

**PS1
19**

Jakarta



LAPORAN PENELITIAN

**POLA RESISTENSI BAKTERI *Vibrio cholerae* DARI ISOLAT KLB DIARE
DI KABUPATEN JEMBER DAN BOGOR TAHUN 2010**

RISBINKES

Oleh :

1. Dth. Khariri
2. Dr. Nelly Puspendari
3. Kambang Sariadji, S.Si

PUSAT BIOMEDIS DAN TEKNOLOGI DASAR KESEHATAN

BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN

KEMENTERIAN KESEHATAN RI

2011



LAPORAN PENELITIAN

POLA RESISTENSI BAKTERI *Vibrio cholerae* DARI ISOLAT KLB DIARE
DI KABUPATEN JEMBER DAN BOGOR TAHUN 2010

RISBINKES

Oleh :

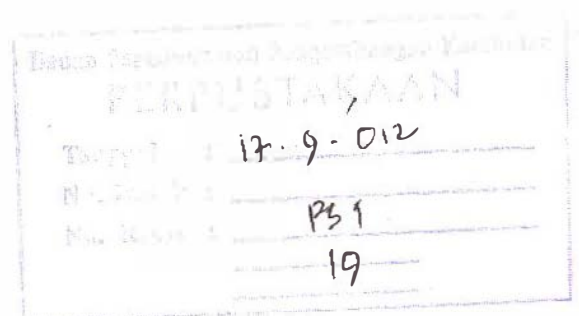
1. Drh. Khariri
2. Dr. Nelly Puspandari
3. Kambang Sariadji, S.Si

PUSAT BIOMEDIS DAN TEKNOLOGI DASAR KESEHATAN

BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN

KEMENTERIAN KESEHATAN RI

2011



Kata Pengantar

Segala puja dan puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan penelitian tahun 2011 yang berjudul **"Pola Resistensi Bakteri *Vibrio cholerae* dari Isolat KLB Diare di Kabupaten Jember dan Bogor Tahun 2010"**.

Penulis menyadari bahwa dalam pelaksanaan penelitian dan penulisan laporan ini tidak terlepas dari bantuan dan dukungan berbagai pihak, oleh karena itu dengan segala kerendahan hati yang tulus pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada :

1. Kepala Badan Litbang Kesehatan yang telah memberikan dukungan institusional dalam pelaksanaan penelitian ini.
2. Kepala Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan yang telah memberikan dukungan fasilitas untuk pelaksanaan penelitian ini.
3. Pembina teknis dan ilmiah yang telah dengan tulus memberikan arahan dan bimbingan selama penyusunan protokol, pelaksanaan sampai penyusunan laporan penelitian ini.
4. Para peneliti di Laboratorium Bakteriologi Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan atas bantuan yang telah diberikan selama pelaksanaan penelitian ini.
5. Litkayasa di Laboratorium Bakteriologi Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan atas bantuan yang telah diberikan selama pelaksanaan penelitian ini.
6. Sekretariat Risbinkes Badan Litbang Kesehatan atas dukungan administrasi yang telah diberikan selama pelaksanaan penelitian ini.
7. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah mendukung penelitian ini.

Penulis menyadari laporan ini masih jauh dari kesempurnaan, untuk itu dengan berbesar hati mengharapkan kritik dan saran yang membangun demi perbaikan laporan ini. Akhirnya penulis berharap semoga hasil penelitian ini bermanfaat bagi semua pihak yang berkepentingan dan juga bagi ilmu pengetahuan.

Jakarta, Desember 2011

Penulis

Abstrak

Penyakit kolera masih menjadi masalah kesehatan yang serius di Indonesia. Penyakit kolera merupakan penyakit infeksi usus kecil yang disebabkan oleh infeksi bakteri *Vibrio cholerae*. Infeksi *Vibrio cholerae* dapat menjadi epidemi atau kejadian luar biasa (KLB). KLB kolera di Indonesia umumnya disebabkan oleh infeksi bakteri *Vibrio cholerae* serogroup O1. Beberapa hasil penelitian menunjukkan adanya resistensi *Vibrio cholerae* terhadap beberapa antibiotik. Untuk penanganan yang lebih baik dan mencegah kematian maka perlu dilakukan evaluasi pola resistensi bakteri *Vibrio cholerae* terhadap beberapa antibiotik untuk pengobatan yang lebih baik.

Telah dilakukan penelitian terhadap isolat KLB diare di Kabupaten Jember dan Kabupaten Bogor tahun 2010. Kegiatan penelitian meliputi identifikasi serogroup dan serotype isolat bakteri *Vibrio cholerae*, mengukur tingkat resistensi terhadap beberapa antibiotik yaitu : Ciprofloxacin, Ceftriaxon, Norfloxacin, Trimethoprim-sulfametoxazol, Tetracyclin, Ampiciline, Chlorampenicol, Gentamisin, Amicasin, Nalidixid Acid, Colistin, Imipenem, Ceftazidime, dan Aztreonam. Data dianalisis secara deskriptif dan analitik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua isolat KLB diare di Kabupaten Jember dan Kabupaten Bogor tahun 2010 termasuk serogroup O1 serotype Ogawa. Hasil uji resistensi menunjukkan tingkat resistensi pada Colistin sebesar 94%, Ampicilin 10% dan Ceftazidime 2%. Pada antibiotik lain tidak menunjukkan terjadi resistensi (0%).

Kata kunci : *Vibrio cholerae*, antibiotik, resistensi.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
KATA PENGANTAR	ii
ABSTRAK	iii
DAFTAR ISI	iv
I. LATAR BELAKANG PENELITIAN	1
II. MANFAAT PENELITIAN	3
III. TUJUAN PENELITIAN	3
a. Tujuan Umum	3
b. Tujuan Khusus	3
IV. METODE PENELITIAN	4
a. Kerangka Konsep Penelitian	4
b. Tempat dan Waktu Penelitian	4
c. Jenis Penelitian	4
d. Populasi Sampel	4
e. Besar Sampel	4
f. Variabel	5
g. Bahan dan Prosedur Kerja	5
h. Alur Kerja	7
i. Analisis Data	8
V. HASIL DAN DISKUSI	8
VI. KESIMPULAN DAN SARAN	16
a. Kesimpulan	16
b. Saran	16
VII. DAFTAR PUSTAKA	17

I. Latar Belakang

Diare adalah buang air besar (defekasi) dengan tinja berbentuk cair atau setengah padat karena kandungan air pada tinja lebih banyak dari biasanya. Menurut WHO (World Health Organization), diare adalah buang air besar encer dan cair lebih dari tiga kali sehari, sementara diare akut adalah diare yang awalnya mendadak dan berlangsung singkat dalam beberapa jam atau hari. Diare akut karena infeksi sering disebabkan oleh bakteri, namun dapat pula disebabkan oleh parasit atau virus. Diare yang disebabkan oleh *Vibrio cholerae* dan biasa disebut dengan kolera terjadi karena enterotoksin yang dihasilkan oleh koloni bakteri tersebut dalam usus kecil. Masa inkubasi infeksi *Vibrio cholerae* umumnya 12 sampai 72 jam. Gejala-gejala yang ditimbulkan meliputi muntah, berak seperti air beras dalam jumlah banyak yang mengakibatkan dehidrasi, kehilangan elektrolit dan naiknya keasaman darah. Pada kasus yang berat, penderita terus menerus buang air besar disertai muntah, sehingga penderita kehilangan cairan serta elektrolit dengan cepat dari saluran pencernaan dan dapat menimbulkan kematian apabila tidak segera ditangani. Angka kematian karena penyakit kolera mencapai 75%.

Penyakit kolera masih dapat menjadi epidemi atau kejadian luar biasa yang menimpa masyarakat suatu daerah yang melebihi perkiraan. Kolera merupakan wabah penyakit yang telah membunuh jutaan manusia di dunia. Menurut Kementerian Kesehatan RI (2004), kejadian luar biasa (KLB) adalah timbulnya atau meningkatnya kejadian kesakitan dan atau kematian yang bermakna secara epidemiologis pada suatu daerah dalam kurun waktu tertentu dan merupakan keadaan yang dapat menjurus pada terjadinya wabah.

Tahun 2003 WHO menerima laporan 11.575 kasus kejadian kolera dari 45 negara dan 1.894 dilaporkan meninggal. Mayoritas kasus kolera tersebut terjadi di sebagian besar negara Afrika. di Indonesia tercatat angka kejadian luar biasa kolera dari tahun 1993-1998 yang sebanyak 9% disebabkan oleh bakteri *Vibrio cholerae* O1. Dari 7 provinsi yang dilaporkan, angka kejadian kolera yang tertinggi adalah daerah Bandung, Garut dan Timika. Sementara pada bulan Juni 2005 menurut Dirjen Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan (P2PL) Kementerian Kesehatan terdapat kejadian luar biasa kolera di daerah Tangerang yang memakan korban 20 orang dari 362 kasus. Data terakhir kejadian luar biasa cholera terjadi di Timika Papua yang menewaskan hampir 108 orang antara bulan April sampai Agustus 2008.

Angka kejadian kasus kolera yang tinggi umumnya terjadi di negara-negara yang sedang berkembang dikarenakan karena belum baiknya higiene, sanitasi serta penyediaan air minum yang memadai. *Vibrio cholerae* banyak ditemui di permukaan air yang terkontaminasi dengan tinja yang mengandung kuman tersebut, sehingga air memegang peran utama dalam terjadinya wabah penularan di daerah pedesaan tempat kolera berjangkit sebagai endemic. Bakteri *Vibrio cholerae* masuk ke dalam tubuh manusia melalui makanan dan minuman. biasanya masuk ke dalam tubuh melalui air minum, makanan laut, atau lainnya yang telah terkontaminasi oleh bakteri tersebut seperti air yang telah terkontaminasi dengan kotoran orang yang terinfeksi.

Vibrio cholerae merupakan anggota dari genus vibrio yang memiliki ciri-ciri bakteri gram negatif yang bersifat anaerob fakultatif, sel berupa batang pendek, berbentuk koma, nonspora, bergerak aktif menggunakan flagella tunggal polar, dapat menyebar secara tidak langsung melalui persediaan air, dan memiliki ukuran panjang 1,5 – 3,0 μm dan lebar kira-kira 0,5 μm . Suhu optimum untuk pertumbuhan *Vibrio cholerae* adalah pada suhu 18–37 ° C. Dapat tumbuh pada berbagai jenis media, termasuk media tertentu yang mengandung garam mineral dan asparagin sebagai sumber karbon dan nitrogen. *Vibrio cholera* tumbuh baik pada agar *thio sulfat citrate bile sucrose* (TCBS), yang menghasilkan koloni berwarna kuning.

Konsumsi makanan padat disertai penggunaan antibiotik sebagai pilihan utama dalam pengobatan dapat membantu penanganan diare. Antibiotik bisa membunuh bakteri dan biasanya akan menghentikan diare. Untuk terapi diare, antibiotik golongan tetrasiklin masih banyak digunakan. Tetapi dari beberapa literatur dilaporkan bahwa antibiotik tetrasiklin telah mengalami resisten terhadap bakteri ini. Berbagai jenis bakteri saat ini semakin pintar menghancurkan kerja antibiotik. Selain itu, bakteri juga mampu menghancurkan mekanisme pertahanan yang seharusnya dipakai antibiotik untuk melawan infeksi. Akibatnya makin banyak bakteri yang meningkat kekebalannya. Untuk mengetahui tingkat resistensi *Vibrio cholerae* maka perlu dilakukan suatu penelitian. Penelitian dilakukan untuk menguji sensitivitas bakteri *vibrio cholerae* terhadap beberapa antibiotik. Informasi mengenai pola resistensi bakteri *Vibrio cholerae* terhadap antibiotik telah banyak dilaporkan, tetapi pola kuman dan resistensinya terhadap antibiotik dapat bervariasi pada tempat dan waktu yang berbeda. Oleh sebab itu diperlukan data terkini pola resistensi. Dengan penelitian ini diharapkan diperoleh data jenis-jenis antibiotik yang masih efektif dalam pengobatan kolera.

II. Manfaat Penelitian

1. Sebagai data awal dalam mengantisipasi Kejadian Luar Biasa (KLB) diare karena infeksi bakteri *Vibrio cholerae*;
2. Sebagai sumbangan kepada masyarakat khususnya tenaga kesehatan dalam memilih antibiotik yang efektif dalam pengobatan infeksi bakteri *Vibrio cholerae*;
3. Sebagai sumbangan terhadap ilmu pengetahuan terkait pola pengobatan terhadap infeksi bakteri *Vibrio cholerae*.

III. Tujuan Penelitian

a. Tujuan Umum :

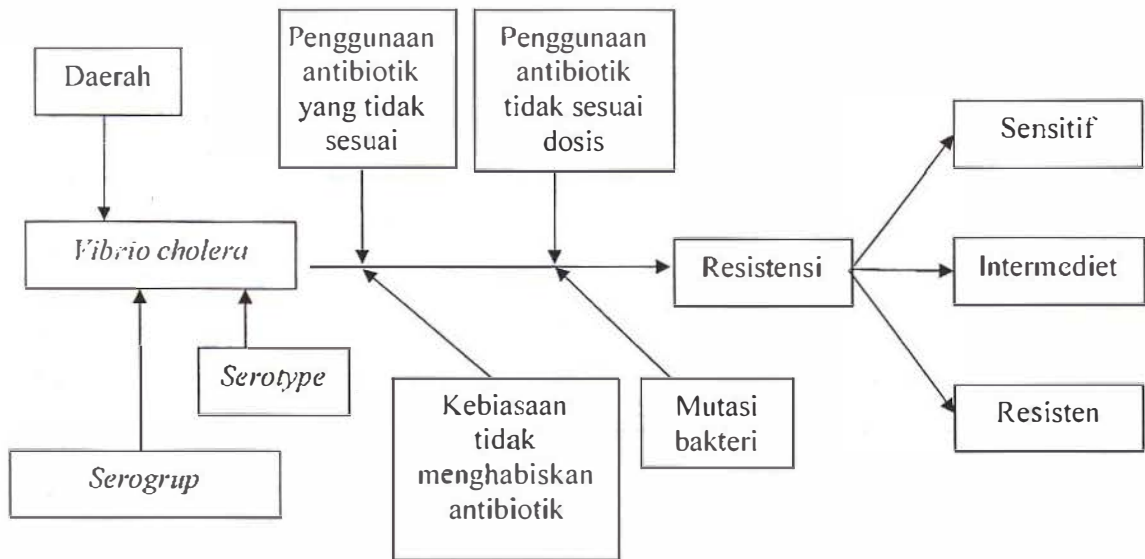
- Menentukan pola resistensi bakteri *Vibrio cholerae* terhadap beberapa antibiotik yang diuji.

b. Tujuan Khusus :

1. Mengidentifikasi serogroup dan *serotype Vibrio cholerae* dari isolat Kejadian Luar Biasa (KLB) diare Jember dan dan Bogor tahun 2010;
2. Mengukur tingkat resistensi *Vibrio cholerae* terhadap beberapa antibiotik berdasarkan asal kabupaten;
3. Menentukan antibiotik yang efektif dalam pengobatan infeksi bakteri *Vibrio cholerae*.

IV. Metode Penelitian

a. Kerangka Konsep Penelitian



b. Tempat Penelitian dan Waktu

Penelitian dilakukan di Laboratorium Bakteriologi, Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan. Waktu penelitian dilakukan selama lima bulan, yaitu pada bulan Juni sampai dengan bulan Oktober 2011.

c. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian laboratorium eksperimental dengan menggunakan arsip sampel.

d. Populasi Sampel

Populasi penelitian ini adalah semua isolat *Vibrio cholera* hasil isolasi Kejadian Luar Biasa (KLB).

e. Besar Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah semua isolat *Vibrio cholera* hasil isolasi Kejadian Luar Biasa (KLB) diare Kabupaten Jember dan Kabupaten Bogor tahun 2010.

f. Variabel

Variabel bebas pada penelitian ini adalah jenis-jenis antibiotik yang terdiri dari empat belas jenis. Variabel terikat pada penelitian ini adalah resisten dan tidak resisten.

g. Bahan dan Prosedur Kerja

Alat dan Bahan

Jarum ose, spatel, scalpel, batang pengaduk, cawan petri, erlenmeyer, hot plate, kapas, effendorf, lemari pendingin, bunsen, lampu UV, pot salep, pinset, pipet mikro, water bath, inkubator, objek glass, sarung tangan powder, mikroskop, plastic biohazard, masker, Rotary shaker inkubator, laminar air flow serta alat gelas standar lainnya.

Sampel, NaCL, peptone, Phosphare Buffer Saline, alcohol 70%, antisera polyvalen *Vibrio cholerae*, antisera ogawa *Vibrio cholerae*, antisera inaba *Vibrio cholerae*, BHI, Mueller Hinton Agar, aquadest steril, tisu, sabun cuci, aluminium foil, gas elpiji, disk antibiotik, antibiotik yang digunakan antara lain Ciprofloxacin, Ceftriaxon, Norfloxacin, Trimethoprim-sulfametoxazol, Tetracyclin, Ampiciline, Chlorampenicol, Gentamisin, Amicasin, Nalidixid Acid, Colistin, Imipenem, Ceftazidine, dan Aztreonam.

Identifikasi Serogroup Bakteri *Vibrio cholerae*

Disiapkan sediaan gelas dan ditetaskan satu tetes antisera polivalen *Vibrio cholerae* terlebih dahulu, kemudian diambil spesimen dengan menggunakan ose dan dicampur dengan antisera yang telah ditetaskan. Kemudian diaduk sambil sediaan gelas digoyang-goyangkan. Dilihat ada tidaknya aglutinasi. Bila terbentuk aglutinasi maka dilanjutkan dengan antisera monovalen ogawa dan inaba.

Identifikasi Serotype Bakteri *Vibrio cholerae*

Satu tetes antisera polivalen *Vibrio cholerae* Inaba dan Ogawa ditetaskan pada kaca objek, lalu ditambahkan salah satu suspensi isolat bakteri yang diduga bakteri *Vibrio cholerae*. Penambahan isolat bakteri dilakukan dengan cara dioleskan satu ose isolat tersebut mulai dari pinggir tetesan antisera monovalen *Vibrio cholerae*, lalu diaduk dan amati terbentuknya aglutinasi. Terbentuknya aglutinasi ditandai dengan pembentukan endapan berupa pasir halus. Bila terbentuk aglutinasi hal ini

menandakan bahwa uji positif dan kultur dapat dinyatakan sebagai kultur bakteri *Vibrio cholerae*. Uji dikatakan positif *serotype* Inaba, Ogawa dan Hikojima bila :

<i>Serotype V. Cholerae</i> O1	Aglutinası	
	Antisera Ogawa	Antisera Inaba
Ogawa	+	-
Inaba	-	+
Hikojima	+	+

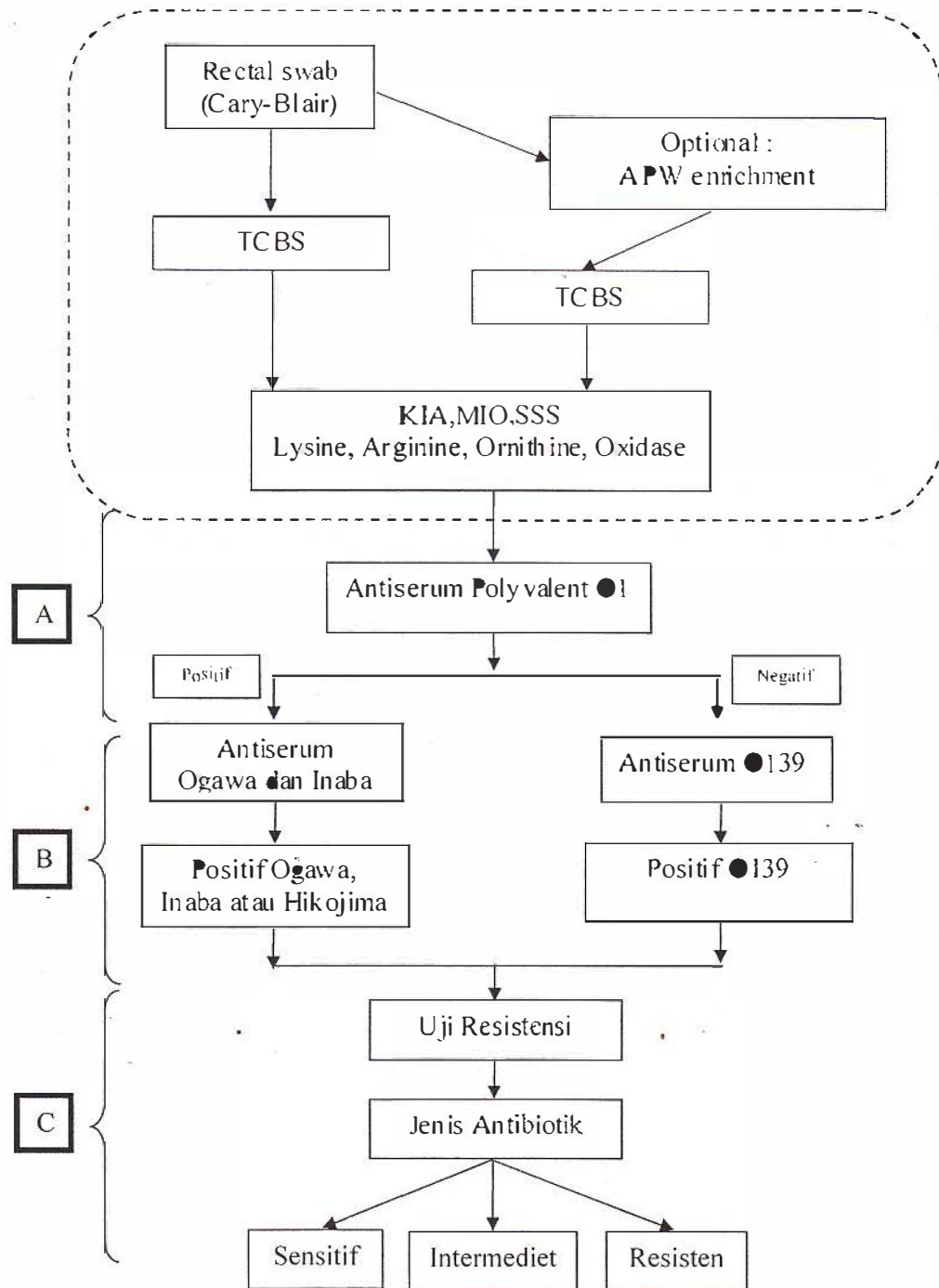
Uji Resistensi Bakteri *Vibrio cholerae* Terhadap Antibiotik

Uji resistensi terhadap antibiotik dilakukan terhadap kultur bakteri *Vibrio cholerae* yang diisolasi dilakukan dengan Disk Diffusion Method dari Kirby Bauer (1966) dan zona yang terbentuk dicatat dan diinterpretasikan berdasarkan *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests* dari National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 1976). Antibiotik yang digunakan antara lain ciprofloxacin, ceftriaxon, norfloxacin, trimethoprim- sulfametoxazol, tetracyclin, ampiciline, chloramphenicol, gentamisin, Amicasin, Nalidixid Acid, Colistin, Imipenem, Ceftazidine, dan Aztreonam.

Biakan murni yang telah diremajakan dalam media LB Broth, diambil dengan kapas lidi yang telah disterilisasi, lalu diinokulasikan pada media Mueller Hinton Agar dengan cara dioleskan secara merata di atas permukaan media tersebut. Disk antibiotik kemudian diletakkan secara hati-hati di atas biakan bakteri tersebut lalu ditekan perlahan dengan pinset steril supaya benar-benar kontak dengan bakteri uji, jarak disk dengan tepi cawan petri adalah 15 mm dan jarak antar disk antibakteri adalah 24 mm lalu biakan tersebut diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Diameter daerah hambatan diukur dan dibandingkan terhadap tabel standar antibiotik. Persentase resistensi bakteri *Vibrio cholerae* dihitung terhadap setiap jenis antibiotik dengan menggunakan persamaan:

$$\text{Persentase isolat yang resisten} = \frac{\text{Jumlah kultur yang resisten}}{\text{Jumlah kultur yang di uji}} \times 100\%$$

h. Alur Kerja



Keterangan :

----- = tidak dilakukan penelitian

A = identifikasi spesies *Vibrio cholerae*

B = identifikasi serotype *Vibrio cholerae*

C = Uji resistensi *Vibrio cholerae*

i. Manajemen dan Analisis Data

Data akan dianalisis secara deskriptif dan analitik.

V. Hasil dan Pembahasan

Hasil uji serologi dari semua isolat menunjukkan bahwa bakteri tersebut termasuk *Vibrio cholerae* O1. Uji serologi dengan antisera monovalen menunjukkan bahwa semua isolat tersebut *Vibrio cholerae* O1 Ogawa.. *Vibrio cholerae* terdiri dari tiga serogroup yaitu *Vibrio cholerae* O1, *Vibrio cholerae* non O1 dan *Vibrio cholerae* O139. *Vibrio cholerae* O1 yang memberikan reaksi aglutinasi dengan antiserum O1 dan *Vibrio cholerae* non-O1 yang tidak memberi reaksi aglutinasi dengan antiserum O1. *Vibrio cholerae* spesies O1 terdiri dari tiga *serotype* yaitu Ogawa, Inaba dan Hikojima. Hasil uji resistensi bakteri *Vibrio cholerae* terhadap empat belas jenis antibiotik ditampilkan pada tabel 1 dan tabel 2 dibawah ini.

Tabel 1. Hasil uji resistensi

No	Nama Antibiotik	Jember (N=17)			Bogor (N=21)			Total (N=38)		
		R	I	S	R	I	S	R	I	S
1	Ciprofloxacin	0	0	17	0	0	21	0	0	38
2	Colistin	15	2	0	21	0	0	36	2	0
3	Ceftriaxone	0	12	5	0	0	21	0	12	26
4	Amikasin	0	11	6	0	0	21	0	11	27
5	Ceftazidime	1	0	16	0	0	21	1	0	37
6	Norfloxacin	0	0	17	0	0	21	0	0	38
7	Trimethoprim-Sulfamethoxazole	0	0	17	0	0	21	0	0	38
8	Chloramphenicol	0	0	17	0	0	21	0	0	38
9	Imipenem	0	0	17	0	0	21	0	0	38
10	Nalidixic Acid	0	0	17	0	0	21	0	0	38
11	Ampicilin	4	11	2	0	15	6	4	26	8
12	Gentamycin	0	2	15	0	0	21	0	2	36
13	Tetracyclin	0	0	17	0	0	21	0	0	38
14	Aztreonam	0	15	2	0	0	21	0	15	23

Tabel. 2. Persentase hasil uji resistensi

No	Nama Antibiotik	Total (N=38)			Persentase (%)		
		R	I	S	R	I	S
1	Ciprofloxacin	0	0	38	0	0	100
2	Colistin	36	2	0	94	5	0
3	Ceftriaxone	0	12	26	0	31	68
4	Amikasin	0	11	27	0	28	71
5	Ceftazidime	1	0	37	2	0	97
6	Norfloxacin	0	0	38	0	0	100
7	Trimethoprim-Sulfamethoxazole	0	0	38	0	0	100
8	Chloramphenicol	0	0	38	0	0	100
9	Imipenem	0	0	38	0	0	100
10	Nalidixic Acid	0	0	38	0	0	100
11	Ampicilin	4	26	8	10	68	21
12	Gentamycin	0	2	36	0	5	94
13	Tetracyclin	0	0	38	0	0	100
14	Aztreonam	0	15	23	0	39	60

Berdasarkan hasil penelitian, hampir semua isolat bakteri *Vibrio cholerae* menunjukkan hasil yang sensitif terhadap semua jenis antibiotik yang diuji dalam penelitian ini kecuali pada antibiotik Colistin menunjukkan sifat resistensi yang tinggi sebesar 94%. Hasil uji resistensi pada antibiotik Ampicilin menunjukkan resisten sebesar 10% dan antibiotik Ceftazidime sebesar 2%.

Ketika suatu antibiotik pertama kali digunakan untuk terapi, terbentuknya resistensi pada bakteri sangat jarang terjadi. Resistensi pada bakteri akan menjadi masalah setelah pemakaian antibiotik secara luas menuntun ke arah skrining bakteri yang rentan pada suatu populasi, namun jumlah bakteri yang resisten terhadap suatu antibiotik dapat bertambah dengan bebas jika penggunaan tidak terkontrol. (Pelczar, 1988). Resistensi bakteri *Vibrio cholerae* yang cukup tinggi terhadap antibiotik disebabkan karena antibiotik ini sering diresepkan untuk pasien diare, terutama pada anak-anak. Penyebab lain adalah resistensi terjadi sebagai hasil mutasi oleh kendali genetik dari plasmid yang dapat ditransfer dan disebarluaskan. Mutasi menyebabkan produksi PABA (Para Amino Benzoic Acid) berlebihan sehingga Sulfametoksazol kalah bersaing dengan PABA untuk diikutsertakan dalam pembentukan asam folat. Resistensi terjadi karena adanya perubahan struktur enzim folat sintetase dengan penurunan afinitas terhadap sulfonamid atau kehilangan permeabilitas (Katzung, 1997).

Para peneliti dari Universitas New York mengatakan beberapa bakteri patogen bisa menghasilkan semacam nitric oxide yang memproduksi enzim yang membuatnya jadi

resisten terhadap antibiotik. Selanjutnya, bakteri yang kebal itu dengan cepat berkembang biak dan menghasilkan koloni baru dan makin sulit dilumpuhkan. Terjadinya resistensi bakteri terhadap antibiotik disebabkan oleh banyak faktor antara lain kesalahan penggunaan obat seperti penggunaan obat yang tidak sesuai dengan indikasi penyakit, aturan pakai yang tidak tepat dan penggunaan obat yang tidak dihabiskan. Resistensi dapat juga disebabkan karena terjadinya mutasi pada bakteri itu sendiri.

Dari empat belas jenis antibiotik yang diuji sifat resistensinya terhadap bakteri *Vibrio cholerae*, antibiotik Ciprofloxacin, Ceftriaxone, Norfloxacin, Trimethoprim-sulfametoxazol, Tetracyclin, Chlorampenicol, Gentamisin, Amikasin, Nalidixid Acid, Imipenem, dan Aztreonam menunjukkan tidak adanya resistensi yang terjadi (0%). Antibiotik Ceftazidime meskipun menunjukkan adanya resistensi tetapi nilainya sangat rendah (2%), sedangkan antibiotik Ampicilin menunjukkan tingkat resistensi sedikit lebih tinggi (10%). Tingkat resistensi yang sangat rendah dapat dipahami karena penggunaan beberapa jenis antibiotik tersebut jarang digunakan untuk penanganan kasus diare kolera. Kloramfenikol adalah obat pilihan untuk bakteri *Salmonella thypi* penyebab demam tipoid. Disini penggunaan kloramfenikol harus hati-hati karena efek sampingnya terhadap ginjal. Berdasarkan hasil penelitian ini, kloramfenikol dapat dijadikan obat alternatif lain untuk terapi kolera yang disebabkan oleh *V. cholerae* (Rahim, 1992).

Kloramfenikol dapat dijadikan alternatif lain dalam terapi kolera, hal ini didukung oleh hasil penelitian Rahim di Bangladesh (Rahim et al, 1992). Diperkuat lagi oleh penelitian ini yang menunjukan bahwa kloramfenikol memiliki tingkat resistensi yang rendah (0%). Keefektifan terjadi karena enzim peptidil transferase yang berperan sebagai katalisator untuk membentuk ikatan-ikatan peptida pada proses sintesa protein bakteri mampu dihambat oleh kloramfenikol. Sifat resistensi terhadap kloramfenikol dapat muncul bila bakteri mampu membentuk enzim kloramfenikol asetil transferase yang mampu merusak aktifitasnya. Produksi enzim ini dikontrol oleh suatu plasmid.

Pada umumnya resistensi yang dialami bakteri dikendalikan oleh plasmid bakteri itu sendiri. Plasmid merupakan suatu elemen genetik (DNA-Plasmid) yang terpisah dari DNA kromosomal. Plasmid mengandung faktor R yang dapat ditularkan ke bakteri lainnya. Faktor R ini terdiri dari dua unit, yaitu unit-r dan segmen RTF (*Resistance Transfer Factor*). Unit-r membawa sifat resistensi terhadap satu antibiotik maka berbagai unit-r yang terdapat pada faktor R akan membawa sifat resistensi terhadap berbagai

antibiotik sekaligus. RTF bertugas memindahkan unit-r tersebut sehingga sifat resistensi dapat ditularkan ke bakteri lain (Ganiswara dkk, 1995).

Rendahnya tingkat resistensi terhadap antibiotik menunjukkan bahwa antibakteri golongan tersebut dapat dijadikan sebagai alternatif lain dalam terapi kolera. Hal ini disebabkan antibiotik menghambat kerja enzim DNA girase bakteri pada saat replikasi dan transkripsi. Resistensi terhadap asam nalidixat tidak disebabkan oleh plasmid, namun terjadi akibat mekanisme mutasi pada DNA atau membran sel bakteri (Ganiswara, 1995).

Antibiotik Ampicilin masih cukup sensitif untuk bakteri *Vibrio Cholerae* hasil isolasi dari limbah rumah sakit ini, terbukti hanya 10 % bakteri yang mengalami resisten. Diduga penggunaan gentamisin masih jarang sebagai terapi diare. Penyebab resistensi terhadap gentamisin menurut Mhalu adalah akibat kemampuan bakteri menghasilkan enzim yang dikenal dengan enzim aminoglycoside-N-asetiltransferase (AATs). Enzim ini dapat mengkatalis pemindahan gugus asetil dari gentamisin (Mhalu, 1997).

Dari hasil penelitian ditunjukkan bahwa tidak satupun kultur bakteri *Vibrio cholerae* yang menunjukkan sifat resistensi terhadap Ciprofloxacin, Ceftriaxone, Norfloxacin, Trimethoprim-sulfametoxazol, Tetracyclin, Chloramphenicol, Gentamisin, Amikasin, Nalidixid Acid, Imipenem, dan Aztreonam, namun beberapa jumlah kultur bakteri yang termasuk dalam kelompok intermediet terhadap antibiotik disebabkan terjadinya penyempitan spektrum antibiotik tersebut. Kemungkinan hal ini terjadi karena plasmid pembawa resistensi tersebar luas terutama di lingkungan rumah sakit dan membawa lebih dari 20 kode enzim yang bertanggung jawab terhadap penyempitan spektrum kanamisin (Ganiswara, 1995). Penggunaan antibiotik yang masuk kategori intermediet harus hati-hati, karena pemakaian yang salah akan menyebabkan antibiotik tersebut tidak sensitif lagi digunakan pada bakteri target dan berubah menjadi resisten.

Tingkat resistensi yang rendah terhadap antibiotik menunjukkan bahwa antibakteri golongan tersebut dapat dijadikan sebagai alternatif dalam terapi kolera. Resistensi antibiotik dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti kebiasaan tidak menghabiskan antibiotik, penggunaan antibiotik yg tidak sesuai indikasi, terjadinya mutasi bakteri dan juga daerah asal bakteri.

Mekanisme resistensi dapat disebabkan oleh hal-hal berikut :

1. Perusakan enzimatis atau inaktivasi antibiotik

Destruksi atau inaktivasi oleh enzim merupakan cara utama dalam merusak antibiotik yang terdapat secara alami di alam seperti penisilin dan sefalosporin. Kelompok

antibiotik sintetik tidak dihambat oleh mekanisme enzimatik (quinolon). Penisilin, sefalosporin dan carbapenems memiliki struktur cincin kimia yang sama, dan merupakan target dari enzim β -lactamase. Enzim β -lactamase akan menghidrolisis cincin β -lactam antibiotik sehingga antibiotik kehilangan aktivitasnya. Lebih dari 200 macam enzim β -lactamase telah diketahui. Resistensi yang pertama kali ditemukan adalah antibiotik metisilin pada bakteri *Staphylococcus aureus* (MRSA). Bakteri MRSA tersebut juga resisten terhadap antibiotik. Bakteri MRSA dapat ditangani oleh antibiotik baru seperti vankomisin walaupun mekanisme hambatnya berbeda dengan penisilin.

β -lactamase dapat dikelompokkan sebagai berikut yaitu kelompok 1 sefalosporinase dimana asam klavulanat inhibitor β -lactamase memiliki aktivitas yang lemah, kelompok 2 penisilinase sensitif asam klavulanat dan perluasan spektrum β -lactamase, kelompok 3 metalo- β -lactamase dan kelompok 4 β -lactamase lain yang secara lemah sensitif terhadap asam klavulanat. Esterase makrolida, seperti EreA dan EreB, menginaktivasi makrolida dengan memotong ester makrolida.

Kelompok enzim transferase (fosfotransferase, nukleotidiltransferase, asetiltransferase, tioltransferase, ADP-ribosiltransferase, dan glikosiltransferase) merupakan kelompok besar enzim pemodifikasi. Fosfotransferase mengkatalisis perpindahan gugus fosfat pada substrat. Aminoglikosida fosfotransferase (APH) mengubah lebih tinggi tingkat resistensi daripada aminoglikosida asetiltransferase (AAC) atau aminoglikosida nukleotidiltransferase (ANT). Enzim pemodifikasi aminoglikosida dapat ditemukan lebih dari satu pada suatu pejamu. Resistensi kloramfenicol dilakukan oleh enzim kloramfenikol asetiltransferase yang tersebar pada semua bakteri patogen.

2. Menghalangi masuknya antibiotik ke situs target

Bakteri gram negatif secara relatif lebih resisten terhadap antibiotik karena komposisi dinding selnya yang menghalangi penyerapan molekul melalui porin. Antibiotik yang memerlukan protein porin untuk masuk ke periplasma adalah β -lactam, kloramfenikol, fluoroquinolon. Beberapa bakteri mutan memodifikasi porin sehingga antibiotik tidak dapat masuk ke membran periplasma dan antibiotik tetap berada diluar sel. Bakteri mutan memodifikasi porin dengan cara mengurangi jumlah porin atau mereduksi ukuran pori. Membran terluar *Pseudomonas aeruginosa* memiliki permeabilitas yang rendah terhadap molekul hidrofobik sehingga terjadi resistensi terhadap fluoroquinolon. Resistensi imipenem pada *Pseudomonas aeruginosa* disebabkan oleh tidak adanya pori \bullet prD akibat paparan terhadap antibiotik tersebut. Organisme yang resisten akibat

berkurangnya porin adalah *Serratia marcescens*, *E. coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*.

3. Perubahan situs target antibiotik

Sintesis protein melibatkan pergerakan ribosom pada untai mRNA. Beberapa antibiotik, terutama aminoglikosida, tetrasiklin, dan kelompok makrolida, menghambat sintesis protein pada situs tersebut. Sedikit perubahan pada situs tersebut akan menetralkan efek antibiotik tanpa memengaruhi fungsi seluler. MRSA yang pertama ditemukan bukan karena adanya enzim yang menginaktivasi penisilin tetapi adanya perubahan dari penisilin binding protein (PBP). β -lactam akan berikatan dg PBP untuk menginisiasi hambatan pembentukan peptidoglikan. MRSA menjadi resisten karena adanya perubahan PBP. Perubahan PBP tersebut tdk memengaruhi sintesis dinding sel bakteri.

Contoh resistensi akibat perubahan situs aktif adalah pada bakteri *Streptococcus pneumoniae* karena perubahan PBP. *S. pneumoniae* memiliki enam PBP dimana ketika terjadi mutasi titik yang berakibat pada resistensi terhadap β -lactam. Perubahan PBP pada *S. pneumoniae* adalah karena bakteri tersebut dapat mengambil DNA dari lingkungan. Protein yang berperan dalam pengambilan DNA tersebut adalah competence stimulating peptide (CSP). Semakin banyak PBP yang berubah akan semakin resisten bakteri tersebut terhadap obat β -lactam.

Pada bakteri *E. faecium* dan *Enterococcus faecalis* terdapat resistensi terhadap glikopeptida karena adanya operon yang mengkode enzim untuk memodifikasi prekursor peptidoglikan D-ala-D-laktat (tipe resistensi VanA, VanB, dan VanD) atau D-ala-D-ser (tipe resistensi VanE dan VanG). Bakteri *S. aureus* resisten vankomisin tidak disebabkan oleh gen *van* tetapi karena sintesis dinding sel yang lebih tebal untuk menjebak vankomisin sehingga jumlah antibiotik yang mencapai transglukosilase pada sitoplasma menjadi berkurang.

Makrolida, linkosamida, dan streptogramin B berperan dengan mengikat subunit ribosom 50S sehingga menghambat sintesis protein. Resistensi terhadap antibiotik ini terjadi karena metilasi pada residu adenin 23s rRNA oleh metiltransferase yang dikode gen *erm*. Penambahan gugus metil mengurangi afinitas antibiotik terhadap rRNA. Metilasi pada 16S rRNA oleh kelompok metilase R-Mt atau ArmA mempertinggi tingkat resistensi terhadap aminoglikosida.

Mekanisme resistensi terhadap fluoroquinolon adalah perubahan target yaitu DNA girase dan topoisomerase IV. Mutasi pada subunit enzim tersebut menghambat fiksasi quinolon pada kompleks DNA-enzim yang dikenal sebagai quinolon resisten determining region (QRDR). Tingkat resistensi dapat berubah karena pengaruh mutasi pada kedua enzim tersebut yang bergantung pada spesies bakteri dan quinolon. Mekanisme resistensi lain dimediasi oleh plasmid yang mengandung gen *qnr* (quinolon resisten). Produk gen *qnr* melindungi enzim girase dan topoisomerase IV dari quinolon dengan mengikat kedua enzim tersebut secara langsung. Antibiotik rifamisin memiliki target RNA polymerase yang dikode oleh gen *rpoB*. Mutasi pada gen akibat mutasi titik, insersi dan delesi mengakibatkan resistensi terutama pada residu 507 dan 534. Mutasi *rpoB* telah dideteksi terdapat pada organisme *Mycobacteria*, *S. pneumoniae*, *S. aureus*, and *Neisseria meningitidis*.

4. Efluk atau pengeluaran antibiotik

Beberapa protein pada membran plasma gram negatif berperan sebagai pompa yang mengeluarkan antibiotik sehingga mencegah antibiotik mencapai konsentrasi efektif. Mekanisme tersebut pertama kali ditemukan pada antibiotik tetrasiklin. Bakteri secara normal memiliki banyak pompa efluk untuk mengeliminasi substansi toksik. Pompa efluk memiliki spesifitas yang sempit (tetrasiklin) dan luas sehingga menghasilkan multidrug resisten (MDR). Pompa untuk efluk antibiotik tertentu dibawa oleh plasmid, sedangkan MDR terdapat pada kromosom bakteri. Saat ini terdapat 5 kelompok sistem efluk yaitu: major facilitator superfamily (MFS), ATP-binding cassette (ABC), resistancenodule-cell division (RND), small multidrug resistance (SMR) dan multidrug dan toxic compound extrusion (MATE).

Sistem efluk obat tjd dg dg kondisi membutuhkan energi (hidrolisis ATP) atau mekanisme ion antiport (MFS, RND, SMR, dan MATE). Ekpresi protein multidrug transporter umumnya dikendalikan oleh protein regulator spesifik. Resistensi antibiotik pada mutan efluk karena overekspresi pompa endogenous atau mutasi pada pompa sehingga meningkatkan kemampuan transpor protein tersebut. Kelompok ABC umumnya memediasi transpor obat tertentu dan juga berperan sbg transporter obat sekunder yg secara umum berperan dlm resistensi thd banyak antibiotik.

Pompa terhadap tetrasiklin adalah kelompok MFS yang ditemukan pada gram negatif dan Gram positif. Gen efluk *tet* mengkode protein membran yang mengurangi konsentrasi obat dalam sel sehingga melindungi ribosom. Gen *tet* dapat ditemukan pada

plasmid. Efluk terhadap makrolida dipengaruhi oleh gen *mef* pada *S.pneumoniae* dan *Streptococcus pyogenes*. Gen *msr* dideteksi pada *Staphylococcus* dan *E. faecium* yang dapat mengeluarkan makrolida atau streptogramin. Efluk kloramfenikol juga dipengaruhi oleh gen *cmlA* yang tersebar pada bakteri gram negatif.

Resistensi terhadap suatu antibiotika merupakan permasalahan yang serius dalam penanggulangan penyakit yang disebabkan oleh bakteri. Hampir dari waktu ke waktu resistensi antibiotik mengalami peningkatan untuk beberapa jenis bakteri tertentu. (Levy, 1998). Brooks *dkk* (1998) menyatakan sebuah garis besar resistensi bakteri terhadap antibiotik terdiri atas dua cara, yaitu:

A. Resistensi di luar faktor kromosom (*non genetic origin*)

Munculnya resistensi ini tidak dipengaruhi oleh genom. Resistensi dapat timbul sebagai akibat beberapa faktor seperti :

1. Sebagian besar obat antibiotik bekerja membunuh bakteri pada saat bakteri tersebut melakukan pembelahan, ketika bakteri tidak sedang melakukan pembelahan secara otomatis siklus metabolismenya menjadi tidak aktif, akibatnya obat tidak akan efektif.
2. Bakteri dapat menghilangkan struktur target spesifik obat untuk beberapa generasi bakteri, sebagai contoh adalah bakteri yang sensitif terhadap penisilin/sefalosporin akan menghilangkan bentuk L (*L form*) dinding sel selama pemberian antibiotik; hilangnya dinding sel akan menghilangkan aktivitas penisilin dan sefalosporin yang dikenal sebagai antibiotik penghambat pembentukan dinding sel bakteri, sifat tersebut ternyata dapat diturunkan sampai beberapa generasi.
3. Bakteri dapat menginfeksi sisi yang tidak dapat dijangkau oleh antibiotik. Sebagai contoh gentamisin, antibiotika ini tidak membunuh *Salmonella* ketika bakteri ini berada di dalam sel karena gentamisin tidak dapat masuk ke dalam sel.

B. Resistensi karena pengaruh kromosom dan materi genetik lainnya (*genetic origin*)

1. Resistensi kromosomal

Sifat resistensi yang timbul karena pengaruh kromosom dapat terjadi sebagai akibat mutasi spontan pada lokus yang mengontrol sifat sensitifitas obat. Mutasi spontan terjadi dengan frekuensi 10^{-2} sampai 10^{-7} . Mutasi juga dapat menghilangkan *peniciling binding proteins* (PBPs) yang menimbulkan sifat resistensi terhadap antibiotik golongan β -laktam.

2. Resistensi ekstrakromosomal

Beberapa materi genetik di luar kromosom diketahui menjadi faktor penyebab terjadinya resistensi. Plasmid adalah salah satu contoh materi genetik yang dimaksud, plasmid dapat membawa gen-gen resisten (*R factor*) terhadap salah satu atau lebih antibiotik. Watson *dkk* (1987) menyatakan bahwa plasmid dapat membawa gen-gen resisten serta dapat dipindahkan dari satu bakteri ke bakteri lain melalui proses transduksi, transformasi, dan konjugasi.

VI. Kesimpulan dan Saran

a. Kesimpulan

- Semua isolat yang dilakukan pengujian dalam penelitian ini merupakan serogroup O1 dan serotype Ogawa.
- Sebagian besar jenis antibiotik yang digunakan dalam penelitian ini masih dapat digunakan untuk pengobatan kolera karena tingkat resistensinya yang rendah kecuali Colistin yang telah menunjukkan tingkat resistensi yang sangat tinggi yaitu 94%.
- Antibiotik yang saat ini masih digunakan untuk pengobatan diare kolera di Indonesia adalah Tetrasiklin.

b. Kesimpulan

- Perlu sampel yang lebih besar agar dapat digunakan untuk mewakili sentinel.
- Uji resistensi perlu dilakukan secara berkala untuk dapat memantau pola resistensi terhadap bakteri *Vibrio cholerae*.

VII. DAFTAR PUSTAKA

1. Bhuiyan NA, Qadri F, Faruque, Malek MA, Salam MA, Nato F. American Society for Microbiology : Use of Dipsticks for Rapid Diagnosis of Cholera Caused by *Vibrio cholerae* O1 and O139 from Rectal Swabs. 2003.
2. Direktur Jenderal Pemberantasan Penyakit dan Penyehatan Lingkungan Departemen Kesehatan RI. Laporan Hasil Investigasi KLB Diare di Kabupaten Nabire dan Kabupaten Paniai. 2008.
3. Faruque SH, Albert MJ, Mekalanos. American Society for Microbiology : Epidemiology and Ecology of Toxigenic *Vibrio Cholerae*. 1998.
4. Jawetz, Melnick, and Adelberg. Mikrobiologi Kedokteran. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC; 2004.
5. Nato F, Boutonnier A, Rajerison , et al . American Society for Microbiology : One Step Immunochromatographic Dipstick Tests For Rapid Detection. 2003.
6. Pelczar J.M . Dasar-Dasar Mikrobiologi. Jakarta : Universitas Indonesia; 2005.
7. Rahman M, David A, Mahmood S, Hossaini A. American Society for Microbiology: Rapid Diagnosis of Cholera by Coagglutination Test Using 4-h Fecal Enrichment Cultures. 1987; 25:4-2206.
8. Rohani MY, Hasinidah, Sand MBB. Evaluation of the Cholera Spot Test : a chromatographic immunoassay for the rapid detection of Cholera antigen, Bacteriology Division, Institute for Medical Research. Malaysia : Kuala Lumpur and Malaysia Bio-Diagnostic; 1998.
9. Simanjuntak CH, Larasati W, Arjoso S, et al. The American Society of Tropical Medicine and Hygiene : Cholera in Indonesia in 1993-1999. Jakarta : NIHRD and NAMRU 2; 2001
10. Sokhey SS, Habbu MK. Antigenic Structure of The *Vibrio Cholerae* and Protective Power of The Vaccine. World Health Organization; 3: 55-56.
11. Soemarsono H. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. Jakarta : Balai Penerbit FKUI; 1996.
12. University Sains Malaysia. Cholera DNA Rapid : Single Tube DNA Test for rapid *Vibrio cholerae* Detection. Malaysia: Kelantan ; 2009.
13. Wang XY, Ansaruzzaman M, Raul Vaz, et al. BMC Infectious Diseases: Field evaluation of a rapid immunochromatographic dipstick test for the diagnosis of cholera in a high-risk population. Journal List BMC. 2006; 26.
14. Safa, S., Sultana, J., Cam, P. D., Mwansa J. C., Kong, R. Y. C. *Vibrio cholerae* O1 Hybrid El Tor Strains, Asia and Africa. 2008; 4(6): 2008.

15. Petroni, A. Plasmidic Extended-spectrum β -Lactamases in *Vibrio cholerae* O1 El Tor Isolates in Argentina. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2002; 46(5): 1462-1468.
16. Villalpando-Guzman, S., M.G, Eusebio-Hernandez.. and D. Aviles-Ruiz. Detection of *Vibrio cholerae* O1 in Oysters by the Visual Colorimetric Immunoassay and the Culture Technique, *Revista Latinoamericana de Microbiologia*. 2000: 42: 63-68.
17. Marlina, Almasdy, D, Aufa I. Deteksi Gen *ctx* pada Bakteri *Vibrio cholerae* Isolat Limbah Cair Rumah Sakit dan Uji Resistensinya Terhadap Beberapa Antibiotik. Padang : Universitas Andalas; 2007.

Katzung, B.G., *Basic and Clinical Pharmacology* Ed VI, alih bahasa staf dosen Farmakologi Fakultas Kedokteran Unsri, editor H Azwar Agoes, EGC, Jakarta, 1997.

Rahim, Z., and K.M, Aziz., Isolation of Enterotoxigenic *Vibrio cholerae* Non-O1 from The Buringanga River and two ponds pf Dhaka, Bangladesh, *J Diarrhoeal Dis Res*, Vol. 10 No.4, 227-230, 1992

Ganiswarna. G.S., R. Setiabudy., F.D. Suyatna., Purwastyastuti dan Nafrialdi., *Farmakologi dan Terapi*, UI-Press, Jakarta, 1995.

Mhalu, F.S., Mmari, P.W., and Ijumba, J., "Rapid Emergence of El Tor *Vibrio cholerae* Resistant to Antimicrobial Agent during First Six Month of fourth Cholera Epidemic in Tanzania", *Lancet*, Vol. 8112 No.1, 345-347, 1997