

RINGKASAN

Penelitian ini bertujuan mengetahui seberapa jauh plasmid pengkode kebal ampisilin yang dipisahkan dari bakteri flora limbah cair rumah sakit, bisa dipergunakan sebagai petanda tingkat penggunaan antimikroba di lingkungan rumah sakit. Juga ingin mengetahui apakah bakteri flora limbah (*Escherichia coli*) di rumah sakit bisa dipergunakan sebagai petanda penyebaran kebal antimikroba di rumah sakit akibat penggunaan antimikroba pada penderita, dalam kaitan pemberantasan infeksi nosokomial.

Antimikroba yang diteliti adalah golongan beta laktam khususnya ampisilin, di ruang perawatan RSUD Dr. Soetomo Surabaya. Parameter yang diteliti adalah angka kejadian plasmid pengkode kebal ampisilin dan karakter plasmid. Karakter plasmid diartikan sebagai dua makna yaitu: 1). ukuran plasmid dan 2). tipe plasmid. Tipe plasmid diartikan sebagai keberadaan bersama gen kebal nir-ampisilin terhadap gen kebal ampisilin pada isolat plasmid, yang sering disebut kebal ganda (*'multi resistance'*).

Pendataan penggunaan antimikroba di kedua lokasi penelitian dilakukan setiap hari sampai selama 3,5 bulan. Parameter tingkat penggunaan antimikroba dinyatakan dengan prosen penderita yang dirawat dengan mendapat antimikroba yang diteliti, dan dosis (dalam gram) rata-rata antimikroba yang diberikan per penderita.

Sebagai sampel penelitian adalah *Escherichia coli* flora limbah rumah sakit di RP IKJ (Ruang Perawatan Ilmu Kedokteran Jiwa) dan RP BU (Ruang Perawatan Bedah Urologi) yang selanjutnya dicari *Escherichia coli* yang telah kebal terhadap ampisilin dengan menggunakan uji kepekaan cara pengenceran agar. Plasmid dipisahkan dari *Escherichia coli* yang kebal menggunakan cara alkali (*'Lysis by alkali'*) dan dilanjutkan

dengan uji transformasi pada bakteri acuan (*Escherichia coli* galur DH5 α). Ukuran plasmid ditera menggunakan hasil foto pita plasmid pada elektroforesis agar yang telah di cat menggunakan etidium bromid, berdasar kesetaraan kedudukan pita plasmid terhadap pita petanda ('Marker') *lambda HindIII*.

Pada setiap sel transforman, dilakukan penentuan antibiogram yaitu uji kepekaan terhadap 10 antimikroba patokan dengan menggunakan cara difusi cakram. Hal ini untuk mencari adanya ekspresi gen kebal antimikroba selain ampisilin. Kekebalan sel transforman terhadap berbagai antimikroba (ampisilin dan nir-ampisilin), dipergunakan menggolongkan plasmid menjadi beberapa tipe.

Penggunaan antimikroba golongan cincin beta laktam khususnya ampisilin di RP IKJ menunjukkan tingkat yang lebih rendah secara bermakna dibanding penggunaan antimikroba yang sama di RP BU, baik dilihat persentase penderita yang mendapat antimikroba maupun dosis rata-rata antimikroba yang dikonsumsi tiap penderita ($p=0,001$ untuk ampisilin, sulbenisilin, sefalosporin maupun gabungan semua obat golongan beta laktam). Di RP IKJ, persentase penderita yang mendapat ampisilin adalah 5,33%, gabungan semua obat golongan beta laktam adalah 8,28%. Tidak ada penderita yang mendapatkan sulbenisilin maupun sefalosporin. Persentase penderita yang mendapat ampisilin, sulbenisilin, sefalosporin dan gabungan semua antimikroba golongan cincin beta laktam di RP BU berturut-turut adalah 23,83%, 32,64%, 23,83% dan 73,58%. Dosis antimikroba rata-rata yang diberikan pada tiap penderita di RP IKJ untuk ampisilin adalah 0,3728 g, gabungan semua obat golongan beta laktam adalah 0,5024 g dan tidak ada penderita yang mendapat sulbenisilin maupun sefalosporin. Sedangkan di RP BU

berturut-turut untuk ampisilin, sulbenisilin, sefalosporin dan gabungan semua obat golongan beta laktam adalah 0,9793 g, 2,3927 g, 0,9684 g dan 4,444 g.

Sebanyak 210 *Escherichia coli* telah dipisahkan masing-masing dari limbah cair rumah sakit di kedua lokasi penelitian. Pada uji kepekaan cara pengenceran agar, didapatkan *Escherichia coli* kebal ampisilin sebanyak 171 (81,4%) di RP IKJ dan 174 (82,90%) di RP BU. Perbedaan ini secara statistik tidak bermakna pada batas kemaknaan 5%, dengan nilai $p = 0,7989$. Tidak adanya perbedaan ini menurut peneliti karena kekebalan yang sudah sangat tinggi atau tingginya paparan bahan nir-antimikroba di limbah yang bisa mengakibatkan perubahan dinding sel bakteri dan diikuti peningkatan kekebalan terhadap antimikroba.

Pada semua *Escherichia coli* yang kebal ampisilin, diperiksa adanya plasmid pengkode kebal ampisilin dengan uji transformasi. Sebanyak 28 (16,37%) galur *Escherichia coli* dari RP IKJ menunjukkan adanya plasmid pengkode kebal ampisilin, sedangkan di RP BU mencapai 58 (33,33%) galur. Perbedaan ini secara statistik bermakna pada batas kemaknaan 5% dengan nilai $p=0,001$. Hal ini berarti **hipotesis diterima** atau bisa dikatakan angka kejadian plasmid pengkode kebal ampisilin di RP IKJ lebih rendah dibanding RP BU. Kesimpulan dari fakta di atas, bahwa makin tinggi penggunaan antimikroba, akan diikuti dengan makin tingginya angka kejadian plasmid pengkode kebal antimikroba.

Plasmid pengkode kebal ampisilin dari kedua lokasi penelitian dipisahkan dan dianalisis untuk mengetahui ukuran plasmid, dan juga untuk mengetahui tipe plasmid yang menunjukkan adanya ekspresi gen pengkode kekebalan selain kebal ampisilin yang berada

bersama dengan plasmid pengkode kebal ampisilin yang sering dikenal dengan kebal ganda (*'Multi resistance'*).

Ukuran plasmid dinyatakan dalam tiga kelompok, kelompok 1 dengan ukuran sama atau lebih kecil dari 4.361 bp (*'base pair'* = pasangan basa), kelompok 2 lebih besar 4.361 bp sampai dengan 9.416 bp, dan kelompok 3 lebih besar 9.416 bp sampai dengan 23.130 bp. Pada semua (28) isolat plasmid dari RP IKJ, mempunyai ukuran dalam kelompok 1. Sedangkan isolat plasmid dari RP BU, 38 (65,5%) plasmid dengan ukuran kelompok 1, 10 (17,2%) plasmid dengan ukuran kelompok 2 dan 10 (17,2%) dengan ukuran kelompok 3. Ukuran plasmid pada kedua lokasi penelitian berbeda bermakna pada batas kemaknaan 5% dengan nilai $p=0,001$. Hal ini berarti **hipotesis diterima** atau bisa disimpulkan bahwa ukuran plasmid yang berasal dari RP IKJ, lebih kecil dibanding isolat plasmid dari RP BU.

Pada semua isolat plasmid, baik dari RP IKJ maupun RP BU, ditemukan sebanyak 3 tipe plasmid yang masing-masing mengekspresikan kebal antimikroba berikut ini:

- a. Tipe 1 : Ampisilin, Eritromisin, Kanamisin, Trimetoprim
- b. Tipe 2 : Ampisilin, Kloramfenikol, Trimetoprim
- c. Tipe 3 : Ampisilin

Angka kejadian tipe plasmid tersebut pada RP IKJ adalah: plasmid tipe 1 tidak ada, plasmid tipe 2 sebanyak 3 (10,71%), dan plasmid tipe 3 sebanyak 25 (89,29%). Di RP BU angka kejadian plasmid tipe 1 sebanyak 4 (6,9%), plasmid tipe 2 sebanyak 6 (10,34%) dan plasmid tipe 3 sebanyak 48 (82,76%). Perbedaan ini **tidak bermakna** pada batas kemaknaan 5% dengan nilai $p=0,3627$. Hal ini berarti **hipotesis ditolak**. Pada analisis jumlah gen kebal antimikroba (ampisilin dan nir-ampisilin) pada setiap tipe plasmid,

ternyata juga tidak ada beda antara isolat asal RP IKJ dibanding RP BU ($p=0,3822$). Antara ukuran plasmid dengan jumlah gen kebal pada tiap tipe plasmid juga tidak menunjukkan korelasi yang bermakna. Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan ukuran plasmid tersebut di atas **kecil kemungkinan** akibat penggabungan dengan plasmid pengkode kebal nir-ampisilin, dan terjadinya kebal ganda tidak ditentukan oleh tinggi atau rendahnya tingkat penggunaan antimikroba.

Dari data diatas dapat diartikan bahwa:

- 1). Angka kejadian dan karakter plasmid dapat dipergunakan sebagai petanda untuk mengetahui tingkat penggunaan antimikroba pada lingkungan. Penggunaan antimikroba (cincin beta laktam) yang makin sering dan dosis makin tinggi, sangat berkaitan dengan makin tingginya angka kejadian plasmid pengkode kekebalan, dan disertai pula makin besarnya ukuran plasmid yang bersangkutan.
- 2). Flora bakteri dapat dipergunakan sebagai petanda (indikator) tingkat penggunaan antimikroba di lingkungan khususnya rumah sakit. Hal ini sangat berkaitan dengan pola kekebalan bakteri di rumah sakit dalam kaitan pemberantasan infeksi nosokomial. Dengan bisa dimanfaatkannya bakteri limbah, maka untuk penentuan pola kepekaan bakteri di rumah sakit tidak harus menunggu isolat yang berasal dari penderita.
- 3). Kejadian kebal ganda (*'multi resisten'*) tidak berkaitan dengan tinggi atau rendahnya penggunaan antimikroba, tapi oleh sebab lain yang perlu dicari penyebabnya.