

INDONESIAN JOURNAL OF  
**Clinical Pathology and  
Medical Laboratory**

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

IJCP & ML (Maj. Pat. Klin. Indonesia & Lab. Med.)	Vol. 16	No. 1	Hal. 1-54	Surabaya November 2009	ISSN 0854-4263
---	---------	-------	-----------	---------------------------	-------------------

Diterbitkan oleh Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Klinik Indonesia

*Published by Indonesian Association of Clinical Pathologists*

Terakreditasi No: 43/DIKTI/Kep/2008, Tanggal 8 Juli 2008

INDONESIAN JOURNAL OF  
**CLINICAL PATHOLOGY AND  
MEDICAL LABORATORY**

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

---

**SUSUNAN PENGELOLA MAJALAH INDONESIAN JOURNAL OF  
CLINICAL PATHOLOGY AND MEDICAL LABORATORY**

**Pelindung (Patron)**

Ketua Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Klinik Indonesia

**Penasehat (Advisor)**

Prof. Marsetio Donosepoetro, dr., Sp.PK(K)  
Prof. Siti Budina Kresna, dr., Sp.PK(K)  
Prof. Dr. Herman Hariman, dr., Sp.PK(K)  
Dr. R. Darmawan Setijanto, drg., Mkes

**Penelaah Ahli/Mitra Bestari (Editorial Board)**

Prof. Dr. Indro Handojo, dr., Sp.PK(K)  
Prof. Dr. J B Soeparyatmo, dr., Sp.PK(K)  
Prof. Riadi Wirawan, dr., Sp.PK(K)  
Prof. Dr. A A G Sudewa, dr., Sp.PK(K)  
Prof. Tiki Pang, PhD

**Penyunting Pelaksana (Managing Editors)**

Prof. Dr. Prihatini, dr., Sp.PK(K), Prof. Marzuki Suryaatmadja, dr., Sp.PK(K), Prof. Adi Koesoema Aman, dr., Sp.PK(K),  
Prof. Dr. Rustadi Sosrosumihardjo, dr., DMM., MS., Sp.PK(K), Yuli Kumalawati, dr., DMM., Sp.PK(K),  
Lia Gardenia Partakusuma, dr., Sp.PK(K), Dr. Ida Parwati, dr., Sp.PK(K), Dr. FM Yudayana, dr., Sp.PK(K),  
Prof. Dr. Krisnowati, drg., Sp.Pros, Tahono, dr., Sp.PK(K), Nurhayana Sennang Andi Nanggung, dr., M.Kes., DMM., Sp.PK,  
Osman Sianipar, dr., DMM., MS., Sp.PK(K), Dr. Sidarti Soehita, FHS., dr., MS., Sp.PK(K), Purwanto AP, dr., Sp.PK(K),  
Dr. Jusak Nugraha, dr., MS., Sp.PK(K), Endang Retnowati, dr., MS., Sp.PK(K), Dr. Aryati, dr., MS., Sp.PK(K),  
Puspa Wardhani, dr., Sp.PK, Bastiana, dr., Maimun Zulhaidah Arthamin, dr., M.Kes., Sp.PK.

**Pelaksana Tata Usaha**

Ratna Ariantini, dr., Sp.PK, Leonita Aniwati, dr., Sp.PK(K), Yetti Hernaningsih, dr., Sp.PK:  
Tab. Siklus Bank Jatim Cabang RSU Dr. Soetomo Surabaya; No AC: 0323551651;  
E-mail: pdspatklin\_sby @telkom.net. (PDSPATKLIN Cabang Surabaya),  
Bendahara PDSPATKLIN Pusat, RS PERSAHABATAN, Jakarta Timur, Tlp. 62-021-4891708, Fax. 62-021-47869943  
E-mail: pds\_patklin@yahoo.com

**Alamat Redaksi (Editorial Address)**

Laboratorium Patologi Klinik RSU Dr. Soetomo Jl. Prof. Dr. Moestopo 6–8 Surabaya Tlp/Fax. (031) 5042113,  
Bagian Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Unair, Jl. Prof. Dr. Moestopo 47 Surabaya, Tlp (031) 5020251-3  
Fax (031) 5022472, 5042113, E-mail: pdspatklin\_sby @telkom.net.

INDONESIAN JOURNAL OF  
**CLINICAL PATHOLOGY AND  
 MEDICAL LABORATORY**

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

---

**DAFTAR ISI**

**PENELITIAN**

Kesepancaran (Homologi) <i>Legionella Pneumophila</i> Jaringan Distribusi Air dan Pneumonia Nosokomial <i>(Homolog Legionella Pneumophila Distribution and Nosocomial Pneumoniae)</i>	1-6
<b>Noormartany</b> .....	
Nilai Diagnostik <i>Malaria Antigen Cassette</i> Penyakit Malaria <i>(Diagnostic Value of Malaria Antigen Cassette on Malaria Disease)</i>	7-10
<b>Binawati, Prihatini, M.Y Probohoesodo</b> .....	
Analisis CD4 pada Penatalaksanaan Pasien Koinfeksi HIV-TB <i>(CD4 Analysis in Treatment of HIV-TB Co-Infected Patients)</i>	11-13
<b>Nursin Abd. Kadir, Nurhayana Sennang, Hardjoeno</b> .....	
Analisis Kadar Asam Urat pada Pasien Karsinoma Mamma <i>(Analysis of Uric Acid Level in Patients of Carcinoma Mammae)</i>	14-16
<b>Susi Seviatty, Uleng Bahrun, Mansyur Arif</b> .....	
Anti HCV pan Jumlah Penderita Jangkitan (Prevalensi Infeksi) Virus Hepatitis C <i>(Anti HCV and the Patient's Prevalence of Virus Hepatitis C Infection)</i>	17-21
<b>Isti Setijorini Wulandari, Kismardhani</b> .....	
Evaluasi Aktivitas Transaminase, dan Kadar Bilirubin pada Penderita Virus Hepatitis B dan C <i>(The Evaluation of Transaminase Activities, and Bilirubin Level in Patients with Hepatitis B Virus and C Virus)</i>	22-25
<b>Yosepin, Benny Rusli, Hardjoeno</b> .....	
Hubungan Derajat Perlemakan Hati Non-alkoholik dengan Aktivitas Aminotransferase Serum <i>(Correlation Degree of Non-alcoholic Fatty Liver with Aminotransferase Serum Activity)</i>	26-28
<b>Nyoman Trisna Yustiani, Mutmainnah, Mansyur Arif</b> .....	
Akurasi Tes <b>Bactident Aminopeptidase</b> untuk Mengidentifikasi Bakteri Gram Negatif <i>(Accuracy of Bactident Aminopeptidase Test in Identification Gram Negative Bacteria)</i>	29-31
<b>Ramla Tongko, Tenri Esa, Hardjoeno</b> .....	
CD38 Limfosit CD8 <sup>+</sup> , Tampang (Profil) CD4 <sup>+</sup> , dalam Keadaan (Status) Imunologis dan Klinis Pengobatan Antiretroviral Penderita HIV/AIDS <i>(Study of CD38 expression on Lymphocyte 8<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> profile, and Clinical State Immunological and Clinical State Profile of AIDS/HIV patients with Antiretroviral Therapy)</i>	32-35
<b>Ira Puspitawati, Umi S. Intansari</b> .....	
Eosinofil Pasca-Mengerok Mukosa Hidung dan Pemeriksaan Darah Rutin di Rinitis Alergi <i>(Eosinophil After Mucosal Nasal Brushing and Routine Hematology in Allergy Rhinitis)</i>	36-38
<b>Rima Yuliati Muin, Darwati Muhadi, Mansyur Arif</b> .....	
Hasil Hitung Normoblas antara Sediaan Hapusan Darah Tepi Penderita AML dengan ALL <i>(Normoblast Counting between Acute Myeloblast Leukemia and Acute Lymphoblastic Leukemia in Peripheral Blood Smear of Patients)</i>	39-41
<b>Hidayat, Nina Susana Dewi, Nadjwa Zamalek Dalimoenthe</b> .....	

**TELAAH PUSTAKA**

Pengukuran dan Aplikasi Klinik Thrombin Activatable Fibrinolysis Inhibitor <i>(Measurement and Clinical Application of Thrombin Activatable Fibrinolysis Inhibitor)</i>	42-45
<b>Mansyur Arif</b> .....	

## LAPORAN KASUS

Trombosit Abnormal Pascapersalinan  
(*Abnormal Trombosit in Post-partum*)  
**Prihatini, S. Hadi, Wijanda HT Sylvaranto, Maksum**.....

**46-50**

## MANAJEMEN LABORATORIUM

Penetapan Tarif Pemeriksaan Laboratorium Patologi Klinik Berdasarkan Metoda Jaros ML  
(*Laboratory Costing per Test Based on Jaros ML Method*)  
**Maria I. Diah P, Tahono** .....

**51-54**

## INFORMASI LABORATORIUM MEDIK TERBARU

Gangguan Fungsi Transport Protein Penyebab Pembentukan Plak di Penyakit Alzheimer  
(*Malfunctioning Transport Protein Causes Plaque Build-up in Alzheimer's Disease*)  
Oleh: **Biotech Daily International Staff Writers Posted on 21 July 2009**

---

## PENELITIAN

---

# KESEPANCARAN (HOMOLOGI) *LEGIONELLA PNEUMOPHILA* JARINGAN DISTRIBUSI AIR DAN PNEUMONIA NOSOKOMIAL

(*Homolog Legionella Pneumophila Distribution and Nosocomial Pneumoniae*)

Noormartany\*

---

### ABSTRACT

*L. pneumophila* is one of the nosocomial pneumonia causes that contaminated hospital water distribution system. The aim of this study was to determine the homology between *L. pneumophila* 16S rRNA base sequence found in the water distribution system and the sequence derived from the sputum of nosocomial pneumonia patients identified at RSWS Bandung as well as the homology of *L. pneumophila* 16S rRNA found in the same system network. The study also include the nosocomial pneumonia patients at RSWS Bandung with *L. pneumophila* from GenBank. The research using descriptive bioinformatics BLAST method by comparative analytic approach, which performed from April 2006 to February 2008. The material consists of 60 biofilm samples from water distribution system and pneumonia nosocomial patient's sputum is positive *L. pneumophila* from water distribution system in her/his room. In the result was found: out of the 60 biofilm samples from the water distribution system, there are seven (7) *L. pneumophila* positive PCR and culture. During the 12 months of observation, there is only one (1) out of 31 pneumonia nosocomial patients with positively *L. pneumophila* PCR and culture. The conclusion so far can be mentioned that: The water distribution system in RSWS for patient rooms may become the source for nosocomial pneumonia transmission of *L. pneumophila* and also was detected a new species of *L. pneumophila* that is genetically different from that has been found in GenBank.

**Key words:** *L. pneumophila*, water distribution system, pneumonia patients, homology

---

### PENDAHULUAN

*Legionella* spp. pertama kali dikenali (- identifikasi) pada musim panas tahun 1976 saat diadakan pertemuan tahunan ke-58 Veteran Amerika di hotel *Bellevue-Stratford, Philadelphia*. Jangkitan (Infeksi) ini diperkirakan berasal dari sistem pendingin hotel.<sup>1-10</sup>

*L. pneumophila* merupakan penyebab utama pneumonia nosokomial, yang sumber pemajanannya adalah sistem distribusi air rumah sakit. *L. pneumophila* sering menyebabkan kejadian luar biasa (KLB) pneumonia. Penularan terutama berlangsung secara aspirasimikro.<sup>11</sup>

Para peneliti telah menganalisis secara perbandingan (komparatif) biologi molekuler dengan tujuan mengenali dan membandingkannya dengan *Legionella* spp. asal pasien/penderita dan dari lingkungan sekitarnya. Jika analisisan isolat pasien/penderita dan isolat lingkungan sepancaran (homologi)-nya  $\geq 99\%$ , maka sumber tersebut dapat dinyatakan sebagai cadangan (*reservoir*) epidemiologis. Pengenalian (Identifikasi) pasti adanya *Legionella* spp. Dilakukan dengan metode biakan, PCR, dan runtunan (sekuensing), sedangkan analisis kesepancaran spesies dilakukan dengan

membandingkan gen 16S rRNA menggunakan program komputer metode BLAST (*basis local alignment search tool*).<sup>1,12</sup>

Di Indonesia prevalensi pneumonia nosokomial adalah 11,6%, tetapi sampai saat ini, data atau penyiaran (publikasi) tentang legionellosis di Indonesia masih belum dilaporkan.<sup>13</sup> Hal tersebut menjadi pendorong bagi peneliti untuk meneliti agar dapat dijelaskan apakah selama ini dalam jaringan distribusi air RSWS terdapat *Legionella* spp., dan apakah *L. pneumophila* jaringan distribusi air tersebut merupakan sumber penularan pneumonia nosokomial penderita yang berawat inap di RSWS.

Tujuan penelitian ini adalah untuk membuktikan bahwa jangkitan (infeksi) pneumonia nosokomial di RSWS dapat disebabkan oleh *L. pneumophila* asal jaringan sistem distribusi air RSWS yang berbeda secara genetik dengan *L. pneumophila* di GenBank. Yaitu dengan cara membuktikan bahwa gen 16S rRNA *L. pneumophila* asal sputum penderita pneumonia nosokomial dengan gen 16S rRNA *L. pneumophila* asal jaringan distribusi air RSWS berhomologi  $\geq 99\%$ , dan dengan gen 16S rRNA *L. pneumophila* di GenBank mempunyai kesepancaran (homologi)  $\leq 97\%$ .

---

\* Bagian Patologi Klinik Fakultas Kedokteran UNPAD – RSWS Bandung

## METODE

Subjek penelitian berupa selaput hidup (*biofilm*) asal jaringan distribusi air, dan penderita pneumonia nosokomial dewasa yang jaringan distribusi air di ruang rawat inapnya menunjukkan biakan (kultur) dan PCR positif *L. pneumophila*. Penelitian ini menggunakan analisis ubahan ganda (multivariat) dengan hitungan kecenderungan (*Odd Ratio*) untuk menilai kepositifan *L. pneumophila* berdasarkan asal *biofilm*, dan analisis perbandingan (komparatif) bioinformatika untuk menilai kesepancaran (homologi) gen dan menentukan kekerabatannya. Analisis dilakukan dengan menggunakan piranti lunak *SPS for windows* versi 13.0, 2005 dan BLAST.<sup>14</sup> Dilaksanakan di RSHS Bandung mulai bulan April 2006 sampai dengan Februari 2008.

## HASIL

Bahan penelitian diambil dari selaput hidup (*biofilm*) yang terdapat di permukaan dinding bagian dalam tangki tanah (*groundtank*) sumur, menara air, ketel uap, keran air dingin dan panas, sedangkan bahan periksaan asal penderita rawat inap, berasal dari dahak (sputum) penderita pneumonia nosokomial dewasa yang dirawat di ruang perawatan dengan periksaan sumber air dan perpipaan di ruang tersebut. Hasilnya menunjukkan positif *L. pneumophila*. periksaan biakan jaringan distribusi air memperlihatkan bahwa sebanyak 15 BP (25%) tumbuh di media BCYE dan 45 BP (75%) tidak tumbuh di media BCYE. Setelah diperiksa secara mikroskopis dengan pewarnaan Gram, ternyata ke-15 BP yang tumbuh di media BCYE tersebut adalah bakteri batang pendek polimorfis Gram-negatif.

Penanaman dalam media *Mac Conkey* ditujukan untuk memastikan, bahwa bakteri batang Gram negatif yang berhasil dikenali (-identifikasi) adalah *Legionella spp.*, dan bukan bakteri batang Gram negatif lainnya. Misalnya *Pseudomonas spp* yang memiliki rangkaian genetik mirip *Legionella spp.* periksaan dari 15 BP yang tumbuh di biakan BCYE hanya terdapat tiga sampel yang tumbuh di biakan *Mac Conkey*. Hal ini berarti bahwa ketiga sampel

tersebut bukan *Legionella spp*, karena bakteri tersebut tidak dapat tumbuh dalam biakan *Mac Conkey*.

**Tabel 1.** Biakan *L. pneumophila* dalam jaringan distribusi air RSHS

No	Jaringan Distribusi Air	Biakan BCYE		Biakan MC		Keterangan
		+	-	+	-	
1	Sumber air	2	10	2	10	Dari 15
2	Pipa air dingin	9	15	3	21	BCYE +, hanya 3
3	Pipa air panas	4	20	5	19	yang MC +

Keterangan: BCYE = *Buffered charcoal yeast extract*

MC = *Mac conkey*

Pemeriksaan PCR sistem distribusi air di RSHS didapat dari 26 sampel (43%) menunjukkan *L. pneumophila* positif dan 34 sampel (57%) negatif. Dari 26 PCR yang positif, terdapat tujuh (27%) tumbuh dalam media BCYE dan 19 (73%) tidak tumbuh. Hasil PCR positif *L. pneumophila* yang berasal dari *biofilm* adalah: kepala pancuran (*showerhead*) 16 sampel (66,7%), dinding keran air dingin tujuh sampel (29,2%) dan dinding pipa sumber air tiga sampel (25,0%).

Penelitian ini ditujukan untuk melihat homologi gen bakteri yang ditemukan, maka yang diteliti adalah bakteri batang pendek Gram-negatif yang tumbuh dalam BCYE, tidak tumbuh dalam media *Mac Conkey* dengan hasil PCR *L. pneumophila* positif periksaan biakan dan PCR terlihat di Tabel 2.

**Tabel 2.** Hasil BCYE dan PCR *L. pneumophila* jaringan distribusi air RSHS

No	Jaringan Distribusi Air	Biakan BCYE		PCR		Keterangan
		+	-	+	-	
1	Sumber air	2	10	3	9	dari 26
2	Pipa air dingin	9	15	8	16	sampel PCR positif, hanya
3	Pipa air panas	4	20	15	19	7 (27%) yang tumbuh dalam BCYE.
Total		15	45	26	34	

Keterangan: BCYE = *Buffered charcoal yeast extract*

PCR = *Polymerase chain reaction*

**Tabel 4.** Hasil Analisis Positivitas *L. pneumophila* Berdasarkan Asal Biofilm

Variabel	PCR		Total	Nilai p	OR(CI 95%)
	Positif	Negatif			
Asal Biofilm				0,012*	
Dinding pipa	3 (25,0%)	9 (75,0%)	12	0,015	1
Showhead	16 (66,7%)	8 (33,3%)	24	0,024	6,0 (1,26–28,49)
Dinding keran	7 (29,2%)	17 (70,8%)	24	0,793	1,23 (0,25–5,97)
Total	26 (43,3%)	34 (56,7%)	60		

\*p < 0,05

Analisis kepositifan *L. pneumophila* berdasarkan asal selaput hidup (*biofilm*) dapat dilihat sebagai tabel di bawah ini:

Di semua ruangan yang biakan dan/atau PCR-nya positif, diamati satu tahun, didapatkan 31 penderita pneumonia nosokomial. Di 31 penderita tersebut diperiksa dahak (sputum) yang dibiakan di media agar BCYE dan diperiksa PCR-nya. Hasil menunjukkan bahwa hanya terdapat dua penderita pneumonia nosokomial yang biakan BCYE dan PCR-nya positif. Penderita tersebut berasal dari ruang 10A dan GICU. Untuk lebih meyakinkan, keempat sampel yang tumbuh dimurnikan DNA-nya, dan PCR diulang dengan menggunakan 16S rRNA pratama (primer). Elektroforesis menunjukkan adanya gen sasaran (*target*) yang berukuran 1,5 kb dan sesuai dengan ukuran gen 16S rRNA yang dicari murnian

gen 16S rRNA bakteri tersebut, selanjutnya diurut (-sekuensing). Urutan (sekuensing) gen 16S rRNA *L. pneumophila* yang didapat dari selaput hayati (*biofilm*) ruang 10A dan dahak (sputum) penderita pneumonia nosokomial 1321 untaian basa. Sedangkan dahak (sputum) penderita pneumonia nosokomial ruang GICU hanya berhasil menemukan (-deteksi) 781 untaian basa, dan *L. pneumophila* selaput hayati (*biofilm*) ruang GICU hanya tertemukan (-deteksi) 841 untaian basa.

Periksaan kesepancaran menggunakan metode statistik perbandingan bioinformatika BLAST di urutan basa gen 16S rRNA bakteri ditemukan dalam sistem sebaran air ruang 10A dan dahak penderita pneumonia nosokomial di ruang tersebut 99%. Hasil kesepancaran terkait dapat dilihat di tabel 3.

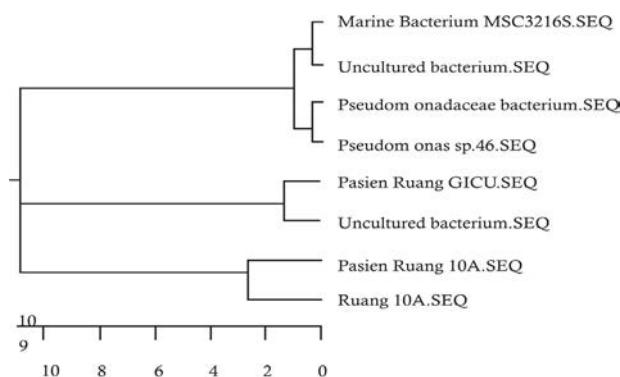
**Tabel 5.** Hasil homologi *L. pneumophila* dahak (sputum) pasien/pasien/penderita dan ruang 10A

Pasien/pasien/penderita Ruang		Agtcgacggcagcacaggagagcttgcctetgggtggcgagtggggacggqtgaggaa
Ruang 10 A	1	-----agcacaggagagcttgcctctgggtggcgagtggggacgggtgaggaa
Pasien/pasien/penderita Ruang	61	Tacatcggaatctacttttcgtggggataacgttagggaaactacgctaataccgcat
Ruang 10 A	51	Tacatcggaatctacttttcgtggggataacgttagggaaactacgctaataccgcat
Pasien/pasien/penderita Ruang	121	Acgacacctacgggtgaaagcaggggatcttgcgaccctgcgcattgaatgagccatgtc
Ruang 10 A	111	Acgacacctacgggtgaaagcaggggatcttgcgaccctgcgcattgaatgagccatgtc
Pasien/pasien/penderita Ruang	181	Agattagctatgttgcgggtaaaggcccaccaaggcgacgtccgtatgttgcgatgtc
Ruang 10 A	171	Agattagctatgttgcgggtaaaggcccaccaaggcgacgtccgtatgttgcgatgtc
Pasien/pasien/penderita Ruang	241	Ggatgtcaaccacactgaaactgagacacgggtccagactctacggggaggcagcagtgg
Ruang 10 A	231	Ggatgtcaaccacactgaaactgagacacgggtccagactctacggggaggcagcagtgg
Pasien/pasien/penderita Ruang	301	Ggaatattgacaatgggcgaaggcctgtatccagccatccgcgtgggtgaagaaggcct
Ruang 10 A	291	Ggaatattgacaatgggcgaaggcctgtatccagccatccgcgtgggtgaagaaggcct
Pasien/pasien/penderita Ruang	361	Tcggttgtaaagccctttgtggaaagaaatccagctggtaataccgggtggat
Ruang 10 A	351	Tcggttgtaaagccctttgtggaaagaaatccagctggtaataccgggtggat
Pasien/pasien/penderita Ruang	421	Gacggtacccaaagaataagcaccggctaacttcgtgccagcagccgcgttaatacgaag
Ruang 10 A	411	Gacggtacccaaagaataagcaccggctaacttcgtgccagcagccgcgttaatacgaag
Pasien/pasien/penderita Ruang	481	Ggtcaagcgttactcggattactggcgtaaagcgtcgtagtggtcggttaatgcct
Ruang 10 A	471	Ggtcaagcgttactcggattactggcgtaaagcgtcgtagtggtcggttaatgcct
Pasien/pasien/penderita Ruang	541	Gttgtgaaaggccctggctcaacctggaaactgcattggatactggcgactataatgtg
Ruang 10 A	531	Gttgtgaaaggccctggctcaacctggaaactgcattggatactggcgactataatgtg
Pasien/pasien/penderita Ruang	601	Gtagagggtacggattccctggtagcgtgaaatgcgttagagatcaggaggaaacatc
Ruang 10 A	591	Gtagagggtacggattccctggtagcgtgaaatgcgttagagatcaggaggaaacatc
Pasien/pasien/penderita Ruang	661	Aacaggattagataccctggtagtccacgcctaaacgatgccaactggatgtgtgc
Ruang 10 A	651	Aacaggattagataccctggtagtccacgcctaaacgatgccaactggatgtgtgc
Pasien/pasien/penderita Ruang	721	Aacaggattagataccctggtagtccacgcctaaacgatgccaactggatgtgtgc
Ruang 10 A	711	Aacaggattagataccctggtagtccacgcctaaacgatgccaactggatgtgtgc
Pasien/pasien/penderita Ruang	781	Tagagaatttagtcgtgcctgtccatgaaattttttgtcagagaaaatccgatttatatt
Ruang 10 A	771	Tagagaatttagtcgtgcctgtccatgaaattttttgtcagagaaaatccgatttatatt

##### Lanjutan Tabel 5

Pasien/pasien/penderita Ruang	841	Tgtcagtcgaggatgtcgatgattaattcaaagtatatacgatcgactagaatagca
Ruang 10 A	831	Tgtcagtcgaggatgtcgatgattaattcaaagtatatacgatcgactagaatagca
Pasien/pasien/penderita Ruang	901	Ggcgttatgtaaaacagttagaggattgtaatggaaaatttagattaaaaacaataatt
Ruang 10 A	891	Ggcgttatgtaaaacagttagaggattgtaatggaaaatttagattaaaaacaataatt
Pasien/pasien/penderita Ruang	961	Cgataaagagagggaaagacaagacaagatgtaaagatgtaaaggtgaagggaaagacaagtccaaag
Ruang 10 A	951	Cgataaagagagggaaagacaagacaagatgtaaagatgtaaaggtgaagggaaagacaagtccaaag

Analisis` *phylogeni* bakteri yang berhasil dikenali (-identifikasi) lewat dahak (sputum) penderita pneumonia nosokomial dan selaput hayati (*biofilm*) ruang 10A menggunakan metode BLAST yang terlihat seperti di gambar 1 dan 2.



**Gambar 1.** Hasil *phylogeni* dari bakteri yang berhasil diidentifikasi

Periksaan kesepancaran (homologi) untaian basa gen 16S rRNA *L. pneumophila* sistem sebaran (distribusi) air ruang 10A dan GICU dengan gen 16S rRNA *L. pneumophila* yang dilaporkan sebagai penyebab KLB data yang tersimpan di GenBank adalah 44%.

## PEMBAHASAN

Periksaan PCR sistem sebaran (distribusi) air RSRS sebanyak 43%, menunjukkan bahwa dalam sistem distribusi air di RSRS terdapat kemungkinan hidup *L. pneumophila* sekitar 43%. Hasil ini masih sesuai dengan hasil penelitian Srinivasan,<sup>13</sup> sebelumnya ia melaporkan bahwa 12–70% air rumah sakit yang pernah diteliti, tercemari (-kontaminasi) oleh *Legionella* spp. Tetapi hasil ini berbeda bila dibandingkan dengan telitian terhadap sumber air di beberapa rumah sakit di Eropa pada tahun 1998. Didasari telitian tersebut dinyatakan bahwa rumah sakit di Inggris tercemari (-kontaminasi) *Legionella* spp. sebanyak 70%, rumah sakit di Quebec 68%, rumah sakit di Western PA 60%, dan dari rumah

sakit di San Antonio sebanyak 73%.<sup>11</sup> Perbedaan persentase hasil meneliti ini, kemungkinan besar disebabkan oleh adanya perbedaan suhu tumbuh, lingkungan, bahan gizi (nutrisi), dan jumlah atau jenis protozoa yang ada di tempat tersebut. Hal lain yang dapat juga mempengaruhi pertumbuhan adalah bahwa *Legionella* spp. tumbuh pada suhu air 20–50° C. *Legionella* spp. juga tidak dapat bertahan lama di udara dan di bawah sinar matahari. Pada penelitian ini digunakan media pembiak BCYE, karena *Legionella* spp. tidak dapat tumbuh di media biakan biasa (rutin).<sup>1–8</sup>

Biakan murni didapat dengan cara menanam berulangkali sampai didapatkan koloni sejenis. Untuk memastikan bakteri yang tumbuh tersebut *Legionella* spp., koloni bakteri selanjutnya diwarnai dengan pewarnaan Gram, dan diperiksa dengan mikroskop. Bakteri batang pendek Gram-negatif menunjukkan *L. pneumophila*. Untuk lebih memastikan lagi, selanjutnya ditanam di media *Mac Conkey*, karena *L. pneumophila* tidak tumbuh dalam media *Mac Conkey*, bila tumbuh di media *Mac Conkey* maka koloni bakteri tersebut dipastikan bukan *L. pneumophila*. Untuk melihat apakah *Legionella* spp. yang tumbuh tersebut adalah *L. pneumophila*, diperiksa menggunakan PCR, dan bila hasil PCR-nya positif, dapat disimpulkan bahwa koloni tersebut adalah *L. pneumophila*. Pada penelitian ini digunakan PCR dengan *L. pneumophila* ATCC 33152 pratama (primer).

Kepositifan *L. pneumophila* asal biofilm tersebut diperoleh nilai kepositifan terbanyak berasal dari kepala pancuran (showerhead) yaitu 16 sampel (66,7%). Sedangkan dari selaput hayati (*biofilm*) dinding keran air dingin 7 sampel (29,2%) dan selaput hayati (*biofilm*) dinding pipa sebanyak 3 sampel (25,0%). Analisisan statistik dengan uji penyusutan perbekalan (regresi logistik) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan kepositifan secara bermakna ( $p = 0,024$ ) antara selaput hayati (*biofilm*) kepala pancuran (showerhead) dengan selaput hayati dinding pipa. Selain itu terdapat perbedaan positifitas secara bermakna ( $p = 0,012$ ) antara selaput hayati (*biofilm*) kepala pancuran, dinding keran air dingin dan dinding pipa dengan derajat kepercayaan 95%. Analisis keeratan menunjukkan nilai OR biofilm

yang diambil melalui kepala pancuran (*showerhead*) sebesar 6,0 dibandingkan dengan selaput hayati (*biofilm*) yang berasal dari dinding pipa. Hal tersebut berarti peluang kejadian kepositifan biofilm kepala pancuran 6 kali lebih besar dibandingkan dengan biofilm dinding pipa. Sedangkan nilai OR biofilm dinding keran sebesar 1,23 dibandingkan dengan selaput hayati dinding pipa, artinya peluang kepositifan selaput hayati dinding keran 1,23 kali lebih besar dibandingkan dengan selaput hayati dinding pipa. Hal ini sesuai dengan penelitian Costa *et al.* yang menyatakan bahwa jumlah selaput hayati (*biofilm*) yang terbentuk di dinding pipa sumber air lebih sedikit daripada sistem perpipaan.

Analisisan kepositifan *L. pneumophila* pada keran air dingin dan keran air panas kepala pancuran (*showerhead*) menunjukkan bahwa nilai kepositifan terbanyak berasal dari keran air panas kepala pancuran (*showerhead*) yaitu sebanyak 16 sampel (66,7%) sedangkan nilai kepositifan di keran air dingin hanya 7 sampel (29,2%). Analisisan statistik dengan uji regresi logistik terbukti bahwa kepositifan yang bermakna ( $p = 0,009$ ) di kepala pancuran sistem perpipaan air panas dibandingkan dengan keran sistem perpipaan air dingin pada derajat kepercayaan 95%. Analisis keeratan menunjukkan nilai OR sebesar 4,85 artinya peluang kepositifan pada kepala pancuran (*showerhead*) 4,85 kali lebih besar dibandingkan dengan air keran air dingin. Hal ini sesuai dengan penelitian Stout *et al.* yang menyatakan bahwa kepekatan (konsentrasi) *L. pneumophila* di sistem perpipaan air panas lebih tinggi dibandingkan dengan sistem perpipaan air dingin maupun sumber air.<sup>10</sup>

Disimpulkan kepekatan bakteri *L. pneumophila* berdasarkan selaput hayati, sesuai penelitian Stout dan Yu,<sup>12</sup> di sistem perpipaan air panas lebih tinggi dibandingkan dengan sistem perpipaan air keran dingin maupun sumber air. Hal ini disebabkan di sistem perpipaan air panas, endapan, selaput hayati di katup, kelengkapan (*fitting*), dan dinding pipa tidak hanya memberi makan bakteri, tetapi juga melindungi dari air panas dan desinfektan.

Hasil biakan dan pemeriksaan PCR Gen 16S rRNA *L. pneumophila* sistem distribusi air menunjukkan bahwa terdapat tujuh BP yang biakan dan hasil PCR-nya positif. Sedangkan yang biakkannya negatif tetapi pemeriksaan PCR positif terdapat 19 BP dan biakan positif tetapi PCR negatif ditemukan delapan BP biakan BCYE positif dan hasil PCR *L. pneumophila* positif dapat diartikan bahwa bakteri dalam koloni tersebut adalah *L. pneumophila*. Biakan positif tetapi hasil PCR-nya negatif (*negative*), dapat berarti bahwa koloni di media biakan yang tumbuh tersebut bukan *L. pneumophila* tetapi *Legionella* spesies lain. Biakan negatif dan hasil PCR negatif mengisyaratkan bahwa

tidak terdapat *L. pneumophila* di bahan periksaan tersebut.

Biakan dan PCR positif di penderita pneumonia nosokomial di ruang 10A dan GICU menunjukkan bahwa penderita tersebut terjangkit (-infeksi) bakteri *L. pneumophila*. Sedangkan hasil positif di sistem sebaran (distribusi) air ruang 10A dan GICU menunjukkan bahwa jaringan sebaran (distribusi) air di kedua ruang tersebut mengandung *Legionella* spp. Adanya *Legionella* spp., kemungkinan besar dapat menimbulkan jangkitan (infeksi) penderita yang dirawat di ruang tersebut. Secara umum, terdapat kenasaban (korelasi) yang kuat antara kesepancaran (homologi) dan fungsi gen. Maka untuk mempelajari fungsi urutan (sekuen) gen yang baru ditemukan, dilakukan dengan melihat kesepancaran (homologi)-nya dengan urutan (sekuen) basa yang telah diketahui dalam dasar data (*database*).<sup>16</sup>

Bila *L. pneumophila* sistem sebaran (distribusi) air dan *L. pneumophila* dari dahak (sputum) penderita pneumonia nosokomial yang dirawat di ruang tersebut memiliki kesepancaran (homologi) yang tinggi  $\geq 99\%$ . Maka dapat disimpulkan bahwa penderita itu tercemari (-kontaminasi) oleh *L. pneumophila* yang berasal dari sistem sebaran (distribusi) air di ruangan 10A karena kesepancaran (homologi)  $\geq 99\%$  menunjukkan spesies yang sama.<sup>15</sup>

Periksaan homologi *L. pneumophila* dari jaringan sebaran (distribusi) air dan dari penderita pneumonia nosokomial di ruang 10A menggunakan analisis statistik metode BLAST. Ternyata antara urutan (sekuens) basa gen 16S rRNA *L. pneumophila* di sistem sebaran air dan dahak penderita pneumonia nosokomial di ruang 10A memiliki kesepancaran 99% seperti terlihat di tabel 4. Hasil ini menunjukkan bahwa kedua *L. pneumophila* tersebut berasal dari spesies yang sama. Karena penderita tersebut sebelumnya tidak menderita pneumonia dan terjangkit pneumonia setelah lima (5) hari dirawat di ruang 10A, maka disimpulkan bahwa jaringan sebaran air di ruang 10A merupakan sumber penularannya. Kesimpulan ini diambil berdasarkan teori yang menyatakan bahwa jika hasil menganalisis isolat penderita dan isolat lingkungan benar-benar sama (bersepuncar (-homologi) tinggi), maka sumber tersebut dapat dinyatakan sebagai cadangan (*reservoir*) epidemiologis.<sup>16</sup>

Temuan kasus tunggal di rumah sakit dapat menunjukkan kemungkinan ada kasus lain yang belum terungkap. Para peneliti juga berpendapat bahwa, bila dalam sistem sebaran (distribusi) air di rumah sakit ditemukan *L. pneumophila*, maka kasus pneumonia nosokomial yang disebabkan oleh *L. pneumophila* kemungkinan dapat juga ditemukan. Dengan demikian pengelola rumah sakit harus melakukan tindakan untuk menjamin keselamatan penderita rawat inapnya.

Periksaan kesepancaran *L. pneumophila* didapat dari sistem sebaran air dan dahak penderita pneumonia di ruang 10A dengan *L. pneumophila* dinyatakan sebagai penyebab KLB di beberapa rumah sakit di negara lain datanya tersimpan di *GenBank*. Hal ini menunjukkan bahwa *L. pneumophila* yang dikenali (-identifikasi) tersebut berbeda secara genetik dengan *L. pneumophila* penyebab KLB di beberapa negara lain. Perbedaan genetik ini dapat menyebabkan perbedaan daya virulensi bakteri, hal ini mungkin merupakan jawaban mengapa di RSHS belum pernah dilaporkan KLB pneumonia nosokomial yang disebabkan oleh bakteri *L. pneumophila*. Perbedaan genetik antara *L. pneumophila* di RSHS sebagai penyebab KLB di beberapa rumah sakit di negara lain yang datanya tersimpan di *GenBank* disebabkan perpindahan (mutasi) gen akibat lingkungan yang berbeda. Sehingga penelitian telah berhasil mengenali bakteri baru. *L. pneumophila* yang secara faali sifat sama dengan *L. pneumophila*. Datanya tersimpan di *GenBank*, tetapi rangkaian genetik gen 16S rRNA berbeda (dengan kesepancaran/homologi hanya 44%).

### Hasil Menganalisis Phylogeni *L. pneumophila*

Didasari hasil *phylogeni*, terlihat bahwa bakteri terkenali di dahak penderita pneumoni nosokomial di ruang 10A termasuk satu spesies dengan bakteri yang ditemukan dalam selaput hayati jaringan distribusi air di ruangan tersebut. Hal ini mendukung pendapat bahwa jaringan sebaran (distribusi) air di ruang tersebut merupakan sumber jangkitan (infeksi) pneumonia nosokomial *L. pneumophila*. Didasari hasil menganalisis kekerabatan terlihat bahwa bakteri yang dikenali (-identifikasi) di dahak (sputum) penderita pneumoni nosokomial di ruang 10A dan *biofilm* ruang 10A kekerabatannya secara genetik gen 16S rRNA dekat dengan *uncultured bacterium clone nbt . SEQ, Legionella pneumophila strain CA1.SEQ, Xanthomonas sp. SEQ, Legionella pneumophila strain ATCC33156. SEQ* dan *Uncultured bacterium clone.SEQ*.

Hasil analisis kesepancaran menggunakan piranti lunak bioinformatika BLAST, didapat gen 16S rRNA *L. pneumophila* dalam jaringan sebaran air dan penderita pneumoni nosokomial di RSHS berhomologi 44% dengan gen 16S rRNA *L. pneumophila*. Sebagai penyebab KLB yang datanya tercatat di *GenBank*. Hal tersebut ditunjang dengan analisis *phylogeni* yang di antaranya memperlihatkan kekerabatan yang berbeda. Berarti untaian basa 16S rRNA *L. pneumophila* yang ditemukan dalam sistem sebaran (distribusi) air di RSHS bersepancaran (homologi) yang rendah dibandingkan dengan *L. pneumophila* penyebab KLB yang datanya tercatat di *GenBank*.

## SIMPULAN

### Simpulan telitian ini adalah:

1. Jaringan sebaran (distribusi) air di ruang rawat inap RSHS dapat menjadi sumber penularan pneumonia nosokomial *L. pneumophila*.
2. Bakteri *L. pneumophila* baru telah dapat dikenali (-identifikasi) yang secara genetik gen 16S rRNA-nya berbeda dengan *L. pneumophila* yang datanya tersimpan di *GenBank*.

## DAFTAR PUSTAKA

1. PR Murray, KS Rosenthal, MA Pfaffer. *Legionella*. Dalam: Schmitt W, penyunting. *Medical microbiology*. Edisi ke-5., Philadelphia, Elsevier Mosby, 2005; 391–6.
2. Mulazimoglu L, Yu VL. *Legionella spp infection*. Dalam: Yu VL, penyunting. *Harrison's principles of internal medicine*. Edisi ke-14., New York, McGraw-Hill, 1998; 936–43.
3. Botet MLP, Stout JE, Yu VL. *Legionnaires disease contracted from patient homes: the coming of third plague*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2002; 21: 699–705.
4. Win CW. *Legionella historical perspective*. J Clin Microbiol Rev. 1998; 1(60): 1–2.
5. Bell M. *Legionella spp*. Dalam: Wilson WR, Sande MA, penyunting. *Current diagnosis & treatment in infectious diseases*. New York, Lange Medical Books/McGraw-Hill, 2001; 614–9.
6. Borella P, Montagna T, Spica VR, Stampi S, Stancanelli G, Triassi M, dkk. *Legionella infection risk from domestic hot water*. Emerging Infect Dis. 2004; 10(3): 457–64.
7. Rodgers FG, Paschke AW. *Legionella*. Dalam: Balows A, penyunting. *Manual of clinical microbiology*. Edisi ke-5., Washington D.C, Am Soc Microbiol, 1991; 442–61.
8. Win WC. *Legionella*. Dalam: Murray PR, Baron EJ, Pfaffer MA, Tenover PC, Yolken RH, penyunting. *Manual of clinical microbiology*. Edisi ke-6., Washington DC, ASM Press, 1995; 533–43.
9. Fields BS, Benson RF, Besser RE. *Legionella and Legionnaires' disease: 25 years of investigation*. Clin Microbiol Rev. 2002; 15: 506–20.
10. Stout JE, Yu VL. *Legionellosis*. N Engl J Med. 1997; 337: 682–7.
11. Giacometti A, Cirioni O, Schimizzi AM, Del Prete MS, Barchiesi F, Errico MMD, dkk. *Epidemiology and microbiology of surgical wound infections*. J Clin Microbiol. 2000; 38: 918–22.
12. Stout JE, Yu VL. *Legionella in the hospital water supply: a plea for decision making based on evidence-based medicine*. Infect Control Hospital Epidemiol. 2001; 22: 1–6.
13. World Health Report 2004 (diunduh 20 Januari 2007). Tersedia dari: - <http://www.who.int/whr/en/>
14. Robert JB. *Bioinformatics*. Dalam: Patrick ER, penyunting. *Genetics analysis and principles*. Edisi ke-2., New York, McGraw-Hill Co, 2005; 589–99.
15. Kellie M. *The importance of 16S rRNA bacterial spore identification*. Spore News. 2004; 1: 1–3
16. Samrakandi MM, Cirillo SJG, Ridenour DA, Bermudez LE, Cirillo JD. *Genetic and phenotypic differences between Legionella pneumophila strains*. J Clin Microbiol. 2002; 40: 1352–62.