

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Infeksi Nosokomial (IN) adalah infeksi yang terjadi oleh penularan bakteri di lingkungan rumah sakit (Janas, 1984). Penyebab IN kebanyakan adalah bakteri flora normal (Goldman *et al.*, 1981; Ringerz *et al.*, 1990; Subagyo dan Karim, 1985; Sjahrodji, 1990; Tiruneh, 1990), dan kebanyakan bersifat kebal ganda (Goldman *et al.*, 1981; Ringerz *et al.*, 1990; Sjahrodji, 1990; Tiruneh, 1990). Golongan bakteri flora normal, yang selalu ada di alam, lingkungan dan tubuh manusia, adalah golongan koliform (Gallis, 1980). Diantara golongan ini yang sering menyebabkan infeksi adalah *Enterobacter spp* dan *Escherichia coli* (Goldman *et al.*, 1981; Ringerz *et al.*, 1990; Senerva *et al.*, 1991; Sjahrodji, 1990; Tiruneh, 1990).

Rumah sakit yang merupakan lingkungan terbatas adalah tempat dengan jumlah penggunaan antimikroba relatif besar. Pada penelitian yang dilakukan di 10 Rumah Sakit Pendidikan di Indonesia pada tahun 1987 didapatkan hasil rata-rata 68,3% penderita yang dirawat mendapat antimikroba (Surbakti, 1988). Sedang di luar rumah sakit relatif lebih kecil. Hasil penelitian Munaf (1992) pada 6 Puskesmas di Kabupaten Palembang dan pada dua Kabupaten di Sumatera Selatan, menunjukkan dari 3781 penderita yang berobat ke Puskesmas yang diambil secara acak, 49% mendapat antimikroba.

Kaitan antara banyaknya penggunaan antimikroba dengan kejadian kebal antimikroba, terutama yang diperankan plasmid, saat ini sudah banyak dilaporkan, namun terbatas pada bakteri penyebab penyakit pada penderita. Untuk bakteri isolat dari

lingkungan, terutama pada limbah cair rumah sakit, saat ini belum mendapat perhatian. Sedangkan bila hal ini dapat dimanfaatkan, akan lebih menguntungkan karena tidak harus mengganggu dan menunggu penderita untuk dipakai sebagai bahan sampel.

Pembahasan masalah plasmid pengkode kebal antimikroba dalam kaitan dengan tingginya penggunaan antimikroba, sampai saat ini selalu tertuju kepada seberapa jauh pengaruh plasmid terhadap keberhasilan pengobatan infeksi pada seorang penderita. Kalaupun dikaitkan dengan tingginya penggunaan antimikroba, hanya sebagai tujuan tambahan. Tampaknya karakter plasmid sampai saat ini belum dibahas secara optimal dalam kaitannya dengan tingkat penggunaan suatu antimikroba. Pada kesempatan ini peneliti ingin menggunakan plasmid sebagai bahasan utama dalam kaitannya dengan tingkat penggunaan antimikroba, dengan manfaat tambahan mengatasi masalah kekebalan bakteri terhadap antimikroba pada terapi seorang penderita penyakit infeksi.

Telah diketahui banyak kekebalan dikode plasmid seperti kekebalan terhadap ampisilin, tetrasiklin, kanamisin dan kloramfenikol (Senerva *et al.*, 1991; Campbell and Mee, 1987; Chaslus-Duncla *et al.*, 1991; Kitzis *et al.*, 1988; Christie and Dunny, 1984; Jallat *et al.*, 1994). Dilaporkan pula bahwa antimikroba kadar sub-lethal (dibawah kadar bunuh) akan meningkatkan ekspresi plasmid kekebalan terhadap antimikroba yang bersangkutan (Christie and Dunny, 1984).

Plasmid kekebalan biasanya berisi gen yang mengkode protein, yang fungsinya mengganggu cara kerja antimikroba atau merusak susunan kimiawi antimikroba sehingga antimikroba menjadi tidak aktif. Pada peningkatan ekspresi plasmid kekebalan sebagai akibat paparan antimikroba kadar sub-lethal, ternyata tidak hanya melakukan transkripsi dan translasi untuk membentuk suatu senyawa, namun plasmid tersebut juga melakukan

replikasi sehingga dalam satu sel bakteri berisi lebih banyak plasmid sejenis (Norstrom *et al.*, 1984; Christie and Dunny, 1984; Nordstrom and Austin, 1989). Kadar plasmid dalam sel yang makin tinggi, diketahui disamping makin sedikit sel bakteri yang terbebas dari kandungan plasmid, plasmid tersebut juga makin mudah pindah ke bakteri lain (Christie and Dunny, 1984; Guiney, 1984; Kitzis *et al.*, 1988; Reynaud *et al.*, 1991; Rice *et al.*, 1992). Perpindahan tersebut dikatakan makin mudah antara bakteri dalam satu spesies (Lambert *et al.*, 1988).

Berdasar kenyataan di atas peneliti berpendapat, angka kejadian plasmid pengkode kebal antimikroba dapat dipergunakan sebagai petunjuk penggunaan antimikroba di lingkungan, khususnya di rumah sakit, yang sampai saat belum ditelaah secara mendalam..

Peningkatan ekspresi plasmid yang disertai dengan peningkatan kadar plasmid dalam sel bakteri, ternyata juga menunjukkan perubahan karakter yang lain. Hal ini meliputi dua hal yakni: 1). karakter kebersamaan dengan plasmid lain dalam satu sel; 2). kecenderungan diantara plasmid yang sama melakukan penggabungan satu dengan yang lain yang dikenal dengan dimerisasi.

Bonnasie *et al.* (1990) dalam penelitiannya mendapatkan kenyataan bahwa peningkatan replikasi suatu plasmid, akan diikuti dengan derajat inkompatibilitas yang lebih rendah, dalam arti plasmid yang berbeda makin mudah berada bersama dalam satu sel. Hal ini kiranya akan meningkatkan kemungkinan penggabungan antara beberapa plasmid yang berbeda. Namun ada kenyataan lain, bahwa meningkatnya replikasi salah satu plasmid dalam sel bakteri akan menyebabkan plasmid lain keluar sel (DeGuglielmo *et al.*, 1991). Kelihatannya keadaan ini sangat ditentukan oleh sifat plasmid pengkode kebal

antimikroba tersebut, khususnya apakah dalam satu grup inkompatibilitas yang sama atau berbeda.

Paparan eritromisin kadar sub-letal secara terus-menerus (selama tiga hari) pada *Staphylococcus epidermidis* yang berisi plasmid pengkode kebal eritromisin, ternyata berakibat terjadinya dimerisasi plasmid, sehingga diantara plasmid sejenis saling menggabung sehingga ukurannya menjadi makin besar sesuai deret hitung (DeGuglielmo *et al.*, 1991). Keadaan serupa, walaupun tidak sama sepenuhnya juga dijumpai pada *Escherichia coli* yang mengandung gen *ampC* pada kromosom, dimana akibat paparan ampisilin, terjadi mutan kebal terhadap ampisilin. Hal ini ternyata disertai makin panjangnya gen *ampC* di kromosom (Normark *et al.*, 1977). Keadaan atau beberapa fakta di atas kiranya perlu ditelaah lebih lanjut untuk kemungkinan dapat dimanfaatkan sebagai petanda adanya penggunaan antimikroba di suatu lingkungan.

Pada pemakaian antimikroba untuk terapi penderita, khususnya di rumah sakit, adalah ditujukan untuk bakteri penyebab. Namun hal ini tidak dapat terbebas dari paparan antimikroba terhadap bakteri flora normal yang ada di tubuh penderita. Flora yang telah kebal ini diketahui menyebar ke orang di sekitarnya. Kenyataan ini didukung oleh beberapa penelitian berikut ini: 1). Angka kejadian bakteri kebal di suatu lingkungan, khususnya rumah sakit, dapat disebabkan oleh perpindahan (*'transmission'*) bakteri kebal dengan cara kolonisasi silang (*'cross colonization'*) dengan penderita, melalui tangan petugas kesehatan di rumah sakit (Struelens, 1998); 2). Anak yang dirawat di ruang perawatan intensip di rumah sakit yang diketahui banyak menggunakan kanamisin sebagai obat utama, bakteri *Escherichia coli* flora usus bayi tersebut banyak mengandung plasmid pengkode kebal kanamisin. Pada penelaahan yang dilakukan 12 bulan setelah bayi keluar

rumah sakit, ternyata 43% flora *Escherichia coli* bayi dan 33% flora *Escherichia coli* keluarganya mengandung plasmid pengkode kebal kanamisin. Hal ini sangat berbeda dengan bayi sehat yang tidak dirawat di ruang perawatan intensip, tidak ditemukan plasmid pengkode kebal kanamisin (Damato *et al.*, 1974); 3). Pada suatu terapi kloramfenikol selama 14 hari pada 15 orang anak anggota asrama yang dihuni oleh 107 orang anak, ternyata terjadi peningkatan *Staphylococcus epidermidis* kebal kloramfenikol, baik pada kelompok yang mendapat terapi maupun yang tidak. Bahkan juga ditemukan adanya peningkatan kejadian bakteri kebal selain kloramfenikol, baik pada kelompok terapi maupun yang tidak mendapat terapi (Bently *et al.*, 1970); 4). Pada suatu penelaahan flora *Escherichia coli* pada domba liar di Jepang, adanya plasmid pengkode kebal antimikroba ditemukan pada 2,5% siolat. Namun setelah ditangkap dan dipelihara di lingkungan penduduk, angka ini meningkat menjadi 97% (Kinjo *et al.*, 1992).

Jika lingkungan yang diamati adalah sebuah ruang perawatan di rumah sakit yang banyak menggunakan antimikroba, maka lingkungan di tempat tersebut, baik penderita, staf perawatan rumah sakit maupun lingkungan di sekitarnya, akan banyak mengandung flora bakteri kebal. Jika semua kegiatan kebersihan, baik mencuci tangan, mandi maupun pembersihan ruangan selalu berakhir dengan pembuangan limbah ke saluran buangan dari kamar mandi, maka dapat diduga bahwa banyak terdapat flora bakteri kebal di saluran buangan tersebut. Hal yang lebih khusus lagi adalah bahwa segala kegiatan pembuangan air kemih, dilakukan di saluran tersebut. Diketahui bahwa antimikroba yang diberikan pada penderita, khususnya ampisilin maupun antimikroba golongan beta laktam, sebanyak 30%-50% diekskresi dalam bentuk aktif di air kemih (Fiaherty and Gambertoglio, 1990). Hal ini kiranya akan memberi paparan lanjutan pada flora yang telah ada di limbah buangan

kamar mandi. Hal ini menunjukkan pentingnya air limbah sebagai sarana penelaahan bakteri kebal. Sampai kini penelaahan selalu dilakukan pada penderita infeksi.

Flora tubuh yang banyak di lingkungan adalah koliform, yang salah satunya *Escherichia coli*. Galur kebal ganda dari bakteri tersebut telah diketahui banyak menyebabkan infeksi di rumah sakit. Pada suatu penelaahan tentang flora usus pada bayi neonatus yang dirawat di rumah sakit, ditemukan tiga flora utama bakteri batang negatif Gram yang bersifat aerobik yaitu *Escherichia coli* sebanyak 43,44%, *Klebsiella pneumonia* sebanyak 50,71% dan *Enterobacter spp* sebanyak 5,90%. Sedangkan angka kejadian plasmid pengkode enzim beta laktamase ditemukan pada *Escherichia coli* kebal ampisilin sebanyak 93,23%, pada *Klebsiella pneumonia* sebanyak 15,8% dan pada *Enterobacter spp* tidak dijumpai enzim tersebut (Burman *et al.*, 1992). Disamping itu, telah banyak diketahui adanya kebal antimikroba yang dikode plasmid pada *Escherichia coli* (Damato *et al.*, 1974; Camphei and Mee, 1987; Tenover *et al.*, 1987; Kitzis *et al.*, 1988). Bakteri koliform biasanya sebagai flora usus manusia dan hewan, namun juga banyak di lingkungan, seperti benda di sekitar kita, air dan tanah (Gallis, 1980). Di dalam air bakteri ini mampu bertahan sampai beberapa bulan. Karena itu, bakteri koliform khususnya *Escherichia coli*, layak dipergunakan sebagai petanda penggunaan antimikroba di suatu lingkungan.

plasmid dan pernah dilaporkan pada plasmid pengkode kebal eritromisin, terjadinya peningkatan ukuran plasmid itu sendiri melalui mekanisme dimerisasi atau penggabungan antar plasmid sejenis sehingga ukurannya makin besar seperti deret hitung (DeGuglielmo *et al.*, 1991). Kejadian lain menunjukkan bahwa pada galur mutan kebal *Escherichia coli* terhadap ampisilin, terjadi pemanjangan gen ampC pada kromosom (Normark *et al.*, 1977). Diketahui bahwa akibat peningkatan ekspresi plasmid yang disertai replikasi plasmid, dapat meningkatkan kompatibilitas (= makin mudah berada bersama) plasmid tersebut dengan plasmid lain dalam satu sel bakteri (Bonnasie *et al.*, 1990). Keadaan ini akan sangat menentukan munculnya bakteri kebal ganda ('*antimicrobial multi resistance*'). Tiap plasmid yang mengandung susunan atau gabungan beberapa gen kebal antimikroba yang sama, dikatakan mempunyai tipe sama. Namun pada plasmid lain justru terjadi sebaliknya, yakni plasmid lepas dan keluar dari sel bakteri (DeGuglielmo *et al.*, 1991). Berdasar fakta ini maka timbul permasalahan kedua dan ketiga.

Permasalahan 2, apakah plasmid pengkode kebal ampisilin pada isolat bakteri dari lingk-1 dengan tingkat penggunaan antimikroba yang tinggi mempunyai ukuran lebih besar dibanding yang berasal dari flora *Escherichia coli* yang dipisahkan dari lingk-2 dengan tingkat penggunaan antimikroba yang rendah.

Permasalahan 3, apakah ada perbedaan tipe plasmid antara isolat yang dipisahkan dari lingk-1 dengan tingkat penggunaan antimikroba yang tinggi dibanding isolat yang dipisahkan dari lingk-2 dengan tingkat penggunaan antimikroba yang rendah.

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum:

Untuk mempelajari seberapa jauh peran plasmid pada kejadian bakteri kebal antimikroba, dan apakah kejadian dan karakter plasmid pengkode kebal antimikroba dalam limbah rumah sakit dapat dipergunakan sebagai petanda atau indikator terhadap tingkat penggunaan antimikroba di lingkungan tersebut sebagai akibat penggunaan antimikroba pada terapi penderita

1.3.2 Tujuan khusus:

- a. Membuktikan bahwa kejadian kebal ampisilin yang dikode plasmid, lebih tinggi atau lebih sering ditemukan pada flora *Escherichia coli* yang dipisahkan dari lingk-1 (yaitu RP BU) dengan tingkat penggunaan antimikroba yang tinggi dibanding flora *Escherichia coli* yang dipisahkan dari lingk-2 (yaitu RP IKJ) dengan tingkat penggunaan antimikroba rendah.
- b. Membuktikan bahwa plasmid pengkode kebal ampisilin yang dipisahkan dari lingk-1 dengan tingkat penggunaan antimikroba yang tinggi mempunyai ukuran lebih besar dibanding yang dipisahkan dari lingk-2 dengan tingkat penggunaan antimikroba rendah.
- c. Membedakan tipe plasmid pengkode kebal ampisilin pada isolat *Escherichia coli* yang dipisahkan dari lingk-1 terhadap isolat yang dipisahkan dari lingk-2 dengan tingkat penggunaan antimikroba rendah.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Menentukan tingkat penggunaan antimikroba dalam suatu lingkungan (rumah sakit), melalui pendekatan biologi-molekuler (genetik)

Diketahui bahwa akibat pengaruh antimikroba kadar subletal secara berkelanjutan, akan merupakan perangsang bagi plasmid pengkode kebal antimikroba untuk meningkatkan ekspresi dan memperbanyak diri. Salah satu akibat keadaan tersebut adalah adanya perubahan angka kejadian plasmid kekebalan serta perubahan karakter plasmid yang bersangkutan. Perubahan karakter tersebut meliputi ukuran plasmid dan kemungkinan adanya gen-gen pengkode kebal antimikroba lain yang bergabung, yang disebut kebal ganda (*'multi resistance'*).

1.4.2 Menentukan tingkat bahaya suatu kekebalan dalam lingkungan rumah sakit

Suatu kekebalan bakteri terhadap antimikroba dapat disebabkan oleh perantara plasmid maupun nir-plasmid. Adanya perantara plasmid, menurut peneliti menunjukkan makin tingginya tingkat bahaya suatu kekebalan karena pertimbangan berikut ini: 1). kekebalan bakteri terhadap antimikroba yang dikode plasmid biasanya mempunyai KHM yang tinggi; 2). akibat penggunaan dan paparan lebih lanjut dengan antimikroba, penyebaran kekebalan menjadi makin cepat; 3). plasmid kekebalan pernah dilaporkan bergabung dengan faktor keganasan pada *Escherichia coli*, sehingga perpindahan plasmid akibat paparan antimikroba juga berdampak penyebaran faktor keganasan *Escherichia coli*.

1.4.3 Menentukan kebijakan penggunaan antimikroba pada rumah sakit dalam kaitan mencegah peningkatan kekebalan pada bakteri rumah sakit, khususnya dalam kaitan penyebab infeksi nosokomial

Penggantian pemakaian suatu antimikroba pada saat ini hanya didasarkan pada hasil uji kepekaan. Antimikroba yang paling banyak bersifat kebal akan diganti dengan antimikroba lain. Masalah akan timbul jika angka kejadian kekebalan terhadap berbagai (minimal dua) antimikroba berada pada tingkat yang sama. Maka untuk memilih yang paling layak untuk dipakai diantara yang ada adalah antimikroba yang paling sedikit dikode oleh plasmid, atau antimikroba yang harus diganti adalah antimikroba yang mempunyai kekebalan yang lebih banyak dikode plasmid.

1.4.4 Mengembangkan penelitian lebih lanjut pemanfaatan plasmid sebagai petanda pencemaran berbagai bahan kimiawi.

Plasmid telah diketahui secara luas mempunyai berbagai fungsi, baik sebagai pengatur metabolisme sel bakteri maupun sebagai mekanisme organisme untuk mempertahankan diri terhadap pengaruh luar yang merugikan. Dengan model penelitian pada ampisilin dan plasmid pengkode ampisilin ini, dapat dikembangkan berbagai penelitian lain, baik terhadap bahan toksik maupun bahan nutrisi yang mencemari suatu lingkungan.