Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi, Vol. 12, No. 2, 2007, halaman 89-95
Akreditasi DIKTI Depdiknas RI No. 40/DIKTI/Kep/2003

ISSN : 1410 – 0177

Deteksi Gen *ctx* pada Bakteri *Vibrio cholerae* Isolat Limbah Cair Rumah Sakit dan Uji Resistensinya Terhadap Beberapa Antibiotik

Marlina, Dedy Almasdy, Insanil Aufa
Jurusan Farmasi FMIPA Universitas Andalas Padang

Diterima tanggal : 01 Agustus 2007 disetujui : 31 Agustus 2007

Abstract

The characteristic of *V. cholerae* for *ctx* gene were observed by Polymerase Chain Reaction (PCR) method from several hospital waste water in Padang. Antibiotic resistances were tested for twenty cultures of *Vibrio cholerae* by Krumperman diffusion method for 13 kinds of antibiotics. Three of *V. cholerae* cultures were positives for *ctx* gene. The percentage of *V.cholerae* resistances to tetracycline, sulfamethoxazole, ampicillin, erythromycin, bacitracin, streptomycin, nalidixic acid, ceftriazone, nitrofurantoin, and gentamicin were of 95%, 85%, 75%, 70%, 50%, 25%, 25%, 20%, 15%, 10% respectively. There are no cultures were resistant to chloramphenicol, norfloxacin and kanamycin. Value of Multiple Antibiotic Resistant was of 0,362.

Keywords : V. Cholerae, gen ctx, resistensi antibiotik

Pendahuluan

Kolera merupakan wabah penyakit yang telah membunuh jutaan manusia, disebabkan oleh eksotoksin yang dihasilkan oleh bakteri *Vibrio cholerae*, ditularkan melalui makanan yang dicuci menggunakan air terkontaminasi bakteri tersebut (Salyers and Whitt, 1994). Infeksi terjadi melalui air yang terkontaminasi feses, terutama pada orang yang produksi asam lambungnya terganggu. Ciri diare mirip air beras, munculnya mendadak, disertai mual, muntah, sakit perut dan dehidrasi berat. Bila tidak cepat ditangani akan terjadi kolaps, syok dan mengakibatkan kematian. Angka kematian mencapai 75 % (Tambayong, 2000).

Vibrio cholerae merupakan anggota dari genus vibrio yang memiliki ciri-ciri bakteri gram negatif yang bersifat anaerob fakultatif, sel berupa batang pendek, berbentuk koma, non-sporing, 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 Mekanisme patogen *V. cholerae* disebabkan karena meningkatnya sekresi enterotoksin yang merangsang kegiatan enzim Adenil siklase di dalam sel-sel lendir usus. Hal ini mengakibatkan pengubahan Adenosin Tri Pospat (ATP) menjadi Adenosin Mono Pospat Siklik (CAMP) yang menyebabkan sekresi elektrolit kedalam rongga usus sehingga berakibat pada kehilangan cairan dalam jumlah besar dan ketidak seimbangan elektrolit. Infeksi bakteri ini dapat mengakibatkan gastroenteritis yang ditandai dengan buang air besar berdarah disertai muntah berdarah, demam dan sakit kepala. Bila tidak segera mendapatkan pertolongan, dapat mengakibatkan kematian akibat dehidrasi dan kolaps sirkulasi.

Untuk terapi diare antibiotik golongan tetrasiklin masih banyak digunakan. Tetapi dari beberapa literatur dilaporkan bahwa antibiotik tetrasiklin telah mengalami resisten terhadap bakteri ini. Terjadinya resistensi bakteri terhadap antibiotik disebabkan oleh banyak faktor antara lain kesalahan penggunaan obat, atau terjadi mutasi pada bakteri itu sendiri. Penggunaan antibiotik golongan florokinolon seperti ciprofloksazin akhir akhir ini sangat meluas. Tingginya penggunaan antibiotik ciprofloksazin pada suatu Rumah Sakit di kota Padang telah dilaporkan pada 2002. Tulisan ini melaporkan tentang identifikasi bakteri *V. cholerae* melalui deteksi gen *ctx* pada sampel yang diisolasi dari limbah cair beberapa Rumah Sakit yang terdapat dikota Padang dan uji sensitivitasnya terhadap beberapa antibiotik.

Metodologi

Alat dan Bahan

Jarum ose, spatel, scalpel, batang pengaduk, beaker glass, cawan petri, erlenmeyer, *hot plate*, jangka sorong, kapas lidi, effendorf, mesin PCR (Eppendorf), seperangkat alat elektroforesis, lemari pendingin (Panasonic®), lampu spiritus, lampu UV, pot salep, pinset, pipet mikro (Eppendorf), sentrifugator (Hettich®), timbangan digital (Mettler PM 200®), *water bath* (Primatama®), vortex, autoklaf (All American®), inkubator (Gallenkamp®), *Rotary shaker* inkubator (Thermolyne®), *laminar air flow* (Esco®) serta alat gelas standar lainnya.

Sampel limbah cair dari Rumah Sakit di kota Padang, media Alkaline Pepton Water (APW), media CHROMagar Vibrio (CHROMagar™), media Thiosulfat Citrate Bile Sucrose (TCBS) Agar (Eiken®), media Luria Burtani (LB) broth, media Mueller Hinton (Merck®), aquadest steril, etanol 70%, disk antibiotic (Oxoid dan BBL™).

Isolasi Bakteri Vibrio cholerae

Sampel diambil sebanyak 25 ml pada tiga titik saluran pembuangan limbah cair beberapa rumah sakit di kota Padang, Sumatra Barat. Pipet tetes steril digunakan untuk mengambil sampel lalu dimasukkan ke dalam pot salep yang telah disterilisasi dengan menggunakan alkohol. Ke dalam sampel kemudian ditambahkan 225 ml media Alkaline Pepton Water (APW). Erlenmeyer digancang dan di kocok selama 5 menit, lalu diinkubasi selama 6 jam pada *Rotary Shaker Inkubator*. Sampel kemudian ditanam di dalam mediaThiosulfat Citrate Bile Sucrose (TCBS) Agar. Koloni warna kuning dengan ukuran 2-3 mm diambil dengan jarum Ose dan kemudian dipindahkan dan ditanam dalam media CHROMagar Vibrio. Setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, diamati koloni yang tumbuh. Koloni warna biru kehijauan atau biru terang dalam media CHROMagar Vibrio adalah bakteri *V. cholerae*. Selanjutnya koloni dipindahkan dengan jarum Ose ke dalam media Luria Burtani (LB) broth, diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Biakan kemudian digunakan untuk deteksi gen *ctx* dengan metode PCR.

Uji konfirmasi gen *ctx* *V. cholerae* secara PCR.

Ekstraksi DNA *V. cholerae*

Ekstraksi *template* genom DNA dilakukan dengan metoda *Boil Cell Extraction* (BCE). Sebanyak 1 ml kultur bakteri dipindahkan ke dalam tabung eppendorf 1,5 ml, lalu disentrifus pada 10.000 rpm selama 5 menit, supernatan dibuang. Endapan disuspensikan dalam 1000 µl aquadest steril lalu divortex, kemudian disentrifus pada 10.000 rpm selama 5 menit. Supernatan dibuang, kemudian ditambahkan kembali 1000 µl aquadest steril lalu divortex dan disentrifus lagi. Panaskan di atas air mendidih selama 10 menit. Selanjutnya diinkubasi 10 menit dalam es kemudian disentrifus pada 10,000 rpm selama 5 menit, supernatan dipindahkan ke dalam eppendrof baru dan siap digunakan untuk PCR.

Deteksi gen *ctx* pada Bakteri *V. Cholerae*

Komponen dan campuran yang digunakan dalam reaksi PCR antara lain: 10x PCR Buffer 2 µl, 25 mM $MgCl_2$ 1,5 µl, Primer 1 (C2F) dan Primer 2 (C2R) masing masing 0,8 µl, 10 mM dNTPs (Deoksi Nukleotida Trifosfat) 1,6 µl, Taq DNA Polymerase DNA 0,1µl, *Template* (Genom DNA) 2µl dan aquadest steril ad 20 µl. Proses PCR dilakukan sebanyak 20 siklus.

Mesin PCR diprogram seperti tabel berikut :

Tahapan Dalam Siklus	Temperatur / Waktu
Predenaturasi	95°C (2 Menit)
Denaturasi	94°C (1 Menit)
Annealing (Pengikatan)	55°C (1 Menit)
Extension (Pemanjangan)	72°C (1 Menit)
Elongation (Pemanjangan akhir)	72°C (10 Menit)

Elektroforesa dilakukan pada gel agarose 1,2% menggunakan TBE 1x pada tegangan 150 volt selama 5 menit dan 80 Volt selama 50 menit. Selanjutnya gel diwarnai dengan 0.5 µg/ml larutan etidium bromida selama 5-10 menit dan sisa ethidium bromida dicuci dengan cara melewatkan air mengalir paga gel. Gel kemudian diletakkan di dalam alat pengamat DNA (Gel Doc) dan diamati dibawah lampu UV. Pada foto dapat dilihat pola pita DNA yang ukurannya diketahui melalui perbandingan dengan ukuran pita-pita standar "1 kb DNA ladder", dimana ukuran pola pita gen *ctx* *Vibrio cholerae* adalah 385 bp.

Uji serologi bakteri *V. cholerae*

Satu tetes antisera polivalen *V. cholerae* Inaba dan Ogawa diteteskan pada kaca objek, lalu ditambahkan salah satu suspensi isolat bakteri yang diduga bakteri *V. cholerae*. Penambahan isolat bakteri dilakukan dengan cara dioleskan satu ose isolat tersebut mulai dari pinggir tetesan antisera Polivalen *V.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 tersebut dapat dinyatakan sebagai kultur bakteri *V.cholerae*.

Uji dikatakan positif *serotype* Inawa, Ogawa dan Hikojima bila :

Serotype V. cholerae O1	Aglutinasi	
	Antisera Ogawa	Antisera Inaba
Ogawa	+	-
Inaba	-	+
Hikojima	+	+

Uji Resistensi Bakteri *V. cholerae* Terhadap Antibiotik

Uji resistensi terhadap antibiotik dilakukan terhadap 20 kultur bakteri *V. cholerae* yang diisolasi dari limbah cair beberapa rumah sakit di kota Padang dengan metode difusi Krumperman. 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 antibotik 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 ^{0}C. Diameter daerah hambatan diukur dan dibandingkan terhadap tabel standar antibiotik.

Persentase resistensi bakteri *V. cholerae* dihitung terhadap setiap jenis antibiotik dengan menggunakan persamaan:

$$\text{Persentase resistensi} = \frac{\text{Jumlah kultur yang resisten}}{\text{Jumlah kultur yang diuji}} \times 100\ \%$$

Persamaan Krumperman digunakan untuk menghitung nilai Multiple Antibiotic Resistance:

$$\text{MAR} = \frac{X}{Y}$$

Pembahasan

Pemilihan lokasi sampel pada lima Rumah Sakit yang ada di kota Padang karena diduga bahwa di tempat inilah kemungkinan terbesar terdapat organisme virulen yang menimbulkan penyakit bagi manusia, salah satunya adalah bakteri *V. cholerae* yang sangat mudah menyebar melalui air. Dari hasil penelitian ini diperoleh data bahwa dari lima rumah sakit yang diambil sebagai sampel, hanya satu rumah sakit yang limbah buangannya tidak mengandung bakteri *V. cholerae*, berarti empat rumah sakit positif mengandung bakteri *V. cholerae*. Hal ini merupakan informasi yang sangat penting bagi masyarakat, karena buangan rumah sakit yang tidak ditangani secara benar, akan mencemari lingkungan dan sumber air minum penduduk di sekitar rumah sakit jika menggunakan air sumur yang tidak jauh letaknya dari bungan rumah sakit untuk kebutuhan sehari-hari.

Gen *ctx* merupakan gen yang terdapat pada *V. cholerae* yang menghasilkan toksin kolera (*cholera toxin* = CT). CT yang inilah yang menyebabkan terjadinya diare. Gen *ctx* ini hanya dimiliki oleh *V. cholerae* sehingga untuk mengidentifikasi bakteri ini bisa hanya dengan melihat gen spesifik yang dimilikinya tersebut menggunakan metoda *Polymerase Chain Reaction* (PCR) (Faroque *et al*, 1998). Tapi tidak semua bakteri *V. cholerae* mempunyai gen ini. Hanya bakteri *V. cholerae* yang patogen mempunyai gen ini yaitu *V. cholerae* O1 dan *V. cholerae* O139 (Chen *et al*, 2004; Safa, 2008). Dari hasil penelitian ini diperoleh 7 kultur *V. cholerae* positif mengandung gen *ctx* (Gambar 3).

Keberadaan gen *ctx* diatur oleh suatu sistem regulasi dimana suatu protein regulator mengatur protein regulator lainnya. Sistem ini mempengaruhi ekspresi struktur gen *ctx*, *tcp* dan beberapa protein hasil metabolit lainnya. Sistem regulasi ini mengatur sifat virulens *V. cholerae* tergantung dari kondisi eksternal bakteri tersebut yaitu suhu, pH, osmolaritas dan asam-asam amino tertentu. Kondisi lingkungan yang mengaktifkan proses regulasi ini paling baik pada kondisi pertumbuhan bakteri itu sendiri. Sistem regulasi sifat virulens ini adalah gen *tox* dimana gen yang utama adalah *toxR*, *toxT* dan *toxS*.

Hasil uji serologi untuk mengetahui apakah bakteri *V. cholerae* hasil isolasi termasuk *V. cholerae* O1, menunjukkan bahwa 3 kultur positif termasuk *V. cholerae* O1 serotype Ogawa.

Ketika suatu antibiotik pertama kali digunakan, terbentuknya resistensi pada bakteri sangat jarang terjadi. Resistensi pada bakteri menjadi masalah setelah pemakaian antibiotik secara luas menuntun ke arah pelenyapan bakteri yang rentan pada suatu populasi, namun jumlah bakteri yang resisten terhadap suatu antibiotik dapat bertambah dengan bebas jika penggunaan tidak terkontrol. (Pelczar, 1988).

Berdasarkan hasil penelitian, tetrasiklin dianjurkan agar tidak lagi dijadikan pilihan utama pada terapi kolera, karena menunjukkan sifat resistensi yang tinggi (95%, Tabel I). Hasil ini didukung oleh dua penelitian lain yaitu penelitian Ranjit di Kelantan dan penelitian Urassa di Tanzania (Urassa et al, 2000; Ranjit et al, 2000). Hal ini makin diperkuat oleh hasil penelitian Mhalu di Tanzania yang diperoleh informasi bahwa resistensi *V. cholerae* terhadap tetrasiklin terjadi setelah 6 bulan pemakaiannya, dimana pada bulan pertama semua kultur masih sensitif terhadap tetrasiklin. Hal ini terjadi sebagai akibat peningkatan penggunaan tetrasiklin di daerah tersebut (Mhalu, 1979).

Resistensi bakteri *V. cholerae* cukup tinggi terhadap golongan Sulfametoksazol yaitu 85% (Tabel I). Hal ini disebabkan karena antibiotik ini sering diresepkan untuk pasien diare, terutama pada

anak anak. Penyebab lain karena terjadi sebagai hasil mutasi oleh kendali genetik dari plasmid yang dapat ditransfer dan disebar luaskan. Mutasi menyebabkan produksi PABA (Para Amino BenzoicAcid) berlebihan sehingga Sulfametoksazol kalah bersaing dengan PABA untuk diikut sertakan dalam pembentukan asam folat. Resistensi terjadi karena adanya perubahan struktur enzim folat sintetase dengan penurunan afinitas terhadap sulfonamid atau kehilangan permeabilitas (Katzung, 1997). Isolasi terhadap plasmid pada bakteri ini akan membuktikan kemungkinan ini.

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 (17). 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).

Dari tiga belas jenis antibiotik yang diuji sifat resistensinya terhadap bakteri *V. cholerae*, antibiotik norfloksazin, kloramfenikol dan kanamisin masih sensitif (Tabel I). Hal ini dapat dipahami karena penggunaan bakteri kloramfenikol sangat jarang untuk kasus 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).
Resistensi terhadap Eritromisin (70%, Tabel I) terjadi sebagai akibat metilasi reseptor rRNA pada unit 50 S ribosom (Katzung, 1997). Resistensi terhadap antibakteri golongan ß-Laktam (Ampisilin 75% dan seftriakson 20%) terjadi karena bakteri mampu menghasilkan enzim ß-Laktamase yang dapat merusak cincin ß-Laktam ampisilin. Hal ini menyebabkan molekul ampisilin rusak dan aktifitasnya hilang. Enzim ini bekerja dibawah kendali suatu plasmid yang dikenal dengan Extended Spectrum ß-Laktamase ($ESBL_S$). (Petroni, 2002).

Rendahnya tingkat resistensi terhadap antibakteri golongan kuinolon (norfloksazin 0%) menunjukan bahwa antibakteri golongan ini dapat dijadikan sebagai alternatif lain dalam terapi kolera. Hal ini disebabkan antibakteri kuinolon menghambat kerja enzim DNA girase bakteri pada saat replikasi dan transkripsi. Resistensi terhadap asam nalidiksat (25%) tidak disebabkan oleh plasmid, namun terjadi akibat mekanisme mutasi pada DNA atau membran sel bakteri (Ganiswara, 1995).

Antibiotik Gentamisin masih cukup sensitif untuk bakteri *V. 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 (AAT_S). Enzim ini dapat mengkatalis pemindahan gugus asetil dari gentamisin (Mhalu, 1997).

Tingginya tingkat resistensi bakteri *V. cholerae* terhadap antibiotik basitrasin yaitu sekitar 50% disebabkan antibiotik ini tidak aktif lagi terhadap bakteri Gram negatif sedangkan antibiotik nitrofurantoin masih cukup efektif (hanya 15% yang resisten terhadap bakteri *V.cholerae*. Diduga resistensi dikarenakan adanya pemindahan plasmid.

Dari hasil penelitian ditunjukan bahwa tidak satupun kultur bakteri *V. cholerae* yang menunjukkan sifat resistensi terhadap Kanamisin, namun tingginya jumlah kultur bakteri yang termasuk dalam kelompok intermediet terhadap kanamisin disebabkan terjadinya penyempitan spektrum kanamisin 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 antibiotic yang masuk kategori intermediet harus hati hati, karena pemakaian yang salah akan menyebabkan antiotik tersebut tidak mempan lagi

digunakan pada bakteri target dan berubah menjadi resisten.

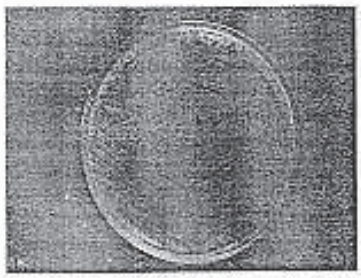
Bila dibandingkan dengan penelitian lain tentang observasi sifat resistensi bakteri *V.cholerae* yang diisolasi dari feses pasien kolera di rumah sakit B. diperoleh informasi bahwa meskipun dari rumah sakit yang sama namun nilai MAR yang diperoleh tidak sama. Nilai MAR lebih tinggi diperoleh pada bakteri *V.cholerae* yang diisolasi dari limbah cair. Selain itu jenis bakteri patogen yang dikandung limbah cair rumah sakit lebih bervariasi. dapat dilihat pada Tabel 2, (Radu, 1999)

Dari perbandingan tersebut dapat disimpulkan bahwa resistensi bakteri dipengaruhi oleh lingkungan. Nilai MAR bakteri *V.cholerae* sebesar 0,36 menunjukan bahwa penggunaan beberapa antibiotik seperti tetrasiklin, ampisilin dan sulfametoksazol sudah tidak dapat digunakan lagi sebagai terapi, sedangkan penggunaan seftriakson, nitrofurantoin harus hati hati dan sesuai dengan aturan pakai. Limbah cair rumah sakit merupakan tempat berkumpulnya bakteri patogen yang menunjukkan tingkat resistensi terhadap antibiotik sebagai akibat kesalahan penggunaan antibotiki dalam bidang klinik. Gen resistensi dari bakteri yang sudah resisten terhadap suatu antibotiki dapat disebarkan ke lingkungan selain itu bakteri *V.cholerae* merupakan bakteri yang sangat mudah mengkontaminasi air karena dapat menyebar dengan baik melalui air (Ganiswara, 1995: Villalpando-Guzman, 2000).

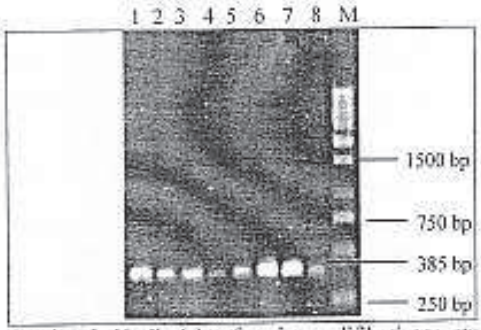
Variasi nilai MAR yang diperoleh pada tiap-tiap limbah cair rumah sakit disebabkan oleh banyak faktor, antara lain keberadaan pasien kolera pada rumah sakit, zat-zat desinfektan yang digunakan di lingkungan rumah sakit karena desinfektan yang digunakan memiliki mekanisme mematikan bakteri dengan cara merusak atau menginaktifkan enzim sehingga terjadi kerusakan dinding sel bakteri (Krumperman, 1996).

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa antibiotik kloramphenikol, norfloksazin dan kanamisin masih sensitive untuk bakteri *V.cholerae* hasil isolasi dari limbah cair rumah sakit.

Gambar 1. Pertumbuhan bakteri *V. cholerae* pada media TCBS Agar



Gambar 2. Pertumbuhan bakteri *V. cholerae* pada media CHROMAgar *Vibrio*



Gambar 3. Hasil elektroforesis amplifikasi gen *ctx* dengan metoda PCR pada gel agarosa 1.2%

Keterangan :

1-7	= Kultur bakteri *V. cholerae* hasil isolasi
8	= Kontrol *V. cholerae*
M	= Marker 1 kb Ladder
K-	= Kontrol negatif
kb	= kilo base pairs
bp	= base pair
1 kb	= 10.000 bp

Tabel 1. Hasil uji resistensi bakteri *V.cholerae* terhadap beberapa antibiotik

Rumah sakit / Antibiotik	RS A	RS B	RS C	RS D
Gentamisin	20%	20%	0%	0%
Seftriakson	0%	40%	20%	20%
Streptomisin	40%	20%	40%	0%
Eritromisin	100%	80%	80%	20%
Ampisilin	100%	80%	60%	60%
Norfloksazin	0%	0%	0%	0%
Basitrusin	80%	80%	20%	20%
Nitrofurantoin	20%	20%	0%	20%
Asam Nalidiksat	20%	0%	40%	40%
Sulfametoksazol	100%	100%	80%	60%
Kloramfenikol	0%	0%	0%	0%
Kanamisin	0%	0%	0%	0%
Tetrasiklin	100%	80%	100%	100%

Keterangan
RS A : Rumah sakit A
RS B : Rumah sakit B
RS C : Rumah sakit C
RS D : Rumah sakit D

Tabel 2. Nilai multi resistensi bakteri *V.cholerae* pada masing-masing rumah sakit.

Rumah Sakit	Kultur	Resisten Terhadap Antibiotik	Nilai MAR	Nilai MAR rata-rata
RS A	VCA1	E, RL, AMP.B, TE	0,385	0,447
	VCA5	E, RL, AMP, B,TE	0,385	
	VCA6	E, RL, AMP, B, TE, F	0,462	
	VCA9	ST, E, RL,AMP, TE	0,385	
	VCA10	CN, ST, E, RL, AMP, B, TE, NA	0,615	
RS B	VCB2	CN, ST, E, RL, B, TE, F	0,539	0,400
	VCB4	E, RL, AMP, B, TE	0,385	
	VCB6	E, RL, AMP, B, TE, CRO	0,462	
	VCB8	E, RL, AMP, TE, CRO	0,385	
	VCB10	RL, AMP, B	0,231	
RS C	VCC1	ST, E, RL, AMP, TE, CRO, NA	0,539	0,339
	VCC2	E, TE	0,154	
	VCC3	RL, AMP, B, TE, NA	0,385	
	VCC4	E, RL, AMP, TE	0,308	
	VCC5	ST, E, RL, TE	0,308	
RS D	VCD1	AMP, TE, CRO	0,231	0,262
	VCD2	RL, AMP, B, TE, NA	0,385	
	VCD3	E, RL, TE, NA	0,308	
	VCD4	RL, AMP, TE	0,231	
	VCD5	TE, F	0,154	

Keterangan :
VCA : kultur *V. cholerae* dari rumah sakit A
VCB : kultur *V. cholerae* dari rumah sakit B
VCC : kultur *V. cholerae* dari rumah sakit C
VCD : kultur *V. cholerae* dari rumah sakit D

MAR	: Multi resistensi bakteri		
CN	: Gentamisin		
CRO	: Seftriakson	C	: Kloramfenikol
ST	: Streptomisin	RL	: Sulfametoksazol
E	:Eritromisin	K	: Kanamisin
AMP	: Ampisilin	TE	: Tetrasiklin
NOR	: Norfloksazin	RS A	: Rumah sakit A
B	: Basitrasin	RS B	: Rumah sakit B
F	: Nitrofurantoin	RS C	: Rumah sakit C
NA	: Asam Nalidiksat	RS D	: Rumah sakit D

Nilai MAR rata-rata adalah 0,362

Daftar Pustaka

Chen, C. H., T. Shimada, N. Elhadi, S. Radu and M. Nishibuchi, Phenotypic and Genotypic Characteristic and Epidemiological Significance of *ctx*$^+$ Strains of *Vibrio cholerae* from Seafood in Malaysia, *Applied Environmental Microbiology*, Vol. 70 No. 4. 2004, 1964-1972

Farouque, S. M., M. J. Albert, and J. J. Mekalanos, Epidemiology, Genetics, and Ecology of Toxigenic *Vibrio cholerae*, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, Vol. 62 No. 4, 1301-1314, 1998.

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

Krumperman, P.H., Multiple Antibiotic Resistance Indexing *Escherichia coli* to Identify Risk Source of Fecal Contamination of Food, *Applied and Environmental Microbiology*, Vol.46, 165-17, 1996

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

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

Pelczar, M.J. dan E.C.S. Chan., *Dasar-dasar Mikrobiologi* jilid II. diterjemahkan oleh Ratna SH, UI-Press, Jakarta, 1988.

Radu, S., Y. K. Ho, S. Lihan, Yuherman, G. Rusul, R.M. Yasin, J. Khair, and N. Elhadi, Molecular Characterization of *Vibrio cholerae* O1 and non-O1 from Human and Environmental Sources in Malaysia, *Epidemiol. Infect*, Vol. 123 No. 2, 225-232, 1999.

Ranjit, K., and M, Nurahan.,Tetracycline Resistant Cholerae in Kelantan, *Med J Malaysia*, Vol. 55 No. 1, 143-145, 2000

Rahim, Z., and K.M. Aziz.,Isolation of Enterotoxigenic *Vibrio cholerae* Non-01 from The Buringanga River and two ponds pf Dhaka, Bangladesh, *J Diarrhoeal Dis Res*, Vol. 10 No.4, 227-230, 1992

Salyers, A. A., and D. D. Whitt., *Bacterial Phatogenesis. A Molecular Approach*. ASM Press, Washington DC, 1998.

Safa. S., Sultana, J., Cam, P. D., Mwansa J. C., Kong, R. Y. C. *Vibrio cholerae* O1 Hybrid El Tor Strains, Asia and Africa, *Letter*, Vol. 4 No. 6, 2008.

Tambayong, J., *Mikrobiologi untuk Keperawatan*, editor Monica Ester, Widya Medika, Jakarta, 2000.

Urassa, W.K., Mhando, Y.B., Mhalu, F.S., and Mjonga, S.J.,Antimicrobial Susceptibility Pattern of *Vibrio cholerae* O1 Strain during two cholerae outbreaks in Dar es Salaam, Tanzania, *East Afr Med J*, Vol. 77 No. 7, 350-353, 2000.

Petroni, A., "Plasmidic Extended-spectrum β-Lactamases in *Vibrio cholerae* O1 El Tor Isolates in Argentina", *Antimicrobial Agents and Chemotheraphy*, Vol. 46. No. 5, 1462-1468, 2002.

Villalpando-Guzman, S., M.G, Eusebio-Hernandez., and D, Aviles-Ruiz., Detection of *Vibrio cholerae* O:1 in Oysters by the Visual Colorimetric Immunoassay and the Culture Technique , *Revista Latinoamericana de Microbiologia*, Vol.42, 63-68, 2000.