

DAFTAR ISI

	Halaman
JUDUL DISERTASI	i
LEMBAR PERSETUJUAN	iii
PANITIAN PENGUJI DISERTASI	iv
UCAPAN TERIMA KASIH	v
RINGKASAN	viii
<i>ABSTRACT</i>	xiii
DAFTAR ISI	xv
DAFTAR TABEL	xviii
DAFTAR GAMBAR	xx
DAFTAR LAMPIRAN	xxii
BATASAN DAN KETERANGAN SINGKATAN	xxiii
BAB 1. PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	7
1.3. Tujuan Penelitian	9
1.4. Manfaat Penelitian	10
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Kekebalan Bakteri Terhadap Antimikroba	12
2.2. Plasmid Pengkode Kekebalan dan Transposon	16
2.2.1 Plasmid pengkode kekebalan	16
2.2.2 Transposon	24
2.3. Epidemiologi Bakteri Kebal Antimikroba	29
2.4. Bakteri Koliform Flora Rumah Sakit	31
2.5. Antimikroba Golongan Cincin Beta Laktam	32
2.6. Perkembangan Penelitian Plasmid Pengkode Kebal Antimikroba	35
BAB 3. KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	
3.1 Kerangka Konseptual Peran Plasmid pada Terjadinya Kebal Antimikroba	37
3.2 Hipotesis Penelitian	41
BAB 4. METODE PENELITIAN	
4.1. Pendekatan Penelitian	42
4.2. Tempat Penelitian dan Pengambilan Sampel	42
4.2.1 Tempat penelitian	42
4.2.2 Pengambilan sampel penelitian	43
4.3. Tingkat Penggunaan Antimikroba di Lokasi Penelitian	43
4.4. Populasi, Sampel Penelitian dan Besar Sampel	44
4.4.1. Populasi sampel	44
4.4.2. Sampel penelitian	44

4.4.2.1. Unit analisis	44
4.4.2.2. Cara pengambilan sampel	45
4.4.2.2. Besar sampel penelitian	45
4.5. Tempat Pemeriksaan	47
4.6. Pemeriksaan Mikrobiologis	48
4.7. Uji Kepekaan Cara Pengenceran Agar	49
4.8. Pemeriksaan Kekebalan Dikode Plasmid	50
4.8.1. Isolasi plasmid dari <i>Escherichia coli</i> sampel	50
4.8.2. Transformasi plasmid pada <i>Escherichia coli</i> kompeten dan uji seleksi	50
4.8.2.1 Penyiapan <i>Escherichia coli</i> kompeten ('Competent <i>Escherichia coli</i> ') sebagai penangkap plasmid ('Recipient')	51
4.8.2.2 Transformasi plasmid pada <i>Escherichia coli</i> kompeten dan uji seleksi	52
4.8.3 Visualisasi dan peneraan ukuran plasmid pengkode kebal ampisilin ...	53
4.8.4 Penentuan ekspresi gen pengkode kebal antimikroba selain ampisilin sebagai penyerta gen pengkode kebal ampisilin pada sel transforman	54
4.9. Variabel, Parameter dan Analisis Statistik	55
4.9.1. Variabel bebas	55
4.9.2. Variabel tergantung	55
4.9.2.1 Pola kekebalan	55
4.9.2.2 Pola kekebalan yang dikode plasmid	56
4.9.2.3 Ukuran plasmid	56
4.9.2.4 Tipe plasmid berdasar antibiogram pada sel transforman	56
 BAB 5. ANALISIS DAN HASIL PENELITIAN	
5.1. Data Penelitian	
5.1.1 Tingkat penggunaan antimikroba di RP Ilmu Kedokteran Jiwa dan RP Bedah Urologi RSUD Dr. Soetomo Surabaya	58
5.1.2 Isolat <i>Escherichia coli</i> kebal ampisilin yang dikode plasmid	
5.1.2.1 Isolat <i>Escherichia coli</i> kebal ampisilin	62
5.1.2.2 Isolat <i>Escherichia coli</i> kebal ampisilin yang dikode plasmid	63
5.1.3 Ukuran plasmid pengkode kebal ampisilin	65
5.1.4 Tipe plasmid berdasar antibiogram sel transforman	72
 5.2. Analisis dan Hasil Penelitian	
5.2.1 Tingkat Penggunaan Antimikroba di RP Ilmu Kedokteran Jiwa dan RP Bedah Urologi RSUD Dr. Soetomo Surabaya	79
5.2.2 Isolat <i>Escherichia coli</i> kebal ampisilin yang dikode plasmid	80
5.2.2.1 Isolat <i>Escherichia coli</i> kebal ampisilin	80
5.2.2.2 Isolat <i>Escherichia coli</i> kebal ampisilin yang dikode plasmid	80
5.2.3 Ukuran plasmid pengkode kebal ampisilin	81
5.2.4 Tipe plasmid berdasar antibiogram sel transforman	82

BAB 6. PEMBAHASAN

6.1. Tingkat Penggunaan Antimikroba di RP Ilmu Kedokteran Jiwa dan RP Bedah urologi RSUD Dr. Soetomo Surabaya	83
6.2. Isolat <i>Escherichia coli</i> Kebal Ampisilin	86
6.3. Isolat Plasmid Pengkode Kebal Ampisilin	89
6.4. Ukuran Plasmid	96
6.5 Tipe Plasmid Berdasar Gen Kebal Antimikroba (selain ampisilin) Sebagai Gen Penyerta, Berdasar Antibiogram pada Sel Transforman	101
6.6 Rangkuman Pembahasan	106

BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN	110
--	-----

DAFTAR PUSTAKA	112
-----------------------------	-----

DAFTAR TABEL

	Halaman	
Tabel 2.1	Beberapa contoh enzim beta laktamase dan penggolongannya	13
Tabel 2.2	' <i>Insertion Sequence</i> ' (IS) yang ditemukan pada <i>Escherichia coli</i> K-12	26
Tabel 4.1.	Angka pengali ('Multiplier') dari pada σ^2/δ^2 untuk sampel berpasangan, dan $2\sigma^2/\delta^2$ pada sampel bebas, yang dibutuhkan untuk menentukan besar masing-masing sampel	47
Tabel 4.2	Mekanisme kerja dan peran gen kebal pada beberapa antimikroba	54
Tabel 4.3	Jenis antimikroba uji dan pedoman penentuan kekebalan pada uji kepekaan cara difusi cakram terhadap sel transforman	55
Tabel 5.1.	Jenis dan jumlah penyakit pada penderita rawat inap RP Ilmu Kedokteran Jiwa dan RP Bedah Urologi RSUD Dr. Soetomo Surabaya	59
Tabel 5.2.	Distribusi penggunaan antimikroba di RP Ilmu Kedokteran Jiwa dan RP Bedah Urologi RSUD Dr. Soetomo Surabaya	61
Tabel 5.3.	Dosis ampisilin dan antimikroba golongan cincin beta laktam yang lain yang diberikan pada penderita di RP Ilmu Kedokteran Jiwa dan RP Bedah Urologi RSUD Dr. Soetomo Surabaya	61
Tabel 5.4.	Hasil pemeriksaan kepekaan pada 210 isolat <i>Escherichia coli</i> terhadap ampisilin pada isolat dari RP Ilmu Kedokteran Jiwa dan RP Bedah Urologi RSUD Dr. Soetomo Surabaya	62
Tabel 5.5.	Hasil uji transformasi untuk mencari adanya plasmid pengkode kebal ampisilin pada 171 isolat <i>Escherichia coli</i> kebal ampisilin yang dipisahkan dari RP Ilmu Kedokteran Jiwa dan 174 isolat dari RP Bedah Urologi RSUD Dr. Soetomo Surabaya	63
Tabel 5.6.	Potongan petanda (Marker) faga <i>Lambda</i> yang dipotong dengan enzim <i>HindIII</i>	65

	Halaman	
Tabel 5.7	Distribusi plasmid berdasar kelompok ukuran panjang, pada <i>Escherichia coli</i> isolat dari RP IKJ dan RP BU RSUD Dr. Soetomo Surabaya	71
Tabel 5.8	Hasil uji kepekaan cara difusi cakram pada <i>Escherichia coli</i> <i>DH5alfa</i> terhadap berbagai antimikroba.	73
Tabel 5.9	Hasil uji kepekaan sel transforman terhadap beberapa jenis antimikroba yang menunjukkan tipe plasmid pada sel transforman.	75
Tabel 5.10	Perubahan kekebalan sel transforman TBE77 yang berasal dari <i>Escherichia coli</i> DH5alfa setelah mendapatkan plasmid dari sampel <i>Escherichia coli</i> BE77 yang berasal dari RP BU RSUD Dr. Soetomo Surabaya	75
Tabel 5.11	Jumlah gen yang berada bersama pada tiap tipe plasmid pada 86 plasmid pengkode kebal ampisilin di RSUD Dr. Soetomo Surabaya	78
Tabel 5.12	Hasil perhitungan statistik distribusi ukuran plasmid berdasar kelompok dengan uji khi kuadrat, pada isolat dari RP IKJ dan RP BU RSUD Dr. Soetomo Surabaya	81
Tabel 6.1.	Plasmid pengkode kebal antimikroba isolat dari <i>Escherichia coli</i> yang berasal dari tinja hewan (lembu, ayam, babi) yang tergolong dalam satu grup inkompatibilitas.	99
Tabel 6.2	Angka kejadian ekspresi gen pengkode kebal antimikroba selain ampisilin yang tergabung dalam plasmid pengkode kebal ampisilin	102
Tabel 6.3	Tingkat penggunaan antimikroba selain golongan cincin beta laktam di RP IKJ dan RP BU RSUD Dr. Soetomo Surabaya	103

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1	Gambar skematis plasmid di dalam sel bakteri dengan sebuah contoh gambar skematis <i>pBR322</i> yang berisi dua gen kebal antimikroba yakni gen kebal ampisilin dan gen kebal tetrasiklin. 17
Gambar 2.2	Alur perpindahan plasmid cara konjugasi pada bakteri negatif Gram(Guiney, 1984) 20
Gambar 2.3.	Model relaksasi DNA plasmid pada proses perpindahan plasmid secara konjugasi (Guiney, 1984) 21
Gambar 2.4	Struktur transposon kompleks (A) dan transposon komposit (B). 27
Gambar 2.5.	Transposisi transposon secara replikatif (a) dan cara konservatif atau insersi sederhana (b) (Russel and Chopra,1990). 29
Gambar 3.1	Kerangka konseptual terjadinya kekebalan pada bakteri. 37
Gambar 3.2	Bagan alir pencemaran ampisilin atau antimikroba golongan beta laktam yang lain, di lingkungan rumah sakit. 40
Gambar 4.1	Struktur gen <i>Lac</i> pada <i>Escherichia coli</i> 51
Gambar 4.2.	Bagan alir metode penelitian 57
Gambar 5.1	Foto hasil uji transformasi positif dengan kontrol <i>pBR322</i> 64
Gambar 5.2.	Hasil foto polaroid petanda <i>lambda HindIII</i> dan <i>pBR322</i> yang mempunyai berat 4,363 kb. 66
Gambar 5.3.	Hasil foto elektroforese agar terhadap isolat plasmid pengkode kebal ampisilin dari sampel TBE77 (sel transforman <i>Escherichia coli</i> DH5alfa dengan isolat plasmid dari sampel <i>Escherichia coli</i> BE77 dari RP BU). 67

- Gambar 5.4 Foto polaroid isolat plasmid pada elektroforese agar menggunakan pengecatan etidium bromid, dari sel transforman *Escherichia coli DH5alfa* dengan sampel nomor 14 dari RP BU dan ditemukan plasmid ukuran 7 kb. 68
- Gambar 5.5 Foto polaroid isolat plasmid pada elektroforese agar dengan pengecatan etidium bromid, dari sel transforman *Escherichia coli DH5alfa* dengan sampel nomor 6, 22 dan 55 dari RP BU dan ditemukan plasmid ukuran sekitar 15 kb. 69
- Gambar 5.6 Foto polaroid isolat plasmid pada elektroforese agar dengan pengecatan etidium bromid, dari sel transforman *Escherichia coli DH5alfa* dengan sampel nomor 1, 6, 15, 17, 20, 26, 29 dan 37 dari RP IKJ dan ditemukan plasmid ukuran sekitar 3,5 kb. 70
- Gambar 5.7. Hasil foto polaroid isolat plasmid dari *pBR322-Escherichia coli DH5alfa*, sel transforman (TBE77) dan *Escherichia coli* sampel (BE77), serta hasil uji kepekaan terhadap 10 jenis antimikroba 77
- Gambar 6.1. Kebal antimikroba pada *Shigella* spp, tahun 1974-1982. 92
- Gambar 6.2. Angka kejadian *Klebsiella pneumoniae* kebal sefalosporin penghasil *ESBL* dan bukan penghasil *ESBL* di ruang Perawatan Intensip Rumah Sakit, setelah pembatasan penggunaan seftasidim (beta laktam oksimino) (Pena et al, 1998) 94

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1	122
Lampiran 2	123
Lampiran 3	132
Lampiran 4	138
Lampiran 5	147
Lampiran 6	156

BATASAN ISTILAH DAN KETERANGAN SINGKATAN

A.M.	= Antimikroba
Antibiogram	= Pola kekebalan bakteri terhadap berbagai A.M. acuan
Amp	= Ampisilin
Nir-amp	= Nir (bukan) ampisilin
BBB	= Batu Buli-buli
bp	= <i>base pair</i> = pasangan basa sebagai satuan panjang DNA
BPH	= <i>Benign Prostat Hypertrophy</i>
CAP	= <i>Catabolic Activator Protein</i>
Da	= Dalton
DTK	= Daya Tolak Kolonisasi ('Colonization Resistance')
EDTA	= <i>Ethylen Diamine Tetra Acetic Acid</i>
EMB	= <i>Eosin Methylen Blue</i>
ESBL	= <i>Extended Spectrum Beta lactamase</i>
FK	= Fakultas Kedokteran
IR	= <i>Inverted Repeat</i>
IS	= <i>Insertion Sequence</i>
kb	= 'kilo base pair' = kilo pasangan basa = 1000 bp
KDa	= Kilo Dalton
Kebal A.M.	= Bakteri yang mampu tumbuh pada paparan antimikroba pada kadar KHM atau lebih

KHM	= Kadar Hambat Minimal = Kadar antimikroba terkecil dimana bakteri sudah tidak mampu tumbuh.
l	= liter
Lab	= Laboratorium
LB	= <i>Media Luria Bertani</i>
LF	= ' <i>Loss of Plasmid Free Cell</i> ' = Jumlah dalam prosen bakteri yang menjadi terbebas dari kandungan plasmid
Lingk-1	= lingkungan-1 = Ruang rawat inap Bedah Urologi RSUD Dr. Soetomo Surabaya
Lingk-2	= lingkungan-2 = Ruang rawat inap Ilmu Kedokteran Jiwa RSUD Dr. Soetomo Surabaya
MH	= Mueller Hinton agar
ml	= mililiter
μ l	= mikroliter
μ g	= mikrogram
mm	= milimeter
NCCLS	= <i>Nasional Committee for Clinical Laboratory Standard</i>
OmpF	= <i>Outer membrane protein F</i>
PBP	= <i>Penicillin Binding Protein</i>
PRS	= Psikosa Reaktif Singkat
RNA-pol	= <i>RNA polimerase</i>
SOO	= Sindroma Otak Organik

- Tn = Transposon
- TSI = *Triple Sugar Iron*
- RP BU = Ruang Perawatan Bedah Urologi, RSUD Dr. Soetomo Surabaya
- RP IKJ = Ruang Perawatan Ilmu Kedokteran Jiwa, RSUD Dr. Soetomo
Surabaya