

## BAB 5 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

Penelitian tentang penggunaan antimikroba di lokasi penelitian dilakukan dalam dua tahap, tahap pertama dilakukan selama 31 hari mulai tanggal 20 November 1995 sampai tanggal 20 Desember 1995 sedang tahap kedua dilakukan selama 76 hari mulai tanggal 17 Juni 1996 sampai dengan tanggal 31 Agustus 1996. Jumlah hari penelitian total adalah 107 hari.

Pencatatan semua jenis dan dosis obat dilakukan pada semua penderita yang dirawat di rumah sakit, dan dicatat setiap hari sampai waktu yang ditentukan. Pencatatan dilakukan oleh perawat jaga di ruang perawatan rumah sakit dengan pengawasan oleh peneliti dan perawat kepala ruang, menggunakan daftar isian yang telah disiapkan. Formulir pencatatan dapat dilihat pada Lampiran 1.

Pada penelitian tersebut telah diperoleh hasil bahwa jumlah penderita yang masuk dalam pencatatan adalah 169 orang penderita di RP IKJ dan 197 orang di RP BU. Berdasar 4 jenis penyakit utama alasan penderita masuk rumah sakit pada RP IKJ adalah, 105 orang menderita skizofrenia, 12 orang menderita psikosa reaktif singkat (PRS), 12 orang dengan psikosa dan 5 orang dengan Sindroma otak organik. Penyakit lain dengan jumlah kasus antara 1 sampai 5 kasus misalnya adiksi, intoksikasi, gangguan kepribadian, nerosa, parafrenia, psikosomatik dan lain-lain. Sedang alasan penderita dirawat di RP BU adalah 67 orang menderita penyakit pembesaran prostat jinak (*Benign*

*Prostat Hypertrophy = BPH*), 26 orang menderita penyakit batu ginjal dan ureter, 24 orang menderita penyakit striktura uretra dan 11 orang menderita batu buli-buli. Penyakit lain dengan jumlah kasus antara 1 sampai 8 kasus misalnya basalioma, fistula ani, hernia, kanker buli-buli, hidrokel dan lain-lain. Secara lebih jelas dapat dilihat pada Tabel 5.1.

**Tabel 5.1**

**Jenis dan jumlah penyakit pada penderita rawat inap RP Ilmu Kedokteran Jiwa dan RP Bedah Urologi RSUD Dr. Soetomo Surabaya**

RSUD DR Soetomo Surabaya						
RP IKJ				RP BU		
NO	Jenis Penyakit	Jml	Persen	Jenis Penyakit	Jml	Persen
1	Skizofrenia	105	62,13	<i>BPH</i>	67	34,72
2	PRS	12	7,10	Batu Ginjal/Ureter	26	13,47
3	Psikosa	12	7,10	Striktura uretra	24	12,44
4	SOO	5	3	BBB	11	5,6
5	Lain-lain	35	20,71	Lain-lain	69	35,03

**Keterangan:** Jml = Jumlah

PRS = Psikosa Reaktif Singkat; SOO = Sindroma Otak Organik  
*BPH* = *Benign Prostat Hypertrophy*; BBB = Batu Buli Buli

Berdasar gambaran sebaran jenis penyakit pada kedua lokasi penelitian menunjukkan bahwa penderita di RP BU dirawat dengan penyakit yang mempunyai resiko tinggi untuk terjadinya infeksi. Sedangkan penderita di RP IKJ dirawat dengan penyakit-penyakit yang bukan infeksi atau resiko lebih kecil untuk terjadinya infeksi. Khusus di RP BU, pemberian antimikroba selain ditujukan untuk pengobatan penyakit infeksi, juga diberikan sebagai pencegahan pada penderita menjelang dilakukan tindakan operasi dengan kemungkinan terjadi infeksi.

Pada penelaahan obat antimikroba dari berbagai jenis (golongan cincin beta laktam maupun bukan golongan cincin beta laktam), diperoleh hasil bahwa pada RP IKJ ada 18 orang (10,7%) mendapat antimikroba dari berbagai jenis. Jika diamati tiap-tiap

antimikroba, 9 orang (5,3% dari jumlah total penderita) mendapat ampisilin, tidak ada penderita yang mendapat sulbenisilin maupun sefalosporin, sedang golongan cincin beta laktam gabungan dari berbagai jenis (ampisilin dan nir-ampisilin) diatas diberikan kepada 14 orang (8,28% dari jumlah total penderita yang dirawat). Pada RP BU, 163 orang (84,46%) mendapat antimikroba dari berbagai jenis. Jika pengamatan dilakukan pada setiap antimikroba, 46 orang (23,83% dari jumlah total penderita) mendapat ampisilin, 63 orang (32,64%) mendapat sulbenisilin (penisilin semisintetik), 48 orang (24,87%) mendapat sefalosporin, sedang golongan cincin beta laktam gabungan dari berbagai jenis (ampisilin dan nir-ampisilin) diberikan kepada 142 orang (73,58% dari jumlah total penderita). Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 5.2.

Pada pengamatan yang dilakukan berdasar dosis antimikroba yang diberikan pada penderita, untuk RP IKJ, ampisilin total yang diberikan pada penderita selama penelitian adalah 63 gram. Dosis rata-rata per penderita (jumlah penderita total = 169 orang) adalah 0,3728 gram dengan simpangan baku 1,668 gram. Sedangkan di RP BU, ampisilin total yang diberikan kepada penderita selama penelitian adalah 189 gram. Dosis rata-rata per penderita adalah 0,9793 gram dengan simpangan baku 2,452 gram.

Pada pengamatan antimikroba golongan cincin beta laktam nir-ampisilin, yakni sulbenisilin dan sefalosporin, menunjukkan hasil yang mirip. Dosis total sulbenisilin yang diberikan kepada penderita di RP IKJ adalah nol, sedangkan dosis total yang diberikan pada penderita di RP BU sebesar 461,8 gram dengan rata-rata per penderita 2,3927 gram. Untuk antimikroba sefalosporin, dosis total yang diberikan penderita di RP IKJ juga nol sedangkan di RP BU adalah 186,9 gram dengan dosis rata-rata 0,9684 gram per penderita. Jika semua antimikroba golongan cincin beta laktam (ampisilin dan nir-ampisilin)

digabung, diperoleh hasil bahwa dosis total untuk penderita di RP IKJ adalah 87,95 gram dengan rata-rata 0,5204 gram, sedangkan untuk RP BU, dosis total adalah 857,7 gram dengan rata-rata per penderita adalah 4,4440 gram.

**Tabel 5.2**

**Distribusi penggunaan antimikroba di RP Ilmu Kedokteran Jiwa dan RP Bedah Urologi RSUD Dr. Soetomo Surabaya**

Antimikroba	RSUD DR Soetomo Surabaya				Khi-2 (p)
	RP IKJ		RP BU		
	Jumlah	Persen	Jumlah	Persen	
1. Mendapat AM*	18	10,65	163	84,46	0,001
2. Mendapat AM Ampisilin	9	5,33	46	23,83	0,001
3. Mendapat AM Sulbenisilin	0	0	63	32,64	0,001
4. Mendapat AM Sefalosporin	0	0	48	24,87	0,001
5. Mendapat semua AM golongan beta laktam	14	8,28	142	73,58	0,001
Penderita total	169	100	193**	100	

**Keterangan:** KHI 2 = Uji Khi Kuadrat; (p) = nilai p

AM = Antimikroba

AM\* = Antimikroba satu jenis atau lebih

\*\* = Penderita total 197, data tidak lengkap ('Missing') 4 orang

Persen = Jumlah penderita mendapat A.M. jumlah total penderita

**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**

Antimikroba	RSUD DR Soetomo Surabaya				Uji M-W (p)
	RP IKJ (169 Penderita)		RP BU (193 Penderita)		
	Dosis Total	Dosis Per Penderita	Dosis Total	Dosis Per Penderita	
1. Ampisilin	63	0,3728	189	0,9793	0,001
2. Sulbenisilin	0	0	461,8	2,3927	0,001
3. Sefalosporin	0	0	186,9	0,9684	0,001
4. Semua a.m. golongan beta laktam	87,95	0,5204	857,7	4,4440	0,001

**Keterangan:** Uji M-W = Uji statistik Mann-Whitney; p = nilai p

## 5.1.2 Isolat *Escherichia coli* kebal ampisilin yang dikode plasmid

### 5.1.2.1 Isolat *Escherichia coli* kebal ampisilin

Pengambilan sampel limbah cair rumah sakit dilakukan mulai bulan Mei 1996 sampai bulan Desember 1996 dengan frekuensi 2 sampai 3 kali pengambilan per minggu. Sampel diambil dari berbagai tempat pada aliran limbah cair keluar ruang perawatan penderita, baik di RP IKJ maupun RP BU. Pengambilan sampel dilakukan secara bergantian antara kedua lokasi penelitian.

Tiap satu sampel limbah cair, dipisahkan sebanyak 3 galur *Escherichia coli*. Dalam kurun waktu 6 bulan, telah dipisahkan sebanyak 210 galur *Escherichia coli* dari masing-masing lokasi penelitian. Pada uji kepekaan cara pengenceran agar, diperoleh hasil bahwa pada 210 galur *Escherichia coli* dari RP IKJ, 39 galur (18,06%) peka terhadap ampisilin dan 171 galur (80,95%) kebal, sedang isolat dari RP BU, 36 galur (17,12%) peka dan 174 galur (81,4%) kebal terhadap ampisilin.

**Tabel 5.4**

**Hasil pemeriksaan kepekaan pada 210 isolat *Escherichia coli* terhadap ampisilin pada isolat dari RP Ilmu Kedokteran Jiwa dan RP Bedah Urologi RSUD Dr. Soetomo Surabaya**

Kepekaan	RSUD DR Soetomo Surabaya				Uji Khi-2 (p)
	RP IKJ		RP BU		
	Jumlah isolat	Persen	Jumlah isolat	Persen	
Peka	39	18,60	36	17,10	0,7989
Kebal	171	81,40	174	82,90	
Total	210	100	210	100	

**Keterangan:** Uji Khi-2 = Uji Khi Kuadrat

### 5.1.2.2 Isolat *Escherichia coli* kebal ampisilin yang dikode plasmid

Telah diperoleh hasil bahwa pada 210 isolat *Escherichia coli* dari RP IKJ, terdapat 171 galur *Escherichia coli* kebal ampisilin, sedangkan pada 210 isolat dari RP BU, terdapat 174 galur kebal ampisilin. Selanjutnya semua galur kebal ampisilin diperiksa adanya plasmid pengkode kebal ampisilin melalui uji transformasi.

Pada 171 galur *Escherichia coli* kebal ampisilin dari RP IKJ, menunjukkan ada 28 galur (16,37%) mempunyai plasmid pengkode kebal ampisilin, sedangkan pada 174 galur *Escherichia coli* dari RP BU, 58 galur (33,33%) menunjukkan uji transformasi positif yang berarti mengandung plasmid pengkode kebal ampisilin. Lihat Tabel 5.5. Uji transformasi positif ditandai dengan adanya pertumbuhan *Escherichia coli* acuan galur *DH5alfa* yang telah ditransformasi, pada media Luria Bertani (LB) yang diisi ampisilin kadar 64 mikrogram per mililiter. Lihat Gambar 5.1.

**Tabel 5.5**

**Hasil uji transformasi untuk mencari adanya plasmid pengkode kebal ampisilin pada 171 isolat *Escherichia coli* kebal ampisilin yang dipisahkan dari RP IKJ dan 174 isolat dari RP BU RSUD Dr. Soetomo Surabaya**

Transformasi	RSUD DR Soetomo Surabaya				Uji Khi-2 (p)
	RP IKJ		RP BU		
	Jumlah	Persen	Jumlah	Persen	
Positif	28	16,37	58	33,33	0,001
Negatif	143	83,63	116	66,67	
Total Isolat Kebal Ampisilin	171	100	174	100	

**Keterangan:** Uji Khi-2 = Uji Khi Kuadrat

Transformasi = Hasil uji transformasi



**Gambar 5.1** Foto hasil uji transformasi positif dengan kontrol *pBR322*

**Keterangan:**

TBE14 : Hasil transformasi sampel BE14

TBE77 : Hasil transformasi sampel BE77

*pBR322* : Hasil transformasi *pBR322* sebagai kontrol

### 5.1.3 Ukuran plasmid pengkode kebal ampisilin

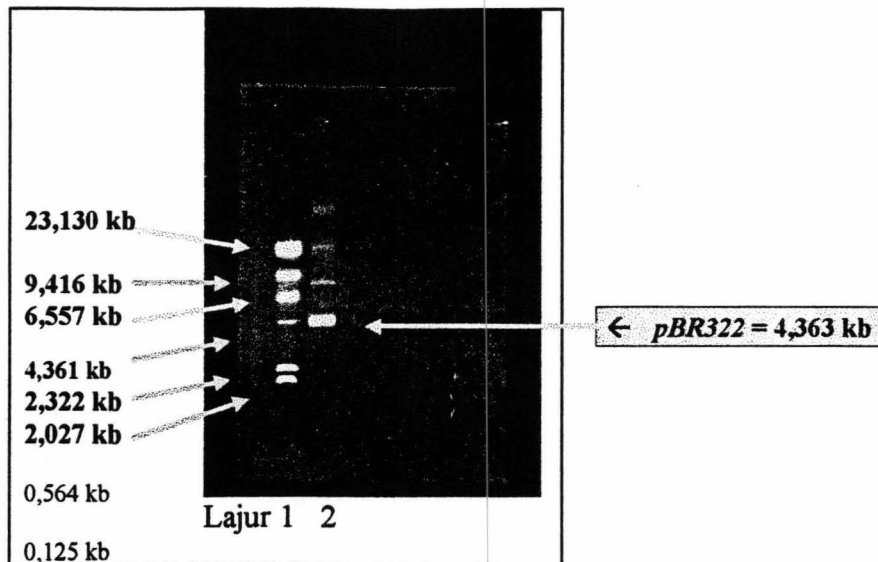
Untuk membuktikan bahwa kebal ampisilin tersebut diperankan oleh plasmid, perlu dilakukan visualisasi adanya plasmid yang mengikuti munculnya bakteri acuan yang semula peka menjadi kebal. Visualisasi plasmid yang merupakan untaian DNA dengan panjang tertentu dalam satuan pasangan basa (base pair=bp atau kilo base pair = kb), dapat dilihat dengan melakukan elektroforese dengan menggunakan agarose 0,8% dalam larutan dapar TBE 0,5 X, dan selanjutnya dilakukan pengecatan dengan larutan etidium bromid 0,5 ng per ml. Selanjutnya difoto dengan kamera polaroid hitam putih menggunakan filter oranye. Hasilnya adalah pita putih dalam latar belakang hitam. Dengan menyertakan petanda (Marker) ukuran DNA, maka ukuran panjang plasmid dapat diperkirakan. Sebagai petanda adalah *lambda HindIII* sehingga menghasilkan potongan DNA dengan ukuran panjang berturut-turut 23,130 kb, 9,416 kb, 6,557 kb, 4,361 kb, 2,322 kb, 2,027 kb, 0,564 kb, 0,125 kb (Sambrook *et al.*, 1989). Dipergunakan petanda buatan Promega. Lihat Tabel 5.6.

**Tabel 5.6**  
**Potongan petanda (Marker) *Lambda HindIII***

NO.	Ukuran (kb)
1	23,130 kb
2	9,416 kb
3	6,557 kb
4	4,361 kb
5	2,322 kb
6	2,027 kb
7	0,564 kb
8	0,125 kb



Hasil foto petanda (marker) dengan kontrol *pBR322* dengan ukuran 4,363 kb dapat dilihat pada Gambar 5.2



**Gambar 5.2.**

Hasil foto polaroid petanda *lambda HindIII* dan *pBR322* yang mempunyai ukuran 4,363 kb.

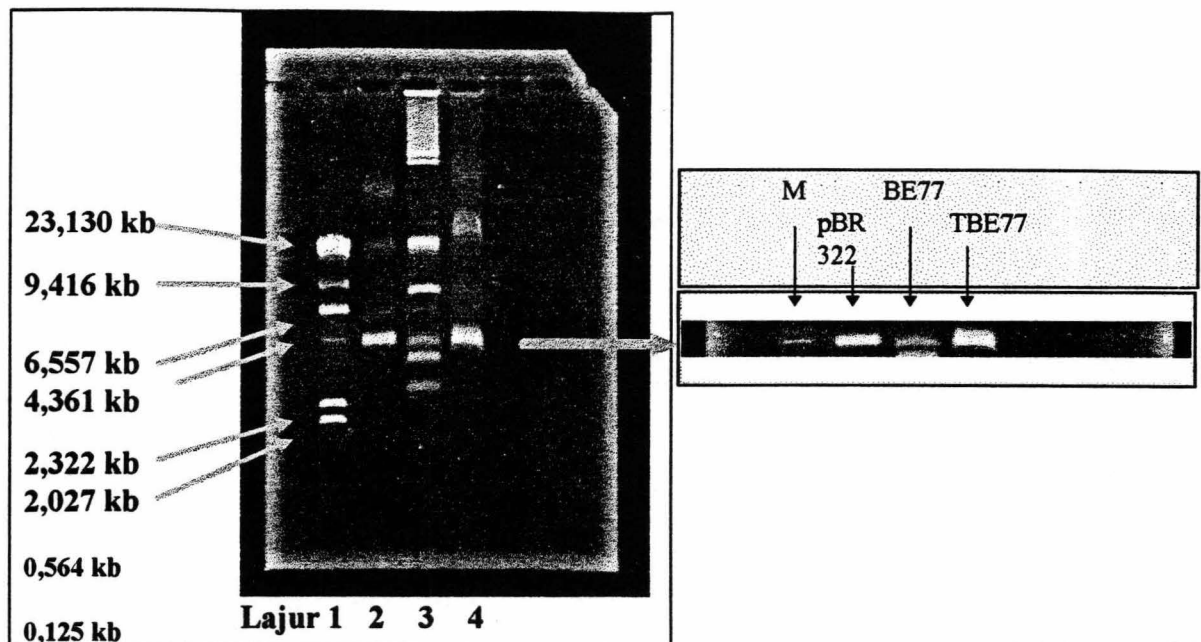
**Keterangan:** Lajur 1 = Hasil elektroforese *Lambda HindIII*

Lajur 2 = Hasil elektroforese *pBR322* (ukuran = 4,363 kb)  
isolat dari sel transforman *pBR322-DH5alfa*

Sebagai persiapan visualisasi plasmid, pada semua sel *Escherichia coli* transforman, yakni sel acuan yang semula peka ampisilin menjadi kebal ampisilin setelah uji transformasi, dilakukan pemisahan plasmid metode lisis alkali (Sambrook *et al.*, 1989). Selain itu dilakukan juga pemisahan plasmid pada *Escherichia coli* acuan sebelum dilakukan uji transformasi sehingga diketahui adanya plasmid yang secara alami telah dimiliki oleh *Escherichia coli* acuan (*Escherichia coli* galur *DH5alfa*).

Hasil pemisahan plasmid pada *Escherichia coli* acuan yang telah diisi *pBR322* ternyata disamping adanya *pBR322* dengan ukuran 4,363 kb, ditemukan juga isolat (plasmid) dengan perkiraan ukuran sekitar 23 kb dan 60 kb. Lihat Gambar 5.2. Jadi

adanya plasmid baru diluar ukuran tersebut dianggap sebagai plasmid baru pengkode kebal ampisilin yang berasal dari *Escherichia coli* sampel.



**Gambar 5.3.**

Hasil foto elektrofores agar terhadap isolat plasmid pengkode kebal ampisilin dari sampel TBE77 (sel transforman *Escherichia coli* DH5alfa dengan isolat plasmid dari sampel *Escherichia coli* BE77 dari RP BU).

**Keterangan:** Lajur 1: Petanda (Marker) faga lamda dipotong dengan enzim *HindIII*

Lajur 2: Isolat *pBR322* dari sel transforman *E coli* DH5alfa dengan *pBR322* (Produksi Promega)

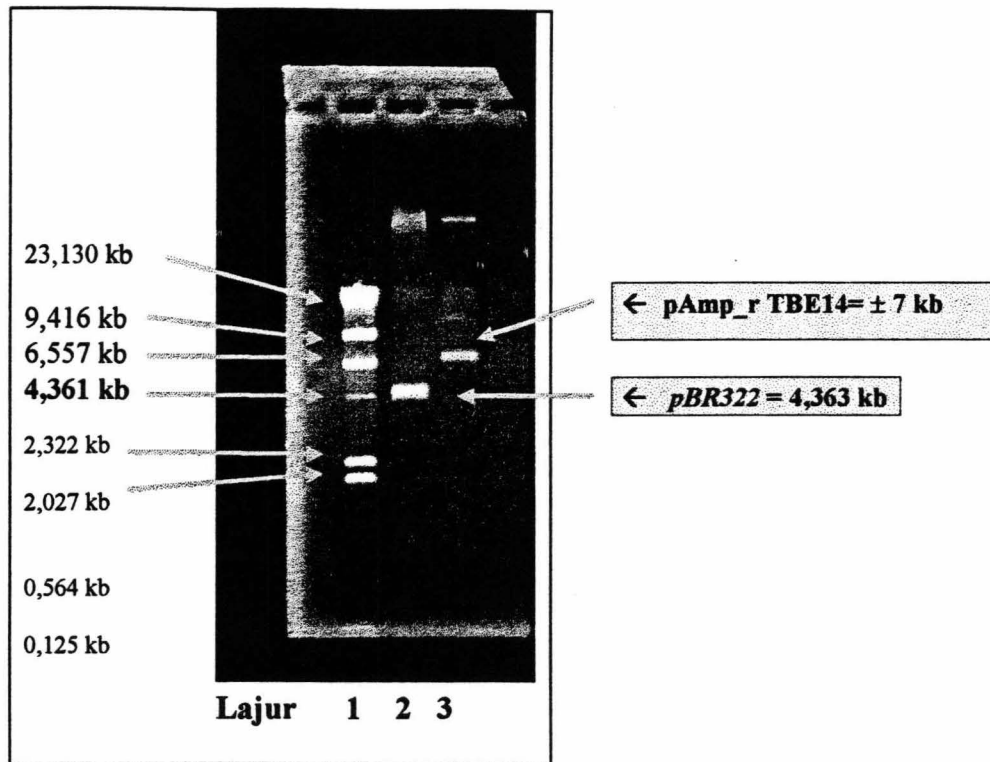
Lajur 3: Isolat plasmid dari sampel *Escherichia coli* nomor 77 dari RP BU (BE77)

Lajur 4: Isolat plasmid pada sel transforman sampel nomor BE77 dari RP BU (TBE77; T berarti transforman)

Hasil visualisasi plasmid pengkode kebal ampisilin, dapat dilihat pada Gambar 5.3.

Pada gambar ini terlihat bahwa pada sampel nomor 77 isolat *Escherichia coli* dari RP BU, mempunyai ukuran panjang sekitar 4 kb. Pada isolat lain, yakni pada sampel *Escherichia*

*coli* nomor 14 dari RP BU, ditemukan plasmid dengan ukuran perkiraan 7 kb. (Gambar 5.4). Plasmid dengan ukuran lebih besar ditemukan pada beberapa sampel, seperti sampel dari RP BU nomor 6, 22 dan 55 dengan ukuran sekitar 15 kb. (Gambar 5.5.)

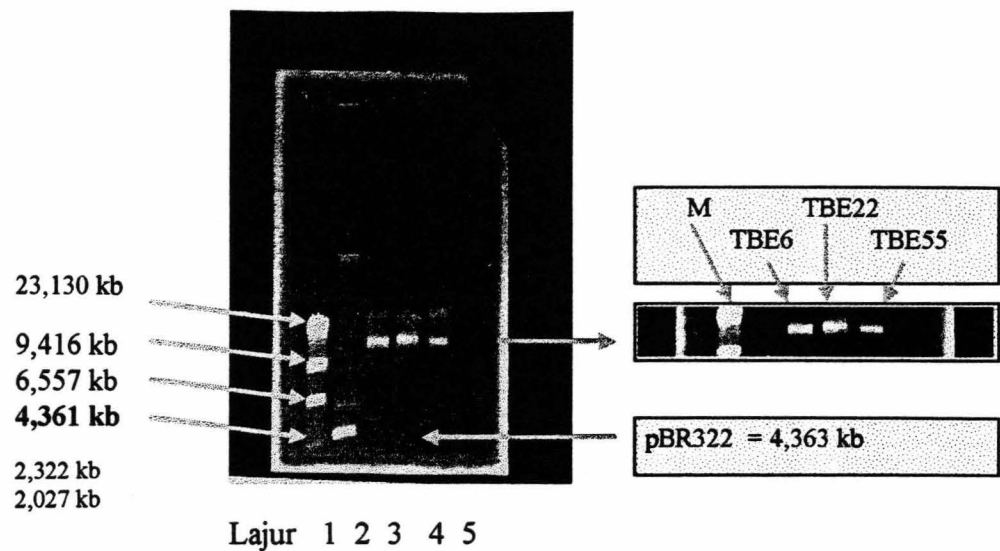


**Gambar 5.4**

Foto polaroid isolat plasmid pada elektroforesi agar menggunakan pengecatan etidium bromid, dari sel transforman *Escherichia coli* DH5 $\alpha$  dengan sampel nomor 14 dari RP BU dan ditemukan plasmid ukuran 7 kb.

**Keterangan:** Lajur 1: Petanda (Marker) Faga lamda dipotong dengan enzim *HindIII*  
Lajur 2: Transforman *pBR322* pada *Escherichia coli* DH5 $\alpha$   
Lajur 3: Isolat plasmid kebal ampisilin dari sel transforman TBE14 (*pAmp\_r* TBE14 dengan perkiraan ukuran = ± 7 kb)

Sedangkan pada Gambar 5.6, dapat dilihat beberapa plasmid dari isolat RP IKJ dengan ukuran sekitar 3,5 kb.



**Gambar 5.5**

Foto polaroid isolat plasmid pada elektroforesi 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.

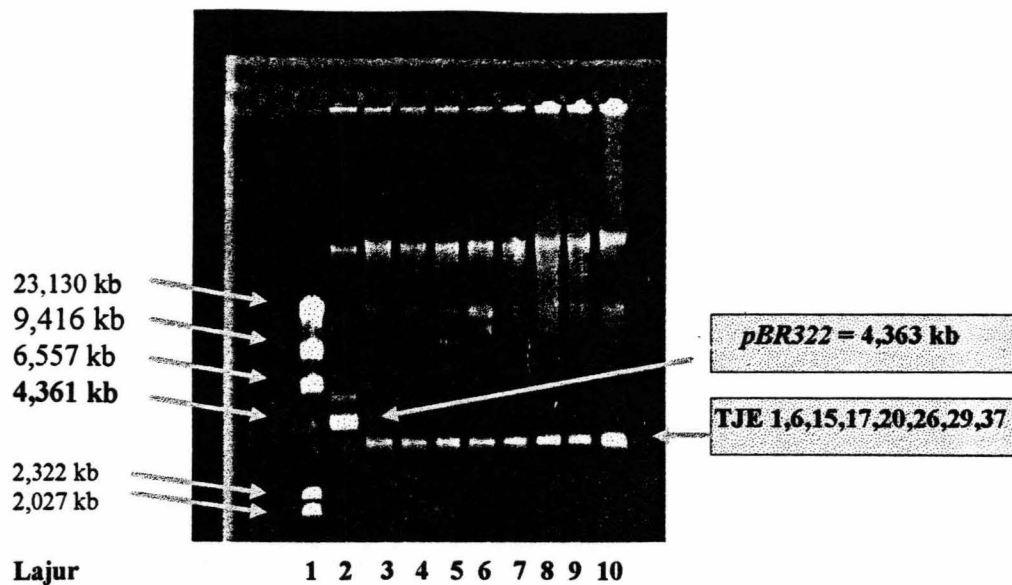
**Keterangan:** Lajur 1: Petanda (Marker) Faga lamda dipotong dengan enzim *HindIII*

Lajur 2: Transforman *pBR322* pada *Escherichia coli DH5alfa*

Lajur 3: Plasmid kebal ampisilin dari sel transforman TBE6

Lajur 4: Plasmid kebal ampisilin dari sel transforman TBE22

Lajur 5: Plasmid kebal ampisilin dari sel transforman TBE55



**Gambar 5.6**

Foto polaroid isolat plasmid pada elektroforesi agar dengan pengecatan etidium bromid 50 ng%, 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.

**Keterangan:** Lajur 1: Petanda (Marker) *lamda HindIII*

Lajur 2: Transforman *pBR322* pada *Escherichia coli DH5alfa*

Lajur 3 sampai dengan 10 adalah isolat plasmid dari RP IKJ (TJE)

TJE 1, 6, 15, 17, 20, 26, 29 dan 37

Pada pemeriksaan *Escherichia coli* transforman, diperoleh hasil bahwa terdapat plasmid baru dengan berat berbagai ukuran. Untuk itu peneliti membagi ukuran plasmid dalam tiga kelompok yakni **kelompok 1** dengan ukuran panjang 4,361 kb atau lebih kecil, **kelompok 2** dengan ukuran lebih besar 4,361 kb sampai dengan 9,416 kb dan **kelompok 3** dengan ukuran lebih besar 9,416 kb sampai dengan 23,130 kb. Penggolongan ini

didasarkan pada empat pertimbangan yakni: 1). ukuran plasmid kekebalan telah dikenal sebagai plasmid kecil dengan berat pada kisaran 15 kb; 2). gen pengkode kebal ampisilin pada berbagai isolat, mempunyai ukuran sekitar 1 kb sampai 1,5 kb yang menjadi panjang karena bergabungnya berbagai gen lain; 3). pada penelaahan beberapa isolat plasmid pada penelitian ini, ditemukan plasmid dengan ukuran sekitar 3 kb sampai sekitar 15 kb. 4). petanda (= Marker) yang tersedia di pasaran yang sesuai untuk menjanging ukuran plasmid kekebalan yang merupakan plasmid kecil adalah *lambda HindIII* (Lihat Tabel 5.6). Berdasar pengelompokan ukuran plasmid tersebut diketahui bahwa ukuran plasmid pengkode kebal ampisilin dari isolat RP IKJ adalah 28 galur untuk panjang kelompok 1, dan tidak ada plasmid dengan ukuran kelompok 2 dan 3. Sedangkan hasil isolat dari RP BU diperoleh hasil ukuran panjang plasmid dalam kelompok 1 sebanyak 38 (65,52 %) galur, kelompok 2 ada 10 (17,24 %) galur dan kelompok 3 ada 10 (17,24 %) galur. Lihat Tabel 5.7.

**Tabel 5.7**

**Distribusi plasmid berdasar kelompok ukuran panjang, pada *Escherichia coli* isolat dari RP IKJ dan RP BU RSUD Dr. Soetomo Surabaya**

Kelompok Ukuran Plasmid	RSUD DR Soetomo Surabaya				Total	
	RP IKJ		RP BU			
	Jml	Persen	Jml	Persen	Jml	Persen
1. =< 4,361 kb	28	100	38	65,52	66	76,74
2. > 4.361- 9,416 kb	0	0	10	17,24	10	11,63
3. > 9,416 kb - 23,130 kb	0	0	10	17,24	10	11,63
Total	28	100	58	100	86	100

**Keterangan:** Jml : Jumlah ; =< : Sama atau lebih kecil; > : Lebih besar

#### 5.1.4 Tipe plasmid berdasar antibiogram sel transforman

Ukuran plasmid pengkode kebal ampisilin yang ditemukan pada penelitian ini adalah plasmid dengan ukuran beragam dari kecil sampai yang lebih besar. Munculnya plasmid dengan ukuran yang lebih besar, dapat terjadi karena tiga kemungkinan yaitu: 1). Terdapat berbagai plasmid kekebalan pada bakteri dalam limbah cair rumah sakit akibat penggunaan berbagai antimikroba secara berkelanjutan dalam waktu lama. Pada suatu kesempatan berbagai plasmid tersebut masuk dalam bakteri yang sama, kemudian menggabung (rekombinasi) satu terhadap yang lain; 2). Terjadinya dimerisasi atau penggabungan antar plasmid sejenis, sehingga panjangnya bertambah dengan kelipatan panjang plasmid itu sendiri; 3). Menggabungkannya berbagai plasmid pengkode kebal antimikroba dengan plasmid pengkode metabolisme yang lain, khususnya pencemar limbah cair rumah sakit seperti bahan detergen yang secara rutin dipergunakan setiap hari.

Pada kesempatan ini peneliti menganalisis kemungkinan pertama, yakni antimikroba selain ampisilin yang juga dikode oleh gen yang berada bersama dengan plasmid pengkode kebal ampisilin (*'ampicillin associated resistance plasmid'*) dalam sel transforman. Untuk itu pada semua sel transforman (= *Escherichia coli* galur *DH5alfa* yang telah berisi plasmid sampel) dilakukan uji kepekaan cara difusi cakram. Sifat kekebalan baru yang ada pada sel transforman, namun tidak ada pada sel acuan (*Escherichia coli* galur *DH5alfa*), dianggap sebagai kekebalan baru yang diperankan oleh plasmid sampel.

Pada pemeriksaan kepekaan galur acuan *Escherichia coli DH5alfa*, menunjukkan bahwa bakteri tersebut peka terhadap antimikroba ampisilin, kloramfenikol, kanamisin, sefaleksin, sefotaksim, sefotiam, sulbenisilin, tetrasiklin dan trimetoprim; bersifat intermediate terhadap antimikroba eritromisin. Hasil pemeriksaan secara lengkap dapat dilihat pada Tabel 5.8.

**Tabel 5.8.**

**Hasil uji kepekaan cara difusi cakram pada *Escherichia coli DH5alfa* terhadap berbagai antimikroba.**

Jenis Antimikroba	Lebar daerah hambatan sebagai pedoman pembacaan kekebalan	
	Diameter daerah hambatan (mm)	Kesimpulan
1. Ampisilin (AMP10)	28	Peka
2. Eritromisin (E15)	14	Intermediate
3. Kloramfenikol (C30)	32	Peka
4. Kanamisin (K30)	24	Peka
5. Sefaleksin (CL30)	26	Peka
6. Sefotaksim (CTX30)	46	Peka
7. Sefotiam (CTM30)	32	Peka
8. Sulbenisilin (SUL100)	34	Peka
9. Tetrasiklin (TE30)	34	Peka
10. Trimetoprim (W5)	38	Peka

**Keterangan:** mm = milimeter

Sel transforman yang dihasilkan dari uji transformasi adalah sebanyak 28 galur dari RP IKJ dan 58 galur dari RP BU. Pada uji kepekaan cara difusi cakram, ditemukan hasil yang beragam. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 5. Untuk itu peneliti membagi ke dalam beberapa tipe kekebalan berdasar jenis antimikroba yang telah menjadi kebal. Untuk menggolongkan tipe tersebut, antimikroba diurut berdasarkan abjad huruf pertama nama antimikroba dan diikuti huruf berikutnya.



Berdasar atas kekebalan terhadap beberapa antimikroba, ditemukan 3 tipe sel transforman (yang mencerminkan 3 tipe plasmid) yaitu:

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

Berdasar penggolongan tersebut, pada analisis uji kepekaan *Escherichia coli* transforman dari isolat plasmid pada RP IKJ diketahui bahwa tidak ada galur yang mempunyai kekebalan tipe 1; 3 (10,7%) galur mempunyai kekebalan tipe 2; 25 (89,29%) galur mempunyai kekebalan tipe 3. Sedang hasil di RP BU, 4 (6,9%) galur mempunyai kekebalan tipe 1; 6 (10,34%) galur mempunyai kekebalan tipe 2 dan 48 galur mempunyai kekebalan tipe 3. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 5.9. Gambaran secara jelas kaitan kemunculan plasmid yang disertai dengan munculnya kekebalan baru dapat dilihat pada Gambar 5.7.

**Tabel 5.9**

**Hasil uji kepekaan sel transforman terhadap beberapa jenis antimikroba yang menunjukkan tipe plasmid pada sel transforman.**

Hasil uji kepekaan = tipe plasmid	RSUD Dr. Soetomo Surabaya				X-2 (p)
	RP IKJ		RP BU		
	Jumlah	Persen	Jumlah	Persen	
Tipe 1	0	0	4	6,90	
Tipe 2	3	10,71	6	10,34	
Tipe 3	25	89,29	48	82,76	
Jumlah total	28	100	58	100	0,363

**Keterangan:** X-2 = Uji Khi kuadrat;

p = nilai p pada uji statistik

Tipe plasmid dinyatakan sebagai pola kekebalan sel transforman terhadap antimikroba acuan

**Tabel 5.10.**

**Perubahan kekebalan sel transforman TBE77 yang berasal dari *Escherichia coli* DH5alfa setelah mendapatkan plasmid dari sampel *Escherichia coli* BE77 yang berasal dari RP BU RSUD Dr. Soetomo Surabaya**

Jenis Antimikroba	Bakteri yang diuji	
	<i>E.coli DH5alfa</i>	TBE77
1. Ampisilin (AMP10)	S	R
2. Eritromisin (E15)	I	I
3. Kloramfenikol (C30)	S	S
4. Kanamisin (K30)	S	S
5. Sefaleksin (CL30)	S	S
6. Sefotaksim (CTX30)	S	S
7. Sefotiam (CTM30)	S	S
8. Sulbenisilin (SUL100)	S	R
9. Tetrasiklin (TE30)	S	S
10. Trimetoprim (W5)	S	S

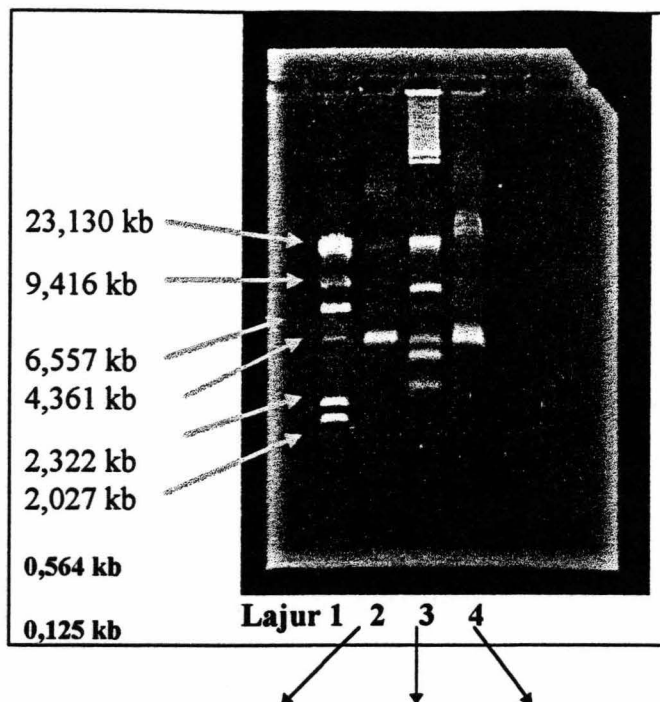
**Keterangan:** TBE77 = sel transforman setelah ditransformasi oleh isolat plasmid berasal dari *Escherichia coli* BE77.

BE77 = *Escherichia coli* isolat nomor 77 dari RP BU

S = Peka ('Sensitive'); I = Intermediate; R = Kebal ('Resistant')

Sebagai gambaran perubahan kekebalan berkaitan dengan plasmid baru, dapat dilihat pada Tabel 5.10, sedangkan hasil uji kepekaan cara difusi cakram dapat dilihat pada Gambar 5.7. Pada hasil ini terlihat bahwa *pBR322* yang diketahui mengandaung gen kebal ampisilin dan tetrasiklin, menunjukkan hasil sel transforman yang kebal terhadap ampisilin, tetrasiklin dan sulbenisilin. Kekebalan sulbenisilin ini menunjukkan bahwa plasmid menghasilkan enzim beta laktamase yang selain merusak ampisilin, juga merusak sulbenisilin.

Kebal sulbenisilin ternyata sama 100% dengan kebal ampisilin, dan menurut peneliti, memang kedua kekebalan ini diperankan oleh satu gen yang sama dan salah satu gen yang berperan sama yakni gen pengkode enzim beta laktamase. Jadi gen penyerta pada plasmid pengkode kebal ampisilin adalah tiga gen (eritromisin, kanamisin, trimetoprim) untuk plasmid tipe 1; dua gen ( kloramfenikol, trimetoprim) untuk plasmid tipe 2; dan tipe 3 tidak mengandung gen penyerta. Sedangkan jumlah gen total pada tiap tipe plasmid adalah tipe 1 ada 4 gen kebal antimikroba, tipe 2 ada 3 gen dan tipe 3 ada 1 gen. Selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 5.11.



Antimikroba	Lajur	DH5alfa	1 M	2 pBR322	3 BE77	4 TBE77
1. Ampisilin		S		R	R	R
2. Eritromisin		I		I	I	I
3. Kloramfenikol		S		S	S	S
4. Kanamisin		S		S	S	S
5. Sefaleksin		S		S	S	S
6. Sefotaksim		S		S	S	S
7. Sefotiam		S		S	S	S
8. Sulbenisilin		S		R	R	R
9. Tetrasiklin		S		R	S	S
10. Trimetoprim		S		S	R	S

**Gambar 5.7.**

**Hasil foto polaroid isolat plasmid dari transforman pBR322-*Escherichia coli* DH5alfa, sel transforman (TBE77) dan *Escherichia coli* sampel (BE77), serta hasil uji kepekaan terhadap 10 jenis antimikroba**

**Keterangan:** Lajur 1 : M = Marker = Petanda Ukuran plasmid

Lajur 2 : Transforman pBR322 pada *Escherichia coli* DH5alfa

Lajur 3 : BE77 = *Escherichia coli* sampel nomor 77 dari RP BU

Lajur 4 : TBE77 = Sel transforman DH5alfa dengan plasmid dari BE77

**Tabel 5.11 Jumlah gen yang berada bersama pada tiap tipe plasmid pada 86 plasmid pengkode kebal ampisilin di RSUD Dr. Soetomo Surabaya**

Tipe Pla	RSUD DR SOETOMO SURABAYA					
	RP IKJ			RP BU		
	Jml Pla	Gen_R	Gen_P	Jml Pla	Gen_R	Gen_P
1	0	-	-	4	4x4=16	3x4=12
2	3	3x3=9	2x3=6	6	3x6=18	2x6=12
3	25	1x25=25	0	48	1x48=48	0
Total	28	34	6	58	82	24

**Keterangan:**

Tipe Pla = Tipe plasmid

Jml Pla = Jumlah plasmid

Gen\_R = Jumlah gen pengkode kebal antimikroba (ampisilin dan nir-ampisilin); Plasmid tipe 1 = 4 gen; tipe 2 = 3 gen; tipe 3 = 1 gen

Gen\_P = Jumlah gen kebal penyerta (nir-ampisilin)  
Plasmid tipe 1 = 3 gen; tipe 2 = 2 gen; tipe 3 = nol

Uji Statistik Uji Mann-Whitney Gen\_R: RP BU  $\times$  RP IKJ:  $p = 0,3822$

## 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

Data tentang jumlah penderita yang mendapat antimikroba selama perawatan, yang kemudian dinyatakan dalam prosen, adalah data nominal. Jadi perhitungan statistik dilakukan dengan uji non-parametrik khi kuadrat.

Jika ditelaah jumlah penderita yang mendapat antimikroba dengan berbagai jenis, atau yang mendapat ampisilin, maupun yang mendapat antimikroba golongan cincin beta laktam, terdapat perbedaan yang bermakna antara RP IKJ terhadap RP BU dalam batas kemaknaan 5%. Pada perhitungan statistik diperoleh nilai p untuk penderita yang mendapat antimikroba dengan berbagai jenis adalah 0,001 (lebih kecil dari 0,05), untuk penderita yang mendapat ampisilin, sulbenisilin maupun sefalosporin, maupun gabungan antimikroba golongan beta laktam, nilai p adalah 0,001 (lebih kecil dari 0,05). (Tabel 5.2. dan Lampiran 4).

Data penelitian tentang jumlah (dalam gram) penggunaan antimikroba adalah skala ratio, namun pada uji normalitet dengan uji Kolmogorov-Smirnov, data tidak normal dengan nilai p untuk semua parameter (ampisilin, sulbenisilin, sefalosporin, dan gabungan semua antimikroba golongan beta laktam) adalah 0,001. Karena itu uji beda Mean dilakukan dengan uji non-parametri Mann-Whitney. Semua analisis dilakukan dengan program komputer SPSS/PC+. (Lampiran 4).

Pada perhitungan statistik antara RP IKJ dan RP BU, untuk penggunaan antimikroba (dalam gram per penderita), menunjukkan perbedaan bermakna pada taraf kemaknaan 5% dengan nilai p untuk semua parameter (ampisilin, sulbenisilin, sefalosporin,

gabungan antimikroba golongan beta laktam) adalah 0,001 (lebih kecil dari 0,05) (Tabel 5.3. dan Lampiran 4).

Dari berbagai analisis tingkat penggunaan antimikroba di kedua lokasi penelitian, disimpulkan bahwa baik dilihat dari prosentase penderita yang mendapat antimikroba, maupun dosis rata-rata antimikroba per penderita, khususnya ampisilin maupun golongan cincin beta laktam yang lain, baik secara sendiri-sendiri maupun gabungan antimikroba golongan cincin beta laktam, di RP BU adalah lebih tinggi dan berbeda bermakna dibanding RP IKJ.

## **5.2.2 Isolat *Escherichia coli* kebal ampisilin yang dikode plasmid**

### **5.2.2.1 Isolat *Escherichia coli* kebal ampisilin**

Data hasil pemeriksaan kekebalan adalah skala nominal, yaitu bakteri peka atau kebal terhadap ampisilin. Karena itu uji beda dilakukan dengan uji non-parametrik khi kuadrat.

Hasil uji beda antara RP IKJ dan RP BU, menunjukkan hasil tidak ada beda bermakna dengan nilai  $p = 0,7989$  (lebih besar dari 0,05) (Tabel 5.4 dan Lampiran 6).

### **5.2.2.2 Isolat *Escherichia coli* kebal ampisilin yang dikode plasmid**

Data hasil pemeriksaan kekebalan adalah skala nominal, yaitu pada bakteri kebal ampisilin, apakah mempunyai atau tidak mempunyai plasmid pengkode kebal ampisilin. Karena itu uji beda dilakukan dengan uji non-parametrik khi kuadrat.

Pada perhitungan statistik menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna angka kejadian plasmid pengkode kebal ampisilin antara RP IKJ dan RP BU RSUD Dr. Soetomo

Surabaya, dengan nilai  $p = 0,001$  (lebi kecil 0,05). (Tabel 5.5. dan Lampiran 6). Hal ini **berarti hipotesis diterima**.

### 5.2.3 Ukuran plasmid pengkode kebal ampisilin

Data ukuran plasmid adalah data ordinal yakni dalam bentuk kelompok. Maka uji beda dilakukan dengan uji non-parametrik Mann-Whitney.

**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**

Kelompok Ukuran Plasmid	RSUD DR Soetomo Surabaya				M-W (p)
	RP IKJ		RP BU		
	Jml	Prosen	Jml	Prosen	
1. $\leq 4.361$ bp	28	100	38	65,5	
2. $> 4.361 - 9.416$ bp	0	0	10	17,2	
3. $> 9.416$ bp - 23.130 bp	0	0	10	17,2	
Total	28	100	58	100	0,001

**Keterangan:** Jml : Jumlah ;  $\leq$  : Sama atau lebih kecil;  $>$  : Lebih besar  
M-W : Uji Mann-Whitney; p : nilai p pada uji statistik

Pada perhitungan statistik dengan menggunakan uji Mann-Whitney diperoleh hasil perbedaan yang bermakna pada batas kemaknaan 5% dengan nilai  $p = 0,001$  (lebih kecil 0,05) (Tabel 5.12 dan Lampiran 6). Hal ini **berarti hipotesis diterima**.



#### 5.2.4 Tipe plasmid berdasar antibiogram sel transforman

Data tipe plasmid adalah data nominal, maka uji beda dilakukan dengan uji khi kuadrat. Jika dilakukan analisis angka kejadian beberapa tipe kekebalan yang diperankan oleh plasmid antara RP IKJ dan RP BU dengan menggunakan uji statistik khi kuadrat, didapatkan hasil  $p=0,3627$  (lebih besar dari 0,05). Hal ini menunjukkan bahwa pada batas kemaknaan 5%, tidak ada perbedaan distribusi tipe plasmid diantara kedua lokasi penelitian, **jadi hipotesis ditolak**. Berdasar hal ini pula bisa disimpulkan bahwa tipe plasmid diantara kedua lokasi penelitian adalah sama.

Jumlah total gen kebal antimikroba (ampisilin dan nir-ampisilin) pada tiap tipe plasmid (tiap sel transforman) merupakan data skala ratio. Dengan uji normalitet menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov menunjukkan bahwa data tidak normal dengan nilai  $p = 0,001$ . Maka analisis statistik uji beda dilakukan dengan uji Mann-Whitney. Hasilnya adalah pada batas kemaknaan 5%, tidak ada beda jumlah gen kebal antimikroba (ampisilin dan nir-ampisilin) antara RP IKJ dan RP BU dengan  $p=0,3822$  (lebih besar dari 0,05). (Tabel 5.11).

Untuk melihat apakah kebersamaan gen kebal antimikroba tersebut berkaitan dengan makin panjangnya ukuran plasmid, perlu dilakukan uji korelasi antara ukuran plasmid dengan jumlah gen kebal antimikroba pada tiap tipe plasmid. Hasil uji korelasi menunjukkan bahwa tidak ada korelasi antara makin panjangnya ukuran plasmid dengan makin banyaknya jumlah gen kebal antimikroba, dengan nilai  $r = 0,0717$  (Lampiran 6).