

METODE PENGKAJIAN RESISTENSI OBAT PADA *ESCHERICHIA COLI* DAN TRANSFER R PLASMID

oleh

Sumadi, Kamalludin Zarkasie
dan Istiyaningsih

Pada tahun 1885—1886 Escherich melukiskan suatu organisme yang diberi nama *Bacterium coli commune* diidentifikasi terdapat di dalam feces bayi yang baru lahir. Kemudian organisme diketahui sebagai *Bacterium coli* dan lebih dikenal sebagai *Escherichia coli*. *Escherichia coli* ini secara normal hidup di dalam usus Vertebrata termasuk manusia, bertambahnya jumlah *Escherichia coli* merupakan pertanda terjadinya gangguan kesehatan. (1)

Escherichia coli adalah organisme dalam usus yang dapat merugikan dan tersebar luas pada mammalia dan burung. Bakteri ini adalah patogen pada orang dan hewan yang menyebabkan infeksi septic dan diarrhae. Infeksi *Escherichia coli* pada manusia sangat umum dan infeksi septic yang penting adalah infeksi pada saluran kencing yang meliputi pyelonephritis dan cystitis yang dapat terjadi secara akut, kronis atau pun recurent serta dapat pula menyebabkan "bacillary dysentery" baik pada orang dewasa maupun anak. Sedangkan infeksi pada hewan dapat menyebabkan (1) "cholera like diseases" yang akut pada hewan muda, termasuk gastro — enteritis dan diarrhae pada anak babi dan anak domba, (2) "Oedema disease" pada anak babi yang secara mendadak mati dengan pembengkakan pada berbagai organ perut. (12)

Telah didemonstrasikan pula terjadinya penyebaran *Escherichia coli* resisten dari ayam ke manusia (7) dan dari pedet ke manusia (5)

Plasmid terdiri dari molekul sirkuler DNA yang mana turunannya sedikit bebas dari chromosome bakteri. Plasmid diperoleh di dalam cytoplasma dan dapat dipindahkan dari bakteri satu ke bakteri lain melalui kontak (konjugasi) atau dengan transduksi. Plasmid mempunyai ukuran kira-kira 0,6—200 megadalton, biasanya diisolasi dari bakteri dengan reagent penghancur yang dapat menimbulkan presipitasi yang selektif terhadap "membrane associated DNA". Plasmid ini dapat dipisahkan dan diukur dengan elektroforesis di dalam gel agarose. Kode plasmid untuk resistensi antibiotik pada Enterobacteriaceae diberi istilah "R (resistance) factor" (4)

Strain Toxigenic dari *Escherichia coli* dibedakan menjadi 2 macam yaitu "heat stable (ST)" dan "heat labile (LT)". Kedua macam toxin ini bisa terdapat pada plasmid secara bersama-sama atau secara terpisah. Sherman dkk telah mendapatkan bahwa plasmid ST—LT dari orang atau babi mempunyai berat molekul yang kira-kira sama (55—60 megadalton) tetapi berat molekul plasmid ST sangat bervariasi. (4)

MATERI DAN METODE

Isolasi:

Untuk pengkajian resistensi obat pada *Escherichia coli* dapat dipakai sampel faeces dari hewan yang ada di lapangan. Faeces diinokulasi pada media Deoxycholate — hydrogen sulphate

— lactose (DHL-Eiken) dan diinkubasikan pada 37°C selama 18 jam, setelah diperoleh koloni diduga *Escherichia coli*, diuji terhadap pereaksi biokimiawinya. Untuk keperluan itu harus diketahui pereaksi dasar dengan menginokulasi media TSI, SIM, citrat, urease dan VP — MR. Strain *Escherichia coli* yang didapat di stock pada media Nutrient agar soft dan disimpan pada 4°C sampai akan di uji terhadap kemungkinan terjadinya resistensi.

Media untuk uji Resistensi:

Dalam uji Resistensi ini dipakai media Heart Infusion Agar (HIA, Difco) dan Muller — Hinton agar (Difco) sesuai dengan macam obat/antibiotik yang dipakai. Nutrient broth (NB, Eiken) dipakai untuk penyubur biakan, Deoxycholate-hydrogen sulphate-lactose (DHL, Eiken) dipakai sebagai medium dasar untuk Isolasi *Escherichia coli*

Obat:

Berbagai obat dapat diuji terhadap terjadinya resistensi seperti oxytetracycline hydrochloride (TC), chloramphenicol (CP), dihydrostreptomycin (SM), sulfa dimethoxine (SA), kanamycin (KM) aminobenzyl penicillin (APC), dan nalidixic acid (NA).

Antibiotic susceptibility test:

Media HIA dipakai untuk semua jenis antibiotik kecuali SA dipakai media Muller Hinton. Strain yang tumbuh pada media yang mengandung 12,5 g SM per ml, 25 g TC, CP, KM atau APC per ml dan 400 g SA per ml dikatakan resisten terhadap obat tersebut. (8)

Deteksi transfer R Plasmid:

R Plasmid dapat dideteksi dengan prosedur yang dilukiskan oleh Nakamura (8). Strain *Escherichia coli* ML 1410 (NA resistance, methionine requiring F derivate *Escherichia coli* K — 12) dipakai sebagai aseptor ("recipient"). Strain *Escherichia coli* yang resisten terhadap obat diseleksi terjadinya transkonjugasi dengan cara 1 ml biakan *Escherichia coli* resisten dalam HIB umur 18 jam. Ditetesi dengan biakan *Escherichia coli* ML 1410 dalam HIB umur 18 jam sebanyak 2 tetes dan diinkubasikan pada 37°C selama 6 jam. Kemudian biakan ini diinokulasi pada media DHL yang mengandung 25 g NA per ml dan salah satu jenis obat (12,5 g SM, 25 g TC, CP, KM, atau APC per ml) dan diinkubasikan pada 37°C selama 18 jam. Strain *Escherichia coli* yang tumbuh pada media ini dikatakan terjadi transfer R plasmid.

HASIL

Dengan menggunakan metode ini akan diketahui terjadinya resistensi suatu obat dan terjadinya transfer R plasmid di suatu daerah yang besar manfaatnya untuk pengendalian suatu penyakit, yang kemudian berdasarkan hasil pengkajian itu pula dapat ditentukan macam obat yang efektif untuk penanggulangannya, dengan demikian kerugian akan bisa semakin ditekan.

DISKUSI

Terjadinya resistensi obat (R plasmid) dapat merupakan indikasi adanya penggunaan obat (antibiotik) yang kontinyuitasnya berlebihan (tidak rasional), hal ini dapat menyebabkan

terjadinya seleksi pada bakteri yang ada dalam tubuh, baik bakteri yang secara normal ada ataupun bakteri lain. Semakin meningkatnya kejadian seleksi maka bakteri resistenpun akan meningkat pula jumlahnya. Peningkatan jumlah bakteri yang resisten (R plasmid) mengakibatkan frekwensi transfer R plasmid menjadi lebih tinggi.

Akibat dari terjadinya resistensi obat dan transfer R plasmid akan menimbulkan kesulitan dalam pengobatan, khususnya penggunaan antibiotik. Dengan adanya transfer R plasmid dari satu bakteri ke bakteri lain merupakan bahaya yang serius apabila R plasmid tersebut di transfer ke bakteri yang patogen, seperti misalnya dari *Escherichia coli* ke *Salmonella* (8)

Kejadian transfer R plasmid di antara bakteri tidak hanya terjadi di antara hewan atau ternak saja tetapi dapat pula terjadi dari hewan ke manusia, hal ini mungkin terjadi karena adanya kontak manusia dengan hewan atau dari produk asal hewan yang di konsumsi seperti susu, daging, telur dan lain-lain. (3)

Penelitian adanya persamaan genetik di antara R plasmid bakteri eterobakter dari manusia dan hewan peliharaan seperti kucing dan anjing di Canberra dan Australia. Dari hasil penelitiannya menunjukkan adanya hubungan yang erat antara populasi R plasmid pada hewan peliharaan dengan populasi R plasmid pada pemilikinya. (2)

Deteksi plasmid mempunyai kegunaan yang luas, tidak hanya digunakan untuk penelitian resistensi obat saja, akan tetapi dapat digunakan untuk mempelajari epidemiologi suatu wabah penyakit misalnya Salmonellosis (9, 10, 11).

Pada bidang pengujian obat, teknik deteksi plasmid akan sangat berguna, khususnya untuk pemantauan efektifitas suatu obat di suatu daerah. Karena dengan teknik deteksi R plasmid, dapat diketahui obat yang telah tidak efektif lagi di suatu daerah.

Mengingat pentingnya hal ini perlu segera diadakan pengkajian terhadap terjadinya resistensi obat dan terjadinya transfer R plasmid di lapangan.

DAFTAR PUSTAKA

1. BUXTON. A and FRASER. G. (1977). Animal Microbiology. (hal 94-100)
2. DAVIES, M. and STEWART, P.R. (1978). Transferable drug resistance in man and animals: Genetic relationship between R plasmids in enteric bacteria from man and domestic pets. Aust. Vet. J. (54 : 507 - 512)
3. DORN, C.R. TSUTAKAWA, R.K, FEIN, D BURTON, G.C and BLENDEN, D.C. (1975) Antibiotic Resistance patters of *Escherichia coli* isolated from farm families consuming home - raised meat. Am. J. Epidemiol. (102 : 319 - 326)
4. GILLESPIE. J.H and TIMONEY. J.F. (1981). Hagan and Bruners in fectious diseases of domestic Animal. (hal 45 - 50)
5. Hirsch, D.C and Wiger. N. (1977). Effect of tetracycline upon transfer of R plasmid from calves to human beings. Am. J. Vet. Res (38 : 1137 - 1139)
6. JAPAN SOCIETY OF CHEMOTHERAPY. (1968). Method for determination of minimal inhibitory concentration of Chemotherapeutic agents. Chemotherapy 16 : 98 - 99 (in Japanese)

7. LEVY, S.B. FITZ GERALD, G.B and MACONE, A.B. (1976). Spread of antibiotic resistant plasmids from chicken to chicken and from chicken to man. *Nature* 260 : 40 - 42.
8. NAKAMURA, M. (1980). Drug Resistance and R plasmids in *Escherichia coli* Strain Isolated from Imported Pet Birds. *J. Microbiol. Immunol.* vol: 24 (12) (hal 1131 - 1138)
9. RILEY, L.W.B.S.O. CEBALLOS, L.R. TRABULSI, M.R. FERNANDES DE TOLEDO, and P.A. BLAKE. (1984). The significance of hospital as reservoirs for endemic multiresistant *Salmonella typhimurium* causing infection in urban Brazilian children. *J. Infect. Dis.* 150 : 236 - 241.
10. RILEY, L.W.G.T. DIFERDINANDO, JR. T.M. DEMELFI and M.L. COHEN. (1983). Evaluation of isolated cases of salmonellosis by plasmid profile analysis: introduction and transmission of a bacterial clone by precooked roast beef. *J. Infect. Dis.* 148 : 12 - 17.
11. TAYLOR, D.E.J.G. LEVINE and K.L. KOUVELOU. (1982). Incidence of plasmid DNA in *Salmonella* strains isolated from clinical sources in Ontario, Canada, during 1979 and 1980. *Can. J. Microbiol.* 28 : 1150 - 1157.
12. TAYLOR, D.N.I.K, WACHSMUTH, Y.H. SHANGKAUN. E, V. SCHMIDT. T.J. BARRET. J.S. SCHERACH. H.B. MCGEE. R.A. FELDMANN and D.J. BRENER. (1982). Salmonellosis associated with marijuana. *New Engl. J. Med.* 306 : 1249 - 1253.
13. TENOVER, F.C.S. WILLIAMS, K.P. GORDON, H. HARRIS, C.L. Nolan and J.J. FLORDE (1984). Utility of plasmid fingerprinting for epidemiological studies of *Campylobacter* infections. *J. Infect. Dis.* 149 : 279.