (CFU/ml)			
Kelompok sebelum perlakuan P1=P2=P3	Kelompok setelah perlakuan		
	E 1	E 2	E 3
1,0887 x 10 <sup>5</sup>	1,0475 x 10 <sup>5</sup>	9,2500 x 10 <sup>4</sup>	8,3500 x 10 <sup>4</sup>

Keterangan :

1. P1=P2=P3 : rerata pertumbuhan koloni MRSA (CFU/ml) sebelum perlakuan hiperoksia hiperbarik
2. E1 : rerata pertumbuhan koloni MRSA (CFU/ml) setelah perlakuan hiperoksia hiperbarik 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 1 sesi.
3. E2 : rerata pertumbuhan koloni MRSA (CFU/ml) setelah perlakuan hiperoksia hiperbarik 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 5 sesi.
4. E3 : rerata pertumbuhan koloni MRSA (CFU/ml) setelah perlakuan hiperoksia hiperbarik 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 10 sesi.

Pada kelompok isolat MRSA setelah perlakuan hiperoksia hiperbarik 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 1 sesi (E1) ditemukan rerata pertumbuhan koloni MRSA  $1,0475 \times 10^5$  CFU/ml; setelah 5 sesi (E2) ditemukan rerata pertumbuhan koloni MRSA  $9,2500 \times 10^4$  CFU/ml; dan pada 10 sesi (E3) rerata pertumbuhan koloni MRSA  $8,3500 \times 10^4$  CFU/ml.

## 5.2 ANALISA DATA

Pada setiap kelompok dilakukan uji normalitas data dengan tes non parametrik *Kolmogorov-Smirnov*, menunjukkan bahwa semua data dengan distribusi normal ( $p > 0,05$ ), pada tabel 5.4.



Tabel 5.4. Hasil analisis statistik distribusi normal pertumbuhan koloni MRSA (CFU/ml) pada kelompok perlakuan hiperoksia hiperbarik 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 1 sesi, 5 sesi, 10 sesi dan kelompok sebelum perlakuan.

KELOMPOK	RERATA PERTUMBUHAN (CFU/ml)	SD	Sig
Kontrol O1=O2=O3	$1,5875 \times 10^5$	$1,35620 \times 10^4$	0,235
Perlakuan P1 (E1)	$1,0475 \times 10^5$	$5,60809 \times 10^4$	0,475
Perlakuan P2 (E2)	$9,2500 \times 10^5$	$7,90568 \times 10^4$	0,895
Perlakuan P3 (E3)	$8,3500 \times 10^5$	$1,70755 \times 10^4$	0,475

Keterangan :

O1=O2=O3 : jumlah koloni MRSA (CFU/ml) sebelum perlakuan

E1 : jumlah koloni MRSA (CFU/ml) setelah perlakuan hiperoksia hiperbarik 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 1 sesi

E2 : jumlah koloni MRSA (CFU/ml) setelah perlakuan hiperoksia hiperbarik 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 5 sesi

E3 : jumlah koloni MRSA (CFU/ml) setelah perlakuan hiperoksia hiperbarik 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 10 sesi

Jumlah pertumbuhan koloni MRSA (CFU/ml) sebelum perlakuan dan setelah perlakuan hiperoksia hiperbarik selama 90 menit dianalisis, kemudian dilakukan uji t untuk mengetahui rata-rata perbedaan jumlah koloni MRSA sebelum perlakuan dan setelah perlakuan hiperoksia hiperbarik 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 1 sesi menunjukkan :

Tabel 5.5. Uji t untuk perbedaan rerata pertumbuhan koloni MRSA (CFU/ml) antara kelompok sebelum perlakuan (VAR1) dengan kelompok perlakuan 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 1 sesi (VAR2)

	<i>T</i>	<i>df</i>	<i>Sig (2-tailed)</i>
<i>Pair</i> VAR1-VAR2	2,998	7	0,020

Sesuai hasil uji t untuk sampel yang berpasangan , antara kelompok pre terapi dengan kelompok perlakuan hiperoksia hiperbarik 90 menit didapatkan perbedaan yang bermakna dengan  $t=2,998$  dan  $p=0,020$ . Jadi intervensi perlakuan hiperoksia hiperbarik 90 menit (1 sesi ) menurunkan jumlah koloni MRSA secara bermakna (Tabel 5.5).

Jumlah koloni MRSA sebelum perlakuan dan setelah perlakuan hiperoksia hiperbarik selama 450 menit (5 sesi) dianalisa, kemudian dilakukan uji t untuk mengetahui rata-rata perbedaan jumlah koloni MRSA.

Tabel 5.6. Uji t untuk perbedaan rerata pertumbuhan koloni MRSA (CFU/ml) antara kelompok sebelum perlakuan (VAR1) dengan kelompok perlakuan 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 5 sesi (VAR3)

	<i>t</i>	<i>df</i>	<i>Sig (2-tailed d)</i>
<i>Pair VAR1-VAR3</i>	11,017	7	0,000

Hasil uji t untuk sampel yang berpasangan antara kontrol dengan kelompok tindakan 450 menit (5 sesi) didapatkan perbedaan yang bermakna dengan  $t=11,017$  dan  $p=0,000$ . Jadi intervensi perlakuan hiperoksia hiperbarik 450 menit (5 sesi) menurunkan jumlah koloni MRSA secara bermakna. (Tabel 5.6)

Jumlah koloni MRSA sebelum perlakuan dan setelah perlakuan hiperoksia hiperbarik selama 900 menit (10 sesi) dianalisa, kemudian dilakukan uji t untuk mengetahui rata-rata perbedaan jumlah koloni MRSA.

Tabel 5.7. Uji t untuk perbedaan rerata pertumbuhan koloni MRSA (CFU/ml) antara kelompok sebelum perlakuan (VAR1) dengan kelompok perlakuan 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 10 sesi (VAR4)

	<i>t</i>	<i>df</i>	<i>Sig (2-tailed d)</i>
<i>Pair VAR1-VAR4</i>	10,901	7	0,000

Hasil uji t untuk sampel yang berpasangan antara kontrol dengan kelompok tindakan 900 menit (10 sesi) didapatkan perbedaan yang bermakna dengan  $t = 10,091$  dan  $p = 0,000$ . Jadi intervensi perlakuan hiperoksia hiperbarik 900 menit (10 sesi dosis terapi) menurunkan jumlah koloni MRSA secara bermakna (Tabel 5.7)

Jumlah koloni MRSA setelah perlakuan hiperoksia hiperbarik selama 90 menit dan setelah perlakuan 450 menit dianalisa, kemudian dilakukan uji t untuk mengetahui rata-rata perbedaan jumlah koloni MRSA.

Tabel 5.8. Uji t untuk perbedaan rerata pertumbuhan koloni MRSA (CFU/ml) antara kelompok perlakuan 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 1 sesi (VAR2) dengan kelompok perlakuan 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 5 sesi (VAR3)

	<i>t</i>	<i>df</i>	<i>Sig (2-tailed d)</i>
<i>Pair VAR2-VAR3</i>	0,640	7	0,543

Hasil uji t untuk sampel yang berpasangan antara kelompok tindakan 90 menit dengan kelompok tindakan 450 menit tidak didapatkan perbedaan yang bermakna dengan  $t = 0,640$  dan  $p = 0,543$ . Jadi intervensi perlakuan hiperoksia hiperbarik 90 menit (1 sesi dosis terapi) dibandingkan dengan 450 menit (5 sesi dosis terapi) tidak menurunkan jumlah koloni MRSA secara bermakna. (Tabel 5.8)

Jumlah koloni MRSA setelah perlakuan hiperoksia hiperbarik selama 90 menit dan setelah perlakuan 900 menit dianalisa, kemudian dilakukan uji t untuk mengetahui rata-rata perbedaan jumlah koloni MRSA.

Tabel 5.9. Uji t untuk perbedaan rerata pertumbuhan koloni MRSA (CFU/ml) antara kelompok perlakuan 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 1 sesi (VAR2) dengan kelompok perlakuan 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 10 sesi (VAR4)

	<i>t</i>	<i>df</i>	<i>Sig (2-tailed d)</i>
<i>Pair VAR2-VAR4</i>	1,405	7	0,203

Hasil uji t untuk sampel yang berpasangan antara kelompok tindakan 90 menit dengan kelompok tindakan 900 menit tidak didapatkan perbedaan yang bermakna dengan  $t = 1,405$  dan  $p = 0,203$ . Jadi intervensi perlakuan hiperoksia hiperbarik 90 menit (1 sesi dosis terapi) dibandingkan dengan 900 menit (10 sesi dosis terapi) tidak menurunkan jumlah koloni MRSA secara bermakna. (Tabel 5.9)

Jumlah koloni MRSA setelah perlakuan hiperoksia hiperbarik selama 450 menit dan setelah perlakuan 900 menit dianalisa, kemudian dilakukan uji t untuk mengetahui rata-rata perbedaan jumlah koloni MRSA

Tabel 5.10. Uji t untuk perbedaan rerata pertumbuhan koloni MRSA (CFU/ml) antara kelompok perlakuan 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 5sesi (VAR3) dengan kelompok perlakuan 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 10 sesi (VAR4)

	<i>t</i>	<i>df</i>	<i>Sig (2-tailed d)</i>
<i>Pair VAR3-VAR4</i>	1,503	7	0,177

Hasil uji t untuk sampel yang berpasangan antara kelompok tindakan 450 menit dengan kelompok tindakan 900 menit tidak didapatkan perbedaan yang bermakna dengan  $t = 1,503$  dan  $p = 0,177$ . Jadi intervensi perlakuan hiperoksia hiperbarik 450 menit (5 sesi dosis terapi) dibandingkan dengan 900 menit (10 sesi dosis terapi) tidak menurunkan jumlah koloni MRSA secara bermakna (Tabel 5.10).

Pada kelompok kontrol, dilakukan subkultur pada saat sebelum perlakuan dengan rerata  $1,5 \times 10^5$  CFU/ml, dan setelah 90 menit perlakuan pemberian normoksia normobarik ditemukan tidak ada perbedaan rerata dengan sebelum perlakuan, yaitu  $\pm 1,5 \times 10^5$  CFU/ml. Sedangkan pada pengamatan waktu 450 menit dan 900 menit tidak dilakukan subkultur dari kelompok kontrol, karena secara teoritis pada pertumbuhan bakteri aerob dalam media cair nutrisi optimal (*Trypticase soy*) terjadi pertumbuhan koloni cepat fase logaritmik, dari 1 sel bakteri (1 CFU/ml) dapat menjadi  $10^7$  (CFU/ml), dengan demikian dari  $1,5 \times 10^5$  akan menjadi  $10^{12}$  CFU/ml, dalam subkultur pada media padat tidak dapat dihitung atau konfluen bergabung merata. Dengan demikian pada analisis data

hasil penelitian, kelompok kontrol tidak dilakukan analisis statistik pada waktu 90 menit, 450 menit dan 900 menit.

## BAB VI

### PEMBAHASAN

#### 6.1 Pengaruh hiperoksia hiperbarik dosis terapi 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> terhadap pertumbuhan koloni MRSA (CFU/ml) *in vitro*

Pada analisa data hasil perlakuan hiperoksia hiperbarik dosis terapi 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> dengan 1 sesi, 5 sesi dan 10 sesi (waktu 90 menit, 450 menit dan 900 menit), ditemukan perbedaan jumlah pertumbuhan koloni MRSA antara sebelum perlakuan dengan setelah perlakuan hiperoksia hiperbarik baik dengan 1 sesi (90 menit), 5 sesi (450 menit) dan 10 sesi (900 menit) menunjukkan perbedaan yang bermakna ( $p=0,020$ ,  $p=0,000$ , dan  $p=0,000$ ). Jumlah koloni kuman setelah perlakuan lebih sedikit daripada sebelum perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa intervensi perlakuan hiperoksia hiperbarik dosis terapi 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> menurunkan jumlah pertumbuhan koloni MRSA secara bermakna, termasuk yang 1 sesi (90 menit).

Respon bakteri fakultatif aerob atau aerob terhadap peningkatan tekanan oksigen mempunyai dua fase, yaitu pertumbuhannya baik pada tekanan kurang dari 1,5 ATA 100% O<sub>2</sub>, namun terhambat pertumbuhannya pada tekanan yang lebih tinggi dari 1,5 ATA 100% O<sub>2</sub>, oleh karena itu pada penelitian ini digunakan tekanan hiperoksia hiperbarik dosis terapi 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub><sup>7</sup>



Berdasarkan penelitian pengaruh hiperoksia hiperbarik pada sel jaringan tubuh manusia atau hewan oleh Courtier, perubahan parameter biokimiawi sel jaringan yang merupakan reaksi terhadap paparan hiperoksia hiperbarik dibagi menjadi 3 tingkat, yaitu :<sup>35</sup>

- a. Tingkat adaptasi, yang merupakan tingkat inisiasi terhadap paparan oksigen hiperbarik, ditandai dengan peningkatan kadar SOR yang besarnya tiap individu sangat berbeda.
- b. Tingkat respon memadai, merupakan tingkat kedua yang ditandai dengan peningkatan kadar enzim-enzim antioksidan, yang merupakan mobilisasi sistem pertahanan tubuh.
- c. Tingkat respon yang tidak memadai, terjadi setelah paparan oksigen hiperbarik yang berkepanjangan dan intensif. Ditandai dengan peningkatan kadar SOR yang tidak terkendali dan tidak dapat dikendalikan lagi oleh sistem pertahanan tubuh.

Dari ketiga tingkat tersebut dapat diketahui bahwa pada perlakuan hiperoksia hiperbarik terdapat peningkatan kadar SOR pada saat dimulai paparan. Perkembangan dan peningkatan SOR ini berpengaruh pada bakterisid atau bakteriostatik. Sjodin menyatakan bahwa pada tingkat adaptasi, peningkatan SOR dapat menstimulasi sintesa antioksidan.<sup>31</sup>

Sel memiliki sistem pertahanan terhadap aktivitas radikal bebas melalui sistem *scavenging*. Ketidakseimbangan homeostasis radikal bebas yaitu antara

pembentukan radikal bebas dengan sistem *scavenging* menghasilkan suatu keadaan yang disebut stres oksidatif. Stres oksidatif dapat mengakibatkan kerusakan sel atau sel dapat bertoleransi terhadap stres oksidatif yang bersifat ringan melalui pengaturan kembali sintesa antioksidan.<sup>41</sup>

Reaksi antara SOR dengan oksida nitrit (NO) akan membentuk peroksinitrit. Peroksinitrit merupakan molekul yang lebih reaktif dibandingkan superoksida maupun NO sendiri. Peroksinitrit dapat memicu terjadinya peroksidasi lemak dan kerusakan DNA atau *strant break* DNA yang mengakibatkan kematian sel.<sup>6,41</sup> Bakteri yang tidak mempunyai pertahanan tubuh terhadap radikal bebas, akan lebih rentan terhadap peningkatan tekanan oksigen.<sup>6,31</sup>

Efek peningkatan tekanan lingkungan hiperbarik (efek mekanik) kemungkinan juga berpengaruh langsung terhadap penurunan aktivitas sel. Hall, 1986, melakukan penelitian khusus tentang efek tekanan hidrostatis dengan tekanan 1 - 500 ATA menunjukkan bahwa perubahan tekanan akan menghambat kemampuan transport aktif maupun pasif membran sel.<sup>42</sup>

Pada penelitian ini menunjukkan bahwa intervensi secara *in vitro* perlakuan hiperoksia hiperbarik dosis 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> menurunkan jumlah koloni MRSA secara bermakna.

Kemungkinan kelebihan yang dapat ditemukan pada penelitian ini, secara *in vitro* dosis 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> dapat menurunkan pertumbuhan bakteri MRSA dan apabila dilakukan secara *in vivo* kemungkinan ada efek sinergis antara

peningkatan SOR dari sel jaringan dengan SOR dalam sitoplasma sel bakteri, sehingga pada dosis terapi tidak ada gangguan pada sel jaringan, tetapi sangat toksik bagi sel bakteri dan meningkatkan kematian sel bakteri MRSA.

Selain itu efek positif dosis terapi hiperoksia hiperbarik juga dilaporkan pada peningkatan aktivitas sel imun seperti sel makrofag maupun sel limfosit T atau B sehingga akan sangat membantu fungsi respon inflamasi untuk menghancurkan bakteri atau mikroba lain. Jadi ada efek sinergis pengaruh hiperoksia hiperbarik, yaitu efek langsung mematikan sel bakteri, plus efek toksik bakterisidal SOR tambahan dari aktivitas metabolik respirasi sel jaringan tubuh, serta tambahan efek aktivasi fagositosis sel-sel respon inflamasi.

## **6.2 Pengaruh waktu paparan hiperoksia hiperbarik terhadap pertumbuhan jumlah koloni MRSA**

Analisa data hasil pengamatan jumlah koloni MRSA setelah perlakuan hiperoksia hiperbarik antara waktu selama 90 menit (E1) dibandingkan dengan 450 menit (E2) menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna ( $p=0,543$ ), antara waktu 90 menit (E1) dengan 900 menit (E3) juga tidak ada perbedaan bermakna ( $p=0,203$ ); demikian pula antara waktu 450 menit (E2) dengan 900 menit (E3) dengan hasil tidak bermakna ( $p=0,177$ ). Jadi setelah waktu paparan hiperoksia hiperbarik 90 menit (1 sesi) tidak ada perbedaan penurunan jumlah koloni MRSA sampai dengan waktu 900 menit.

Pada hasil paparan hiperoksia hiperbarik waktu 450 menit (7-8 jam) dan 900 menit (15 jam) tidak ada perbedaan dengan paparan 90 menit, kemungkinan

karena pada 90 menit pertama terjadi tahap awal replikasi atau metabolisme respirasi aktif dari sel bakteri MRSA sehingga dengan paparan hiperoksia hiperbarik terjadi luapan SOR yang tidak dapat dikendalikan oleh sel bakteri MRSA sehingga terjadi banyak kematian sel bakteri. Pada paparan yang lebih lama (450 menit dan 900 menit), semua sel bakteri dalam populasi yang besar ( $1,5 \times 10^5$  CFU/ml), walaupun sebagian besar mengalami kematian pada awal 90 menit namun sebagian akan beradaptasi dengan menghentikan aktivitas metabolisme respirasi sehingga tetap hidup (viabel) secara dorman, yang dapat ditumbuhkan pada keadaan lingkungan normal, yaitu pada saat di subkultur.

Jumlah koloni bakteri MRSA pada penelitian ini tidak berbeda bermakna antara pemberian hiperoksia hiperbarik selama 90 menit (1 sesi), 450 menit (5 sesi) dibandingkan dengan 900 menit (10 sesi). Hal ini disebabkan terjadinya mekanisme pertahanan tubuh bakteri yang mampu mengatasi peningkatan radikal bebas di dalam sel, dan pertumbuhan bakteri sendiri mencapai fase stasioner setelah 90 menit pemberian hiperoksia hiperbarik. Menurut Bizaria, pada fase stasioner, tidak ada peningkatan atau penurunan jumlah bakteri.<sup>42</sup>

Penelitian tentang waktu paparan hiperoksia hiperbarik pada sel-sel jaringan tubuh menunjukkan bahwa pada paparan oksigen hiperbarik yang lama dan intensif, semakin banyak anion superoksida terbentuk, semakin banyak enzim antioksidan yang diperlukan untuk merubahnya menjadi hidrogen peroksida, dengan kata lain kadar *superoxide dismutase* (SOD) makin menurun. Semakin banyak SOR yang terbentuk semakin banyak pula SOR yang gagal dinetralkan oleh enzim antioksidan.<sup>6,11,31</sup>

Sjodin menyatakan bahwa SOR yang tidak dinetralisir akan merusak integritas sel melalui sejumlah reaksi yang membentuk senyawa radikal-radikal baru dari komponen-komponen membran sel, DNA dan protein yang berperan penting dalam kehidupan sel.<sup>11</sup> Pada membran sel, SOR mengadakan sejumlah reaksi dengan komponen asam lemak, khususnya asam lemak tak jenuh yang dikenal dengan peroksidasi lemak. Peroksidasi lemak pada membran sel menyebabkan terputusnya rantai asam lemak menjadi berbagai senyawa yang toksis terhadap sel.<sup>11</sup>

Secara *in vivo* perlu diteliti pengaruh dosis terapi hiperoksia hiperbarik yang efektif pada suatu infeksi luka operasi yang disebabkan oleh bakteri MRSA. Beberapa faktor sinergis yang dapat meningkatkan efektivitas antimikroba yaitu efek langsung bakterisidal terhadap bakteri, efek peningkatan SOR dari sel jaringan, dan efek aktivasi sel imun. Selain itu perlu diperhatikan dosis terapi yang tepat untuk tidak menimbulkan efek toksik pada sel jaringan tubuh.

Pada infeksi luka operasi oleh bakteri MRSA, yang sangat perlu diperhatikan adalah pemberian antibiotika rasional, melihat hasil terapi secara periodik, dan bila perlu dapat diperiksa ulang pola kepekaan antibiotika. Tambahan terapi hiperoksia hiperbarik diharapkan sangat membantu penurunan jumlah bakteri.

Berdasar pengamatan hasil kultur spesimen dari infeksi luka operasi, perlu disadari munculnya strain bakteri multiresisten di lingkungan rumah sakit seperti MRSA, yaitu sebanyak 10 per 91 spesimen infeksi luka operasi (10,8%) dan

ESBL sebanyak 4 per 91 spesimen infeksi luka operasi ( 4,4%). Pada penelitian ini sudah muncul masalah pola multiresisten strain MRSA, Vankomisin didapatkan sudah 20 % resisten dari 10 strain MRSA. Mengingat kesulitan yang ditimbulkan pada tatalaksana pengobatan infeksi di rumah sakit diperlukan evaluasi dan temuan solusi dalam aspek diagnosis maupun terapi. Penegakan diagnosis kasus infeksi di rumah sakit berdasar pemeriksaan kultur dan uji kepekaan yang akurat; demikian pula tinjauan tata laksana pengobatan yang adekuat serta penggunaan modalitas terapi tambahan yang efektif.

## BAB VII

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 7.1. Kesimpulan

1. Paparan hiperoksia hiperbarik dosis terapi 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 1 sesi yaitu 3x30 menit sebanyak 1 kali (90 menit) menurunkan jumlah koloni MRSA secara bermakna ( $p=0,020$ )
2. Paparan hiperoksia hiperbarik dosis terapi 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 5 sesi yaitu 3x30 menit sebanyak 5 kali (450 menit) menurunkan jumlah koloni MRSA secara bermakna ( $p=0,000$ )
3. Paparan hiperoksia hiperbarik dosis terapi 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 10 sesi yaitu 3x30 menit sebanyak 10 kali (900 menit) menurunkan jumlah koloni MRSA secara bermakna ( $p=0,000$ )
4. Tidak ada perbedaan pertumbuhan jumlah koloni bakteri MRSA secara bermakna ( $p>0,05$ ) jika dibandingkan antara paparan hiperoksia hiperbarik dosis terapi 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 1 sesi, 5 sesi, atau 10 sesi.

#### 7.2. Saran

Perlu penelitian lanjutan pengaruh hiperoksia hiperbarik terhadap pertumbuhan MRSA secara *invivo*, khususnya pada kasus infeksi luka operasi.

**DAFTAR KEPUSTAKAAN**

1. Turnidge J, MRSA in Nosocomial Infections, *Phil J Microbiol Infect* 1991;20: 64-65.
2. Gilmore KS, Sahm D, Methicillin Resistant in *Staphylococcus aureus*, Bacterial resistance to Antimicrobial, Marcell Dekker Inc, New York 2002;331-345.
3. Simor AE, Symposium Containing MRSA. Surveillance, Control and Treatment Methods, *Postgraduate medicine* 2001;110-4.
4. Andra, MRSA Update: Diagnosa dan Tatalaksana, 4th Symposium of Indonesian Antimicrobial Resistance Watch (IARW), Farmasia; Agustus 2007. Sumber [http:// www.majalah-farmasia.com/rubrik/one\\_news.asp](http://www.majalah-farmasia.com/rubrik/one_news.asp).
5. Widodo AD, Mertaniasih NM, MRSA in Hospital (Laporan Ilmiah), Mikrobiologi Klinik RSUD Soetomo, Surabaya, 29 Agustus 2008.
6. Tsuneyoshi, Boyle WA, Hyperbaric hyperoxia suppresses growth of *Staphylococcus aureus*, including methicilin-resistant strain, *J.Anesthesia* 2001;15:29-32
7. Mathiew D, Wattel F. Physiologic Effect of Hyperbaric Oxygen on Microorganisms and Host Defences Against Infection. Editor, Mathiew D. *Textbook of Hyperbaric*, Springer, Netherland 2006;1:103-20.
8. Ozden TA, Uzun H, Bohloli M, Toklu AS, Paksoy M, Simsek G. Et al. The Effect of Hyperbaric Oxygen Treatment on Oxidant and Antioxidant Levels during Liver Regeneration in Rats, *Tohoku, J. Exp Med* 2004;203(4):253-65.
9. Benedetti S, Lamorgese A, Oxidative stress and antioxidant status in patient undergoing prolonged exposure to hyperbaric oxygen, *Clin Biochem* 2004;37:312-17
10. Shaw FL, Handy RD, Brison P, Sneyd R, Moody AJ. A single exposure to hyperbaric oxygen does not cause oxidative stress in isolated platelets: No effect on superoxide dismutase, catalase, or cellular ATP., *Clin Biochem* 2005;38:722-26
11. Sjodin B, Westing YH, Apple FS. Biochemical Mechanisms for Oxygen Free Radical Formation During Exercise, *Sport Med* 1990;10(4):236-52
12. Wikipedia, *Staphylococcus aureus*, accessed Agustus 2008, <http://www.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus>
13. Cunha BA, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: clinical manifestation and antimicrobial therapy, *Clin Microbiol Infect* 2005;35:33-42.



14. Foster TJ, The Staphylococcus aureus “superbug”, The American Society for Clinical Investigation, J Clin Invest 2004;114(12):1693-6
15. Franklin D, Lowy FD. Staphylococcus aureus infection, The New England J of Medicine, 1998;339(8):520-32<sup>15</sup>
16. Haddadin AS, Fappiano SA, Lipsett PA. Methicillin resistant Staphylococcus aureus (MRSA) in the Intensive Care Unit, J. Postgrad Med 2002;78;385-92.
17. Warsa CU. Kokus Gram Positif, Stapilokokus, Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran, Bina Rupa Aksara, Jakarta 1994:103-11.
18. Federal Bureau of Prisons. Clinical Pracrice Guidline of Management of methicilllin resistant Stapylococcus aureus Infection, August 2005. Available from <http://www.bop.gov/new/PDF/mrsa.pdf>
19. Sampathkumar P. Methicillin resistant Staphylococcus aureus : The Latest Health Sare, Editoral, Mayo Foundation, December 2007;82(12):1463-67.
20. Associaton of Medical Microbiologist. Fact about MRSA, 2002. Available from <http://www.amm.co.uk/pubs/mrsa.htm>
21. Widodo AD, Mertaniasih NM, Kuntaman, Mengenal MRSA, Media Mikrobiologi Klinik 2008;5:9-11
22. Chambers HF. Methicillin Resistant in Staphylococci: Molucular in Biochemical Basis and Clinical Implication, Clin Microbiol 1997;4(10):781-91
23. Bakker DJ. History of Hyperbaric Medicine and Surgery In Bakker DJ, Cramer FS. Hyperbaric Surgery, Perioperative care, Best Publishing Company 2002;1:1-22
24. Koleksi foto fasilitas RUBT Lakesla Surabaya.
25. Welslau W. Physics of Hyperbaric Pressure Editor, Mathiew D. Textbook of Hyperbaric, Springer, Netherland 2006;1:15-23.
26. Sheffields PJ, Smith PS Physiological and Pharmacological Basis of Hyperbaric Oxygen Therapy In Bakker DJ, Cramer FS. Hyperbaric Surgery, Perioperative care, Best Publishing Company 2002;4:63-75
27. Anonimous, Free Radical Introducton. Accessed August 2008 Available from <http://www.exrx.net/Nutrition/Antioxidant/Introduction.htm>.
28. Isik A, Serdar S. Total Antioxidant Response and Oxidative Stress in Patients with Behçet’s Disease, Elazig, Turki. 2006;20(6):415-21

29. Wahl SM. Inflammation. In Cohen IK, Diegelmann RF, Lindblad WJ. *Wound Healing: Biochemical & Clinical Aspects*. Philadelphia. WB Saunders. 1992:p40-62
30. Wikimedia Foundation Inc. Modified on August 2008 available from [http://www.wikipedia.org/wiki/hydroxyl\\_radical](http://www.wikipedia.org/wiki/hydroxyl_radical)
31. Mathiew D, Wattel F, *Physiologic Effect of Hyperbaric Oxygen on Microorganisms and Host Defense Against Infection*, Editor Mathiew D. *Textbook of Hyperbaric*, Springer, Netherland 2006;1:103-20.
32. Sastroasmoro S, Madiyono, Muslichan, Purwanto. *Perkiraan Besar Sampel, Penyunting Sastroasmoro S, Ismail S. Dasar-Dasar Metodologi Penelitian Klinis*, Jakarta, Sagung Seto, 2002:296-313
33. Wikimedia Foundation Inc. Modified on August 2008 available from [http://www.wikipedia.org/wiki/colony\\_forming\\_unit](http://www.wikipedia.org/wiki/colony_forming_unit)
34. Neumeister M. *Hyperbaric Oxygen Therapy*, Southern Illinois, Jul 21, 2005.
35. Courtier A. *Biochemistry of oxygen*, Editor, Mathiew D. *Textbook of Hyperbaric*, Springer, Netherland 2006;1:103-20.
36. A J Mangram et al *Guideline for prevention of surgical site infection*, 1999, *Infection control and hospital epidemiology*. 1999, 247-278
37. Lorraine N. Alexander, *Surveillance and control of surgical site infection in the Era of Managed care*, *Surgical services management*, 2000 15-20
38. Huda S. Reksoprawiro., *Manfaat Pemberian klindamisin peroral sebagai kelanjutan dari antibiotika profilaksis standart (klindamisin dan gentamisin) intravena pada operasi maksilofasial*. Bagian Ilmu Bedah RSUD dr Sutomo Surabaya, 2002.
39. Mangram AJ, Horan TC, Pearson ML, et al. *Guideline for prevention of surgical site infection*, 1999. *Hospital Infection Control Practices Advisory Committee*. *Am J Infect Control*. 1999;27:97
40. *Clinical and Laboratory Standards Institute, Performance Standards for antimicrobial susceptibility Testing*, *Seventeenth Informational Supplement*, January 2007;1:44-51.
41. Hall. AC. *The Effect of Hydrostatic Pressure on Transport Processes Across Biological Membranes*, Edited Drouet, *Proceedings of the IInd Interbational Meeting on High Pressure Biology*, France, August, 1990.
42. Bisaria. V.S. *Microbial Physiology and Biochemistry, Growth and Transport*, New Delhi, India.

## LAMPIRAN 1

**Daftar pasien yang mengalami infeksi luka operasi di lingkungan Bedah  
RSU Dr Soetomo pada bulan September 2008 sampai dengan Oktober 2008**

TGL	NO	Nama	L/P	UMUR	TEMPAT	JENIS BAKTERI
1/9/08	1	AS	w	47th	Bedah A	Staphylococcus coagulase negative
	2	R	L	20th	Bedah A	Actinobacter Spp
	3	SA	w	19th	Bedah G	Enterobacter aeruginosa
	4	K	L	51th	Bedah D	Pseudomonas aeruginosa
	5	S	L	58th	Bedah G	Staphylococcus coagulase negative
2/9/08	6	S	L	25th	Bedah G	Pseudomonas aeruginosa
	7	RA	L	21th	Bedah A	Pseudomonas aeruginosa
	8	R	L	43th	Bedah F	Escherichia coli (ESBL+)
3/9/08	9	SF	W	23th	Bedah G	Pseudomonas spp
	10	S	L	69th	Bedah G	Klebsiela pneumonia
	11	S	L	50th	Bedah G	Klebsiela pneumonia
4/9/08	12	Y	W	51th	Bedah G	Pseudomonas aeruginosa
5/9/08	13	P	W	40th	Bedah H	Klebsiela pneumonia (ESBL +)
	14	LI	L	27th	Bedah F	Pseudomonas aeruginosa
	15	W	W	39th	Bedah F	Pseudomonas aeruginosa
8/9/08	16	AO	w	16th	Bedah E	Escherichia coli (ESBL+)
	17	HM	L	40th	Bedah D	Pseudomonas aeruginosa
	18	SF	W	23th	Bedah G	Pseudomonas spp
9/9/08	19	F	W	30th	Poli bedah	Staphylococcus aureus
	20	SA	L	19th	Bedah B	Escherichia coli
	21	B	L	20th	Bedah B	Pseudomonas aeruginosa
10/9/08	22	INL	W	39th	Poli bedah	MRSA
	23	S	L	27th	Bedah F	Klebsiela pneumonia

TGL	NO	Nama	L/P	UMUR	TEMPAT	JENIS BAKTERI
11/9/08	24	YK	L	40th	Poli bedah	Staphylococcus coagulase negative
	25	W	W	22th	Poli bedah	Staphylococcus coagulase negative
	26	LI	L	18th	Bedah F	Pseudomonas aeruginosa
	27	T	L	8 th	Bedah E	Pseudomonas spp
	28	L	W	26th	Poli bedah	Proteus mirabilis
	29	A	L	20th	Bedah F	Staphylococcus coagulase negative
15/9/08	30	M	W	35th	Bedah G	Pseudomonas spp
	31	SR	L	14th	ROI	Klebsiela pneumonia
	32	NH	W	39th	Bedah G	Pseudomonas spp
	33	S	L	67th	Bedah I	Actinobacter Spp
	34	Z	L	15th	Bedah D	Pseudomonas spp
	35	K	L	35th	Bedah G	Klebsiela pneumonia
17/9/08	36	SM	W	30th	Bedah F	Staphylococcus coagulase negative
18/9/08	37	F	L	25th	Bedah B	Staphylococcus coagulase negative
	38	AR	L	19th	Bedah G	MRSA
	39	TW	L	48th	Bedah G	MRSA
	40	NL	W	37th	Poli bedah	MRSA
19/9/08	41	GZ	L	39th	Bedah G	Pseudomonas aeruginosa
	42	E	L	23th	Bedah G	MRSA
	43	BS	L	45th	ICU A	Pseudomonas aeruginosa
22/9/08	44	RA	W	32th	Poli bedah	MRSA
23/9/08	45	K	L	35th	Bedah G	MRSA
	46	DH	L	25th	Bedah G	Escherichia coli
	47	S	W	47th	Bedah B	Escherichia coli
	48	HM	L	22th	ICU A	Actinobacter Spp
	49	W	W	31th	Bedah E	Actinobacter Spp
24/9/08	50	S	W	57th	Bedah A	Pseudomonas aeruginosa
	51	I	W	32th	Poli bedah	Pseudomonas spp
	52	S	W	55th	Bedah C	Pseudomonas aeruginosa
	53	S	L	45th	ROI	Staphylococcus coagulase negative
25/9/08	54	T	L	48th	Poli bedah	MRSA
26/9/08	55	S	W	56th	Poli bedah	Klebsiela pneumonia

TGL	NO	Nama	L/P	UMUR	TEMPAT	JENIS BAKTERI
30/9/08	56	S	W	52th	Bedah G	MRSA
	57	W	W	39th	Bedah F	Pseudomonas aeruginosa
4/10/08	58	D	W	1th	Bedah G	Enterobacter aeruginosa
6/10/08	59	Y	L	38th	Bedah B	Staphylococcus aureus
	60	T	W	67th	ROI	Klebsiela pneumonia (ESBL +)
	61	MY	L	40th	Poli bedah	Staphylococcus coagulase negative
	62	LM	W	50th	Bedah G	Escherichia coli
	63	HM	L	30th	Bedah F	Psudomonas spp
	64	S	L	60th	Bedah G	MRSA
7/10/08	65	S	W	28th	Bedah E	Staphylococcus aureus
	66	S	L	25th	Bedah I	Escherichia coli
	67	A	W	50th	Bedah G	Psudomonas spp
8/10/08	68	VR	W	13th	Bedah E	Psudomonas spp
	69	A	L	19th	Poli bedah	Escherichia coli
	70	Y	W	27th	Bedah E	Pseudomonas aeruginosa
9/10/08	71	S	L	22th	Bedah G	Actinobacter Spp
10/10/08	72	K	L	19th	Poli bedah	Staphylococcus aureus
	73	A	W	21th	Poli bedah	Staphylococcus aureus
13/10/08	74	P	L	29th	Bedah B	Staphylococcus aureus
	75	IS	W	27th	Poli bedah	Staphylococcus coagulase negative
	76	CA	L	22th	Poli bedah	Staphylococcus aureus
14/10/08	77	S	L	55th	Bedah G	Escherichia coli
	78	R	L	18th	Bedah D	Psudomonas spp
15/10/08	79	K	L	33th	Bedah F	Psudomonas spp
	80	YH	L	37th	Bedah D	Staphylococcus coagulase negative
16/10/08	81	M	W	60th	Bedah G	Klebsiela pneumonia
	82	JK	L	42th	ROI	Psudomonas spp
20/10/08	83	S	W	65th	Bedah G	Psudomonas spp
21/10/08	84	S	L	21th	Poli bedah	Pseudomonas aeruginosa
22/10/08	85	M	L	50th	Bedah B	Staphylococcus aureus
24/10/08	86	M	L	35th	ICU A	Klebsiela pneumonia
27/10/08	87	I	W	12th	ROI	Klebsiela pneumonia
28/10/08	88	DS	L	34th	Bedah B	Escherichia coli
29/10/08	89	MR	W	20th	Bedah G	Staphylococcus coagulase negative
	90	RJ	W	32th	Bedah E	Psudomonas spp
30/10/08	91	R	W	23th	Bedah G	Pseudomonas aeruginosa

**LAMPIRAN 2 Laboratorium**

Tabel 1. Pertumbuhan koloni MRSA (CFU/ml) pada kelompok sebelum perlakuan hiperoksia hiperbarik

Kelompok Strain MRSA (No)	KONTROL (CFU)	VAR1 (CFU/ml)
1.	$1,1 \times 10^5$	$1,5 \times 10^5$
2.	$8,1 \times 10^5$	$1,5 \times 10^5$
3.	$1,15 \times 10^5$	$1,8 \times 10^5$
4.	$1,05 \times 10^5$	$1,8 \times 10^5$
5.	$1,2 \times 10^5$	$1,6 \times 10^5$
6.	$1,05 \times 10^5$	$1,5 \times 10^5$
7..	$1,25 \times 10^5$	$1,5 \times 10^5$
8.	$1,1 \times 10^5$	$1,5 \times 10^5$

Tabel 2. Pertumbuhan koloni MRSA (CFU/ml) pada kelompok setelah perlakuan hiperoksia hiperbarik 2,4 ATA 100% O<sub>2</sub> 1 sesi, 5 sesi, 10 sesi

Kelompok Strain MRSA (No)	VAR2 (90 menit) (CFU/ml)	VAR3 (450 menit) (CFU/ml)	VAR4 (900 menit) (CFU/ml)
1	$1,6 \times 10^4$	$1,0 \times 10^5$	$5,05 \times 10^4$
2	$3,8 \times 10^4$	$7,75 \times 10^4$	$6,5 \times 10^4$
3	$1,3 \times 10^5$	$8,75 \times 10^4$	$8,5 \times 10^4$
4	$1,5 \times 10^5$	$9 \times 10^4$	$8,75 \times 10^4$
5	$1,5 \times 10^5$	$1,0 \times 10^5$	$1,0 \times 10^5$
6	$6,4 \times 10^4$	$9 \times 10^4$	$9,25 \times 10^4$
7	$1,5 \times 10^5$	$1,0 \times 10^5$	$9,75 \times 10^4$
8	$1,4 \times 10^5$	$9,5 \times 10^4$	$9,0 \times 10^4$

**LAMPIRAN 3 Hasil analisa statistik**

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		MRSA0	MRSA90	MRSA450	MRSA900
N		8	8	8	8
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	108875,0	104750,0	92500,00	83500,00
	Std. Deviation	13260,44	56080,94	7905,6943	17075,46
Most Extreme Differences	Absolute	,260	,299	,204	,285
	Positive	,112	,210	,171	,167
	Negative	-,260	-,299	-,204	-,285
Kolmogorov-Smirnov Z		,736	,845	,576	,806
Asymp. Sig. (2-tailed)		,652	,473	,895	,534

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

**T-Test**

**Paired Samples Statistics**

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	MRSA0	108875,0	8	13260,4406	4688,2737
	MRSA90	104750,0	8	56080,9364	19827,6052

**Paired Samples Test**

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	MRSA0 - MRSA90	4125,0000	49142,4678	17374,49	-36959,1	45209,13	,237	7	,819

**T-Test**

**Paired Samples Statistics**

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	MRSA0	108875,0	8	13260,4406	4688,2737
	MRSA450	92500,00	8	7905,6942	2795,0850

**Paired Samples Test**

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	MRSA0 - MRSA450	16375,00	7777,0266	2749,5941	9873,2430	22876,76	5,955	7	,001



**T-Test**

**Paired Samples Statistics**

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair	MRSA0	108875,0	8	13260,4406	4688,2737
1	MRSA900	83500,00	8	17075,4628	6037,0878

**Paired Samples Test**

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	MRSA0 - MRSA900	25375,00	14946,9299	5284,5378	12879,05	37870,95	4,802	7	,002

**T-Test**

**Paired Samples Statistics**

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair	MRSA90	104750,0	8	56080,9364	19827,6052
1	MRSA450	92500,00	8	7905,6942	2795,0850

**Paired Samples Test**

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	MRSA90 - MRSA450	12250,00	54146,6263	19143,72	-33017,7	57517,71	,640	7	,543

**T-Test**

**Paired Samples Statistics**

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair	MRSA90	104750,0	8	56080,9364	19827,6052
1	MRSA900	83500,00	8	17075,4628	6037,0878

**Paired Samples Test**

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	MRSA90 - MRSA900	21250,00	42772,6548	15122,42	-14508,8	57008,83	1,405	7	,203

**T-Test**

**Paired Samples Statistics**

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	MRSA450	92500,00	8	7905,6942	2795,0850
	MRSA900	83500,00	8	17075,4628	6037,0878

**Paired Samples Test**

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	MRSA450 - MRSA900	9000,0000	16938,9661	5988,8289	-5161,33	23161,33	1,503	7	,177

**NPar Tests**

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		Jumlah koloni MRSA
N		8
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	158750,0000
	Std. Deviation	13562,0264
Most Extreme Differences	Absolute	,366
	Positive	,366
	Negative	-,259
Kolmogorov-Smirnov Z		1,034
Asymp. Sig. (2-tailed)		,235

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

**T-Test**

**Group Statistics**

	GRUP	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Jumlah koloni MRSA	Hiperbarik pre	8	108875,0	13260,4406	4688,2737
	Normabarik	8	158750,0	13562,0268	4794,9006

**Independent Samples Test**

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Jumlah koloni MRSA	Equal variances assumed	,249	,625	-7,437	14	,000	-49875,00	6706,0407	-64258,0	-35492,0
	Equal variances not assumed			-7,437	13,993	,000	-49875,00	6706,0407	-64258,7	-35491,3

**T-Test**

**Group Statistics**

GRUP		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Jumlah koloni MRSA	Hiperbarik 90 menit	8	104750,0	56080,9364	19827,6052
	Normabarik	8	158750,0	13562,0268	4794,9006

**Independent Samples Test**

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Jumlah koloni MRSA	Equal variances assumed	26,351	,000	-2,647	14	,019	-54000,00	20399,142	-97751,8	-10248,2
	Equal variances not assumed			-2,647	7,816	,030	-54000,00	20399,142	-101234	-6765,98

**T-Test**

**Group Statistics**

GRUP		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Jumlah koloni MRSA	Hiperbarik 450 menit	8	92500,00	7905,6942	2795,0850
	Normabarik	8	158750,0	13562,0268	4794,9006

**Independent Samples Test**

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Jumlah koloni MRSA	Equal variances assumed	2,702	,123	-11,937	14	,000	-66250,00	5550,0965	-78153,8	-54346,2
	Equal variances not assumed			-11,937	11,265	,000	-66250,00	5550,0965	-78430,7	-54069,3

**T-Test**

**Group Statistics**

GRUP		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Jumlah koloni MRSA	Hiperbarik 900 menit	8	83500,00	17075,4628	6037,0878
	Normabarik	8	158750,0	13562,0268	4794,9006

**Independent Samples Test**

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Jumlah koloni MRSA	Equal variances assumed	,201	,661	-9,761	14	,000	-75250,00	7709,5720	-91785,4	-58714,6
	Equal variances not assumed			-9,761	13,318	,000	-75250,00	7709,5720	-91865,2	-58634,8

**Oneway**

**Descriptives**

Jumlah koloni MRSA

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Normabarik	8	158750,0	13562,0268	4794,9006	147411,8618	170088,1382	150000,0	180000,0
Hiperbarik 0 menit	8	108875,0	13260,4406	4688,2737	97788,9942	119961,0058	81000,00	125000,0
Hiperbarik 90 menit	8	104750,0	56080,9364	19827,61	57865,1639	151634,8361	16000,00	150000,0
Hiperbarik 450 menit	8	92500,00	7905,6942	2795,0850	85890,6743	99109,3257	77500,00	100000,0
Hiperbarik 900 menit	8	83500,00	17075,4628	6037,0878	69224,5559	97775,4441	50500,00	100000,0
Total	40	109675,0	37320,2616	5900,8515	97739,4013	121610,5987	16000,00	180000,0

**ANOVA**

Jumlah koloni MRSA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2,73E+10	4	6826725000	8,845	,000
Within Groups	2,70E+10	35	771782142,9		
Total	5,43E+10	39			

**Post Tests**

**Hoc**

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: Jumlah koloni MRSA  
LSD

(I) GRUP	(J) GRUP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Normabarik	Hiperbarik 0 menit	49875,0000*	13890,48	,001	21675,8190	78074,1810
	Hiperbarik 90 menit	54000,0000*	13890,48	,000	25800,8190	82199,1810
	Hiperbarik 450 menit	66250,0000*	13890,48	,000	38050,8190	94449,1810
	Hiperbarik 900 menit	75250,0000*	13890,48	,000	47050,8190	103449,1810
Hiperbarik 0 menit	Normabarik	-49875,0000*	13890,48	,001	-78074,1810	-21675,8190
	Hiperbarik 90 menit	4125,0000	13890,48	,768	-24074,1810	32324,1810
	Hiperbarik 450 menit	16375,0000	13890,48	,246	-11824,1810	44574,1810
	Hiperbarik 900 menit	25375,0000	13890,48	,076	-2824,1810	53574,1810
Hiperbarik 90 menit	Normabarik	-54000,0000*	13890,48	,000	-82199,1810	-25800,8190
	Hiperbarik 0 menit	-4125,0000	13890,48	,768	-32324,1810	24074,1810
	Hiperbarik 450 menit	12250,0000	13890,48	,384	-15949,1810	40449,1810
	Hiperbarik 900 menit	21250,0000	13890,48	,135	-6949,1810	49449,1810
Hiperbarik 450 menit	Normabarik	-66250,0000*	13890,48	,000	-94449,1810	-38050,8190
	Hiperbarik 0 menit	-16375,0000	13890,48	,246	-44574,1810	11824,1810
	Hiperbarik 90 menit	-12250,0000	13890,48	,384	-40449,1810	15949,1810
	Hiperbarik 900 menit	9000,0000	13890,48	,521	-19199,1810	37199,1810
Hiperbarik 900 menit	Normabarik	-75250,0000*	13890,48	,000	-103449,1810	-47050,8190
	Hiperbarik 0 menit	-25375,0000	13890,48	,076	-53574,1810	2824,1810
	Hiperbarik 90 menit	-21250,0000	13890,48	,135	-49449,1810	6949,1810
	Hiperbarik 450 menit	-9000,0000	13890,48	,521	-37199,1810	19199,1810

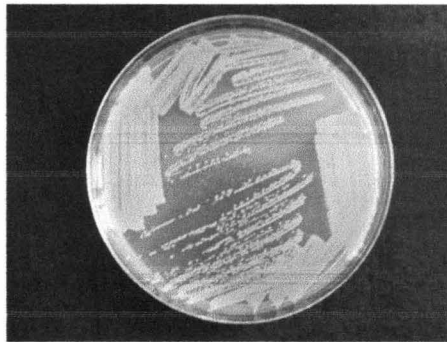
\*. The mean difference is significant at the .05 level.

#### LAMPIRAN 4 Foto penelitian



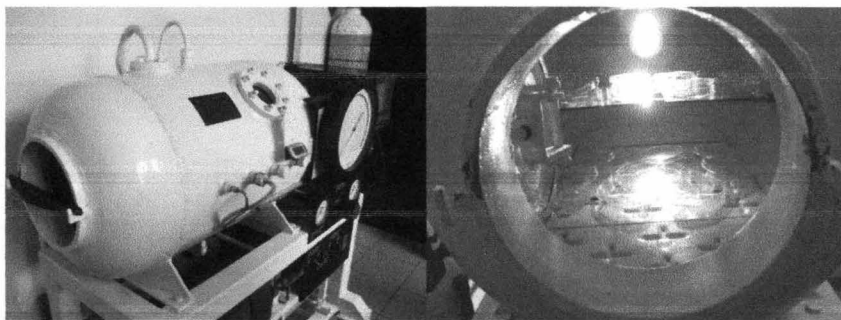
Gambar 1. Infeksi luka operasi

Kulit di daerah bekas irisan operasi plating mandibula tampak meradang dan *pus*. ( → )



Gambar 2. Isolat murni bakteri MRSA di *Tripicase soy plate agar*

Koloni bakteri MRSA pada media agar CHROM<sup>TM</sup>MRSA, berwarna merah pink, berbentuk bulat-bulat, diameter 1-2 mm.

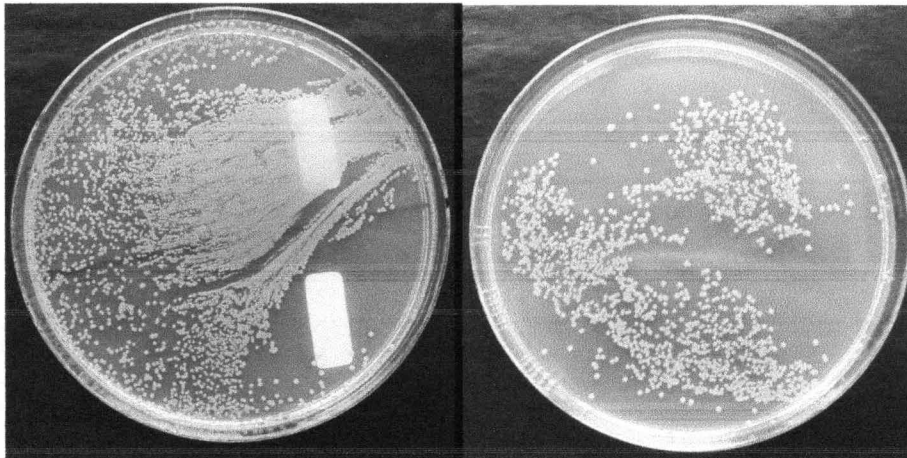


3A

3B

Gambar 3.A. *Hyperbaric chamber* untuk penelitian :*Animal Monoplace Chamber*.

3.B. Perlakuan hiperoksia hiperbarik terhadap MRSA secara *in vitro*

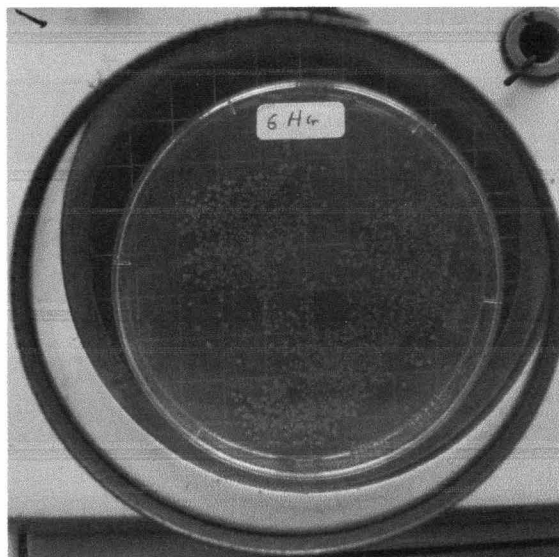


4A

4B

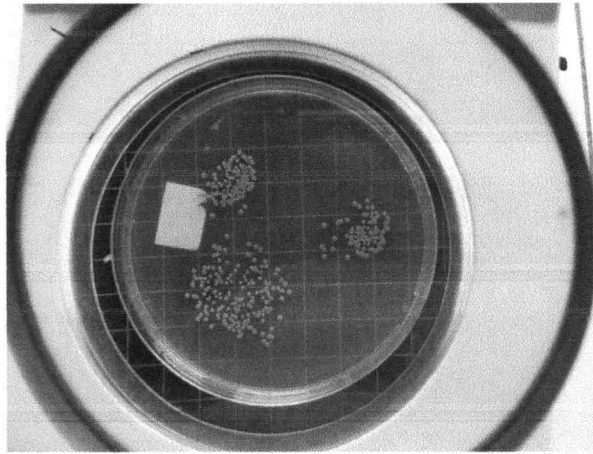
Gambar 4.A.Pertumbuhan koloni bakteri MRSA sebelum perlakuan

B.Pertumbuhan koloni bakteri MRSA setelah perlakuan, tampak padat, konfluen, besar koloni dengan diameter  $\geq 1$  mm.

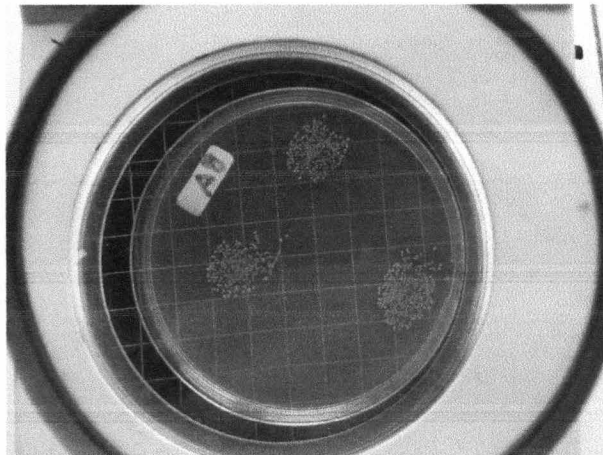


Gambar 5 . Pertumbuhan MRSA setelah perlakuan hiperoksia hiperbarik 90 menit

. Pertumbuhan koloni bakteri MRSA lebih kecil (diameter  $<0,5$  mm) dan tidak konfluen, dapat dihitung menggunakan *colony counter*



Gambar 6. Pertumbuhan MRSA setelah perlakuan hiperoksia hiperbarik 450 menit . Pertumbuhan koloni bakteri MRSA tidak padat/konfluen dan mudah dihitung



Gambar 7. Pertumbuhan MRSA setelah perlakuan hiperoksia hiperbarik 900 menit . Pertumbuhan koloni bakteri MRSA sangat kecil (diameter < 0,3 mm)