

TESIS

**STUDI RESISTENSI ANTIBIOTIK BERDASARKAN
CPS (COAGULASE POSITIVE STAPHYLOCOCCUS)
PADA SPESIMEN MUKOSA HIDUNG ANJING
DI SURABAYA**



Oleh :

RISTIN RIWAYANTI, S.Pt

NIM 060942009

**PROGRAM STUDI MAGISTER
ILMU PENYAKIT DAN KESEHATAN MASYARAKAT VETERINER
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2012**

**STUDI RESISTENSI ANTIBIOTIK BERDASARKAN
CPS (COAGULASE POSITIVE STAPHYLOCOCCUS)
PADA SPESIMEN MUKOSA HIDUNG ANJING
DI SURABAYA**

Tesis
Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister
Pada
Program Studi S2 Ilmu Penyakit dan Kesehatan Masyarakat Veteriner
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh

RISTIN RIWAYANTI, S. Pt

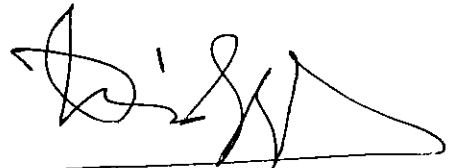
NIM 060942009

Menyetujui,
Komisi Pembimbing,



(Dr. MUSTOFA HELMI EFFENDI, drh., DTAPH)

Pembimbing Utama



(Dr. NGAKAN MADE RAI WIDJAJA, drh., MS)

Pembimbing Kedua

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam Tesis berjudul :

**STUDI RESISTENSI ANTIBIOTIK BERDASARKAN CPS (COAGULASE
POSITIVE STAPHYLOCOCCUS) PADA SPESIMEN MUKOSA
HIDUNG ANJING DI SURABAYA**

tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar Magister di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surabaya, 28 Maret 2012

RISTIN RIWAYANTI, S.Pt
NIM 060942009

Telah diuji pada :

Tanggal 28 Maret 2012

KOMISI PENGUJI TESIS

Ketua : Prof. Dr. Setiawan Koedarto, drh., M.Sc

Sekretaris : Dr. Iwan Syahrial, drh., M.S

Anggota : Dr. Hario Puntodewo S, drh., M. App.Sc

Pembimbing Utama : Dr. Mustofa Helmi Effendi, drh., DTAPH

Pembimbing Serta : Dr. Ngakan Made Rai Widjaja, drh., M.S

Telah diuji pada

Tanggal : 28 Maret 2012

KOMISI PENGUJI TESIS

Ketua : Prof. Dr. Setiawan Koesdarto, drh., M.Sc.

Anggota : Dr. Iwan Syahrial Hamid, drh., M.S

Dr. Hario Puntodewo S, drh., M. App.Sc

Dr. Mustofa Helmi Effendi, drh., DTAPH

Dr. Ngakan Made Rai Widjaja, drh., M.S

Surabaya, 30 Maret 2012

Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Airlangga Surabaya
Dekan,

Prof. Hj. Romziah Sidik, drh., Ph.D
NIP. 195312161978062001

**STUDY OF ANTIBIOTIC RESISTANCE BASED ON CPS (COAGULASE-
POSITIVE STAPHYLOCOCCUS) OF DOG NASAL MUCOSA SPECIMENS
IN SURABAYA**

Ristin Riwayanti

ABSTRACT

The research was conducted by study of resistance based on the CPS on the nasal mucosa specimens of dogs in Surabaya. The first step was the purification of isolates to obtain CPS bacteria (*Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus intermedius*). Swab the dog nasal mucosa were purified on MSA media, and based on coccus clusters form of morphology, positive catalase and positive coagulase could be defined as CPS. The result of further sensitivity tested showed the two isolates of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus intermedius* were known to have the same picture of the resistance to methocillin where the suspected MRSA (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) and MRSI (methicillin-resistant *Staphylococcus intermedius*). Based on these results concluded that there was horizontal gene transfer-resistant between *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus intermedius* on the same dog.

Key words : sensitivity test, CPS (Coagulase-Positive *Staphylococcus*), *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, horizontal resistant gene transfer.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur Kehadirat Allah SWT atas karunia yang telah dilimpahkan sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan Proposal Tesis dengan judul **Studi Resistensi Antibiotik Berdasarkan CPS (*Coagulase Positive Staphylococcus*) Pada Spesimen Mukosa Hidung Anjing Di Surabaya.**

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada : Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Prof. Hj. Romziah Sidik, drh., Ph.D dan Ketua Program Studi Magister IPKMV (Ilmu Penyakit dan Kesehatan Masyarakat Veteriner) Dr. Lucia Tri Suwanti, drh., M.P atas kesempatan mengikuti pendidikan di Program Studi Magister IPKMV Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Dr. Mustofa Helmi Effendi, drh., DTAPH selaku pembimbing utama dan Dr. Ngakan Made Rai Widjaja, drh., MS selaku pembimbing kedua, atas saran dan bimbingannya sampai dengan selesainya Tesis ini.

Prof. Dr. Setiawan Koesdarto, drh., M.Sc selaku Ketua penguji, Dr. Iwan Syahrial Hamid, drh., M.S selaku sekretaris penguji dan Dr. Hario Puntodewo S. drh., M. App. Sc selaku anggota penguji.

Seluruh Staf pengajar Magister IPKMV Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas wawasan keilmuan selama mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Suami tercinta Budi Harto, S. Pi., MM, anakku Miftahul Jannah dan Salsabila dan teman-teman seangkatan dalam menempuh Pendidikan Magister IPKMV Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga di Surabaya yang telah memberikan bantuan doa, dorongan dan semangat.

Semoga penelitian ini berguna bagi diri sendiri khususnya dan kesehatan masyarakat pada umumnya.

Surabaya, 28 Maret 2012

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERNYATAAN	iii
HALAMAN IDENTITAS	iv
ABSTRACT.....	vi
UCAPAN TERIMAKASIH.....	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
DAFTAR SINGKATAN/SIMBOL.....	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Penelitian	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Manfaat Hasil Penelitian	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 <i>Staphylococcus</i>	6
2.1.1 Fisiologis <i>Staphylococcus</i>	11
2.1.2 Struktur Antigen <i>Staphylococcus</i>	12
2.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	12
2.3 <i>Staphylococcus intermedius</i>	14
2.4 Antibiotik	16
2.4.1 Antibiotik Beta-Laktam	17
2.5 Resistensi Antibiotik	24
2.6 Transfer Resistensi Antibiotik pada <i>Staphylococcus</i>	26
2.7 Transfer Resistensi Antibiotik secara Horizontal	28
BAB 3 MATERI DAN METODE	30
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	30
3.2 Bahan dan Alat	30
3.2.1 Bahan	30
3.2.1 Alat	31
3.3 Metode Penelitian	31
3.3.1 Sampel Penelitian	31
3.3.2 Isolasi <i>Staphylococcus</i>	32
3.3.3 Identifikasi genus <i>Staphylococcus</i>	33

3.3.4 Uji Resistensi Antibiotik	34
3.3.5 Definisi Operasional Variabel.....	35
3.4 Rancangan Penelitian.....	37
3.5 Pengolahan Data	37
3.6 Diagram Prosedur Identifikasi Genus <i>Staphylococcus</i>	38
3.7 Diagram Prosedur Uji Resistensi Antibiotik	39
BAB 4 HASIL PENELITIAN.....	40
4.1 Identifikasi Bakteri.....	40
4.2 Uji Resistensi Antibiotik Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus</i> sp	44
4.3 Gambaran Resistensi.....	47
4.4 Transfer Gen Resisten Secara Horizontal.....	47
BAB 5 PEMBAHASAN.....	52
5.1 Identifikasi Bakteri.....	52
5.2 Uji Resistensi Antibiotik Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus</i> sp	56
5.3 Gambaran Resistensi.....	59
5.4 Transfer Gen Resisten Secara Horizontal.....	61
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN.....	67
6.1 Kesimpulan	67
6.2 Saran	67
RINGKASAN.....	69
DAFTAR PUSTAKA.....	71
LAMPIRAN.....	77

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1 Tabel Identifikasi Isolat <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Staphylococcus intermedius</i>	43
4.2 Tabel Jumlah Isolat <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Staphylococcus intermedius</i>	44
4.3 Tabel Hasil Pengukuran Zona Inhibisi	45
4.4 Tabel Gambaran Resistensi Isolat <i>Staphylococcus sp</i>	47
4.5 Tabel Pengamatan Kejadian Transfer Resisten Horizontal	47
4.6 Tabel Isolat yang Resisten terhadap lebih dari Satu Antibiotik	51

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Rumus Bangun Penisilin	20
2.2 Rumus Bangun Sefalosporin	21
3.1 Diagram Prosedur Identifikasi Genus <i>Staphylococcus</i>	38
3.2 Diagram Prosedur Uji Resistensi Antibiotik	39
4.1 Identifikasi <i>Staphylococcus</i> sp Berdasarkan Pemeriksaan Makroskopik	40
4.2 Identifikasi <i>Staphylococcus</i> sp Berdasarkan Pemeriksaan Mikroskopik dengan Pewarnaan Gram	41
4.3 Uji Katalase pada Isolat <i>Staphylococcus</i> sp	42
4.4 Uji Koagulase pada Isolat <i>Staphylococcus</i> sp	42
4.5 Hasil Pengukuran Zona Inhibisi	48

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Perhitungan Gambaran Resistensi <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i>	78

BAB 1

PENDAHULUAN

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Banyak yang beranggapan bahwa satu-satunya penyebab penyakit kulit bakterial pada anjing adalah *Staphylococcus aureus* dimana *Staphylococcus aureus* bersifat koagulase positif dan merupakan flora normal namun bisa bersifat patogen. Namun sejak *Staphylococcus intermedius* berhasil diisolasi dari kulit anjing sehat maupun dari pus anjing penderita *pyoderma* maka *Staphylococcus intermedius* diidentifikasi sebagai species baru yang spesifik pada anjing dan sifatnya sangat mirip dengan *Staphylococcus aureus* (Hajek, 1976). Pada anjing *Staphylococcus intermedius* telah dikenal sebagai salah satu species CPS (*Coagulase Positive Staphylococcus*) (Phillips dan Williams, 1984; Cox *et al*, 1988).

Dua jenis CPS pada anjing adalah *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus intermedius* yang ditandai sebelumnya melalui uji pewarnaan gram, uji katalase dan uji koagulase. Berdasarkan CPS dapat diamati untuk melihat resistensi metisilin. Karena pada genus CPS terdapat chromosom yang disebut SCC (*Staphylococcus Cassete Chromosom*) gen *MecA*, dimana gen *MecA* adalah gen penyandi resisten terhadap metisilin.

Rachal *et al.*, (2009), melaporkan bahwa *Staphylococcus* yang resisten terhadap metisilin telah diisolasi dari hewan peliharaan yang sehat. Isolat tersebut mempunyai karakteristik sama dengan strain MRSA (Metisilin

Resisten *Staphylococcus aureus*) yang terdapat pada manusia, padahal metisilin tidak digunakan untuk terapi hewan. Fenomena di atas menggambarkan adanya kemungkinan telah terjadi transfer resistensi.

Hoekstra dan Paulton (2002) mengatakan bahwa infeksi bakteri *Staphylococcus* biasanya diobati dengan antibiotik. Resiko penggunaan antibiotik secara luas dan berlebihan tanpa mengenal lebih lanjut karakteristik bakteri penyebab penyakit menyebabkan adanya resistensi bakteri terhadap antibiotik (Quinn *et al.*, 2002).

Uji sensitivitas untuk mengetahui resistensi *Staphylococcus* sp terhadap antibiotik beta laktam digunakan antibiotik golongan penisilin kelompok spektrum luas (amoksisilin, ampisilin) dan kelompok penisilin anti-stafilokokal (kloksasilin dan metisilin). Amoksisilin dan ampisilin dipilih karena umumnya digunakan pada pengobatan bakteri berspektrum luas, sedangkan metisilin dan kloksasilin khusus untuk mengatasi bakteri *Staphylococcus* sp dimana keunggulannya adalah tahan terhadap aktivitas beta-laktamase. Terpenting dalam uji sensitivitas adalah untuk mengetahui adanya resistensi metisilin pada anjing karena metisilin tidak diberikan pada hewan terutama anjing.

Dalam perkembangannya lebih lanjut penting untuk melihat gejala klinis pada manusia, ternyata pada isolasi infeksi serius pada manusia muncul penyebaran resistensi metisilin strain *Staphylococcus pseudintermedius*. *Staphylococcus pseudintermedius* merupakan strain dari spesies

Staphylococcus intermedius yang patogen dan identik berada pada hewan terutama anjing.

Predileksi *Staphylococcus intermedius* pada anjing dilaporkan mempengaruhi tingkat resistensi *Staphylococcus intermedius* terhadap antibiotik. Menurut Pedersen (2007) tingkat resistensi *Staphylococcus intermedius* terhadap antibiotik tertinggi pada isolat yang berasal dari rongga hidung dan mulut (100%), menyusul kulit (84%) dan telinga (72%).

Menurut laporan Dinas Peternakan Provinsi Jawa Timur populasi anjing di Surabaya tahun 2009 mencapai 17.607 ekor. Angka tersebut jauh lebih tinggi dibandingkan wilayah lain di Jawa Timur, sehingga diperlukan perhatian besar oleh pemerintah maupun lembaga terkait guna melindungi kesehatan manusia, mengingat anjing umumnya dipelihara sebagai *pet animal*, sementara anjing sendiri berpeluang sebagai *carrier* terhadap suatu penyakit.

Dengan dilakukan studi resistensi akan dapat digambarkan resistensi *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus intermedius* terutama terhadap metisilin yang berguna untuk pengendalian penularan gen resisten metisilin yang dapat mengawatirkan masyarakat, karena tingkat penularan akibat transfer gen resisten sifatnya sangat cepat menyebar, dengan jangkauan wilayah yang luas.

Di Indonesia belum banyak studi yang mengkaji keberadaan *Staphylococcus intermedius* serta resistensinya terhadap metisilin pada anjing

maupun pemiliknya, sehingga upaya pencegahan dan pengendalian penularan untuk melindungi manusia otomatis belum bisa dilakukan. Padahal seperti yang disebutkan literatur dan jurnal asing bahwa terdapat *Staphylococcus intermedius* pada anjing yang resisten terhadap metisilin yang disebut MRSI. *Staphylococcus aureus* pada manusia juga resisten terhadap metisilin yang disebut MRSA dan dapat menular pada anjing. Kedua isolat merupakan bakteri patogen dan kemungkinan bisa zoonosis.

Berdasarkan latar belakang tersebut di atas maka dilaksanakan penelitian studi resistensi antibiotik berdasarkan CPS pada spesimen mukosa hidung anjing di Surabaya guna mengetahui adanya CPS yang resisten terhadap antibiotik dan mengetahui adanya transfer gen resisten horizontal.

1.2 Rumusan Masalah

- 1.2.1 Spesies *Staphylococcus* apa saja yang dapat diisolasi dari mukosa hidung anjing di Rumah Sakit Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya dan Rumah Sakit Hewan SETAIL Jalan Setail nomor 3 Surabaya berdasarkan uji CPS?
- 1.2.2 Bagaimana gambaran sensitivitas spesies *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus intermedius* hasil uji CPS terhadap antibiotik amoksisilin, ampisilin, kloksasilin, metisilin?
- 1.2.3 Adakah kejadian transfer gen resisten secara horizontal?

1.3 Tujuan Penelitian

- 1.3.1 Mengidentifikasi spesies *Staphylococcus* pada isolat yang berasal dari mukosa lubang hidung anjing di Rumah Sakit Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya dan Rumah Sakit Hewan SETAIL Jalan Setail nomor 3 Surabaya berdasarkan uji CPS.
- 1.3.2 Menetapkan gambaran resistensi *Staphylococcus* terhadap antibiotik : amoksisilin, ampisilin, kloksasilin dan metisilin melalui uji resistensi antibiotik.
- 1.3.3 Mengetahui kejadian transfer gen resisten secara horizontal di wilayah Surabaya.

1.4 Manfaat Penelitian

Sebagai dasar bagi pengambil keputusan dibidang kesehatan hewan dalam rangka pencegahan dan pengendalian penyakit yang disebabkan agen *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus intermedius* pada anjing di Surabaya.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Staphylococcus* sp

Staphylococcus adalah bakteri gram positif berbentuk bulat, dengan diameter rata-rata 1 μm yang koloninya cenderung irregular dan berbentuk seperti buah anggur dalam rantai sendiri, berpasangan dua atau bahkan empat (Gyles *et al.*, 2004). Nama *Staphylococcus* berasal dari bahasa Yunani *staphyle* dan *kokkos* yang artinya setangkai anggur. Saat ini ada kurang lebih 30 species *Staphylococcus* yang diketahui merupakan flora normal pada kulit dan membran mukosa bahkan beberapa species berpotensi patogen dan menyebabkan infeksi pyogenik. Pada umumnya *Staphylococcus* merupakan bakteri fakultatif an aerob dan katalase positif, non motil, oksidase negatif, dan tidak membentuk spora (Quinn *et al.*, 2002). *Staphylococcus intermedius* merupakan bakteri koagulase positif spesifik yang terdapat pada kulit, mukosa serta infeksi serius pada anjing. Beberapa dari *Staphylococcus* yang patogen dapat memproduksi enzim yang dinamakan enzim koagulase yang dapat dideteksi untuk menentukan jenis *Staphylococcus* yang diisolasi (Winn *et al.*, 2006). Berikut merupakan taksonomi *Staphylococcus* sp.

Klasifikasi genus *Staphylococcus* adalah

Kingdom : Monera
Phylum : Firmicutes
Class : Bacilli

Order : Bacillales
Family : Staphylococcaceae
Genus : *Staphylococcus*
Spesies : *Staphylococcus* sp (Garrity *et al.*, 2003)

Genus *Staphylococcus* sp mempunyai dua species yaitu *Staphylococcus aureus* subsp *Anaerobius* dan *Staphylococcus saccharolyticus* yang merupakan bakteri anaerob dan katalase negatif. Genus CPS (*Coagulase Positive Staphylococcus*) *Staphylococcus aureus* subsp *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, dan *Staphylococcus hyicus* merupakan bakteri yang penting karena berpotensi patogen pada hewan. Bakteri yang mempunyai kemampuan mengkoagulasi plasma merupakan bakteri patogen. Meskipun genus CNS (*Coagulase Negative Staphylococcus*) biasanya mempunyai daya virulensi rendah, namun beberapa species pada genus CNS masih berpotensi menyebabkan penyakit baik pada hewan maupun manusia (Quinn *et al.*, 2002).

Secara genotip, terdapat standart minimal bakteri untuk diklarifikasikan sebagai *Staphylococcus*, yaitu mempunyai guanin dan sitosin 30-39 mol%. Kreteria lainnya merujuk pada spesies bakteri yang belum diketahui berdasarkan kontruksi pohon filogenitik jika dibandingkan dengan 16S rRNA atau 23S rRNA (Gyles *et al.*, 2004).

Secara fenotif dapat dilakukan dengan beberapa eksaminasi seperti reaksi gram, morfologi sel, struktur membran sel (tipe peptidoglikan dan

keberadaan asam teikoid), aerobik dan metabolisme fermentatif, katalase, dan motilitas (Freney *et al.*, 2004).

Reaksi katalase positif pada seluruh *Staphylococcus* spesies terkecuali pada *Staphylococcus aureus subsp. Anaerobius* dan *Staphylococcus saccharolyticus*. *Staphylococcus* merupakan bakteri fakultatif anaerobik terkecuali pada spesies *Staphylococcus aureus subsp. Anaerobius* dan *Staphylococcus saccharolyticus*. dimana keduanya merupakan bakteri anaerobik (Gyles *et al.*, 2004).

Uji koagulase dapat digunakan untuk membedakan beberapa *Staphylococcus* seperti *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus intermedius* yang merupakan koagulase positif (+), sedangkan koagulase negatif *Staphylococcus* merupakan ciri dari *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus* dan *Staphylococcus schleiferi subsp. Schleiferi* (Winn *et al.*, 2006).

CPS adalah genus *Staphylococcus* yang sebelumnya melalui pewarnaan gram, tes produksi katalase dan uji koagulase positif. Pada CPS mengandung SCC (*Staphylococcal Cassette Chromosome mecA*), dimana gen *mecA* merupakan gen penyandi resisten terhadap metisilin. Menurut peneliti sebelumnya bahwa gen *mecA* pada CPS hampir diperoleh 100% dibandingkan pada CNS (*Coagulase Negatif Staphylococcus*) yang prosentasenya lebih sedikit (Hussain *et al* 2000). Oleh karena itu uji resistensi antibiotik didasarkan pada CPS.

Sifat patogen pada *Staphylococcus*; dapat menghemolisis eritrosit, menghasilkan koagulasi dapat membentuk pigmen, dapat memecah *mannitol* menjadi asam. Sedangkan sifat non patogen *Staphylococcus*; non hemolitik, tidak menghasilkan koagulasi, koloni berwarna putih dan tidak memecah *mannitol*. *Staphylococcus* memproduksi berbagai macam toksin dan enzim yang dalam aksinya merupakan pertahanan bagi mereka saat proses fagositosis oleh neutrofil (Tally and Barg, 1999). Beberapa produk sel *Staphylococcus* yang dapat menyebabkan kerusakan jaringan antara lain enzim *hyaluronidase*, *coagulase*, *staphylokinase*, *leucocidin*, *streptolysin*, *hemolysin*, protein A, *exotoxin*, *exfoliative toxin*, dan super antigen (Hnilica, 2006).

Patogenitas bakteri *Staphylococcus* sp sangat bergantung pada produk intraseluler (cell-associated) dan protein ekstraseluler. Salah satunya adalah protein permukaan yaitu protein-A. Protein-A sebagai protein permukaan yang berikatan secara kovalen dengan struktur peptidoglikan yang terdapat pada dinding sel sejumlah strain CPS. Protein-A sebagai protein permukaan secara khusus bersifat patogenik pada bakteri *Staphylococcus*. Protein ini mempunyai peran dalam mekanisme bakteri menginfeksi tubuh inang. Diantaranya berperan dalam pelekat (adhesi), kolonisasi, dan perusakan sel pada berbagai jaringan tubuh. Selain itu efek biologis yang ditimbulkan diantaranya reaksi hipersensitif diperlambat, menghambat opsonisasi antifagositosis. Selanjutnya, protein-A mempunyai kemampuan untuk

berikatan secara non-imun dengan reseptor bagian fc dari immunoglobulin (Ig) pada kebanyakan species mamalia kecuali Ig pada unggas (Suarsana, 2005).

Untuk mengisolasi *Staphylococcus*, dapat digunakan media selektif yaitu MSA (*Mannitol Salt Agar*). Media ini akan mampu menghambat pertumbuhan jenis bakteri lain karena kadar garamnya yang cukup tinggi. Kandungan *mannitol* pada media ini digunakan untuk membedakan jenis *Staphylococcus* yang patogen dan yang tidak patogen, dimana *Staphylococcus* yang patogen akan memfermentasi *mannitol* untuk membentuk asam dan merubah warna media menjadi kuning (Prescott *et al.*, 2003). Patogenitas *Staphylococcus* juga dapat dilihat pada kemampuannya mengkoagulasi plasma. Enzim koagulase yang dihasilkan oleh *Staphylococcus* akan merubah fibrinogen menjadi fibrin sehingga menyebabkan penggumpalan plasma (Quinn *et al.*, 2002).

Setiap species *Staphylococcus* mempunyai karakteristik dan sifat biokimia yang berbeda-beda sehingga diperlukan beberapa uji biokimia untuk memastikan speciesnya. Untuk membedakan antar spesies dari CPS dapat dilakukan beberapa uji yaitu uji pertumbuhan pada media BPA (*Baird-Parker Agar*), Uji β -galaktosidase, uji *acetoin*, dan uji fermentasi *mannitol anaerob* (Roberson, 1992). Selain itu dapat juga dilakukan penanaman pada media Purple agar yang mengandung bromocresol purple sebagai indikator pH dan maltosa 1%. Media ini dapat digunakan untuk membedakan *Staphylococcus*

aureus dari *Staphylococcus intermedius* karena *Staphylococcus aureus* dapat menfermentasi maltose dan asam yang dihasilkan akan merubah warna media dan koloninya dari ungu menjadi kuning, sedangkan *Staphylococcus intermedius* yang mempunyai kemampuan fermentasi maltose yang rendah tidak merubah warna media (Quinn *et al.*, 2002).

Staphylococcus merupakan bakteri yang umum ditemukan pada jaringan kulit manusia ataupun hewan. *Staphylococcus* dapat disolasi dari hewan kesayangan seperti anjing dan kucing pada bagian mukosa dan kulit serta berperan pada bermacam-macam penyakit hewan (Hoekstra and Paulton, 2002). Pyoderma pada anjing, mastitis pada sapi serta epidermitis eksudatif pada babi merupakan beberapa contoh penyakit yang disebabkan oleh *Staphylococcus* (Quinn *et al.*, 2002).

Bakteri genus *Staphylococcus* yang dikenal patogen pada manusia adalah *Staphylococcus aureus* sedangkan *Staphylococcus intermedius* dikenal merupakan bakteri yang patogen pada hewan (Futagawa-Saito *et al.*, 2004).

2.1.1 Fisiologi genus *Staphylococcus* sp

Tumbuh paling baik pada suhu 22 °C - 37 °C. Umumnya dapat tumbuh dalam lingkungan aerob dan an aerob. Produksi warna terlihat baik pada situasi aerob dan terlihat paling baik pada kultur yang tumbuh pada suhu rendah. Produksi toksin pada semua spesies terlihat pada penanamannya didalam media sederhana yang berisi asam amino,

garam glukosa, dan faktor pertumbuhan yaitu tiamin dan asam nikotinat. Didalam media kaldu yang berisi dekstrosa, sukrosa, *maltosa*, dan *mannitol Staphylococcus* mampu memecah karbohidrat menjadi asam tanpa gas.

2.1.2 Struktur Antigen *Staphylococcus* sp

Kuman *Staphylococcus* mengandung polisakarida dan protein yang bersifat antigenik. Bahan ekstraseluler yang dibuat oleh kuman ini kebanyakan juga bersifat antigenik (Arief. *et al*, 2000). Polisakarida yang ditemukan pada jenis patogen disebut polisakarida A, dan yang ditemukan pada jenis yang tidak patogen disebut polisakarida B. Polisakarida A merupakan komponen dinding sel yang dapat dipindahkan dengan memakai asam kompleks peptidoglikan asam teikhoat dan dapat menghambat fagositosis. Bakteriofag terutama menyerang bagian ini (Arief. *et al.*, 2000). Antigen protein A terletak di luar antigen polisakarida, keduanya bersama-sama membentuk dinding sel kuman.

2.2 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif, tidak bergerak, tidak berspora dan mampu membentuk kapsul, berbentuk kokus dan tersusun seperti buah anggur. Ukuran *Staphylococcus* berbeda-beda tergantung pada media pertumbuhannya. Apabila ditumbuhkan pada media agar, *Staphylococcus* memiliki diameter 0,5-1,0 mm dengan koloni berwarna

kuning. Dinding selnya, mengandung asam teikoat, yaitu sekitar 40% dari berat kering dinding selnya (Bremer *et al*, 2004).

Staphylococcus aureus adalah bakteri anaerob fakultatif yang mampu memfermentasikan *mannitol* dan menghasilkan enzim koagulase, *hyalurodinase*, fosfatase, protease dan lipase. *Staphylococcus aureus* mengandung lysostaphin yang dapat menyebabkan lisisnya sel darah merah. Toksin yang dibentuk oleh *Staphylococcus aureus* adalah haemolysin alfa, beta, gamma, delta dan epsilon. Toksin lain ialah leukosidin, enterotoksin dan eksfoliatin. Enterotoksin dan eksoenzim dapat menyebabkan keracunan makanan terutama yang mempengaruhi saluran pencernaan. Leukosidin menyerang leukosidin menyerang leukosit sehingga daya tahan tubuh akan menurun. Eksofoliatin merupakan toksin yang menyerang kulit dengan tanda-tanda kulit terkena luka bakar (Bermer *et al.*, 2004).

Suhu optimum untuk pertumbuhan *Staphylococcus aureus* adalah 35 °C – 37 °C dengan suhu minimum 6,7 °C dan suhu maksimum 45,5 °C. Bakteri ini dapat tumbuh pada 4,0-9,8 dengan pH optimum 7,0-7,5 (Bermer *et al.*, 2004). Bakteri ini membutuhkan asam nikotinat untuk tumbuh dan akan distimulir pertumbuhannya dengan adanya tiamin. Pada keadaan anaerobik, bakteri ini juga membutuhkan urasil. Bakteri ini tidak dapat tumbuh pada media sintetik yang tidak mengandung asam amino atau protein (Pratama, 2005).

Faktor patogenitas *Staphylococcus aureus* berhubungan dengan adanya produksi enzim koagulase yang membedakan *Staphylococcus aureus* dari *Staphylococcus* lainnya. Selain itu *Staphylococcus aureus* dapat dibedakan dengan adanya fermentasi *mannitol* pada MSA serta dapat diisolasi dengan media selektif seperti Baird-Parker Agar, Lipase salt *mannitol* agar, dan DNase Test. *Staphylococcus aureus* juga dapat dibedakan dengan adanya produksi asetoin yang dapat diketahui melalui *Voges-Proskauer* (VP). Produksi acetoin dari glukosa merupakan alternatif ciri khas yang sangat berguna untuk membedakan *Staphylococcus aureus* dari species *Staphylococcus* koagulase positif yang lain seperti *Staphylococcus intermedius* serta beberapa strains koagulase positif *Staphylococcus hyicus* (Tirnata, 2007).

2.3 *Staphylococcus intermedius*

Staphylococcus intermedius merupakan bakteri koagulase positif yang berhasil dibedakan dengan *Staphylococcus aureus* melalui beberapa reaksi biokimia dan komposisi dinding selnya (Hajek, 1976). *Staphylococcus intermedius* merupakan flora normal yang dapat ditemukan pada permukaan kulit, rambut, telinga, dan gingiva anjing sehat dan flora normal pada nasopharyngeal burung merpati. Sama seperti *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius* juga diketahui membawa faktor virulensi seperti koagulase, *haemolysin*, *leucocin*, dan enterotoksin (Futagawa *et al.*, 2004).

Staphylococcus intermedius telah diperhitungkan sebagai salah satu species yang patogen dan menyebabkan infeksi kulit pada anjing termasuk *pyoderma* dan *otitis externa* (Hajek *et al.*, 1976). Peranan *Staphylococcus intermedius* dalam kasus infeksi pada manusia masih sangat jarang. Namun diketahui *Staphylococcus intermedius* dapat tumbuh sebagai flora normal nasopharyngel pada manusia akibat gigitan anjing (Talan *et al.*, 1989) Studi terakhir melaporkan *Staphylococcus intermedius* yang berhasil diisolasi dari pemilik anjing menunjukkan kesamaan jenis dengan *Staphylococcus intermedius* yang diisolasi dari anjing mereka (Quadrabasi *et al.*, 2004). Selanjutnya, enterotoxin yang diproduksi *Staphylococcus intermedius* juga telah dihubungkan dengan kasus keracunan makanan sehingga *Staphylococcus intermedius* cukup diwaspadai sebagai kasus zoonosis yang berpotensi patogen pada manusia (Becker *et al.*, 2011).

Untuk membedakan *Staphylococcus intermedius* dengan *Staphylococcus* koagulase lainnya seperti *Staphylococcus aureus* pada kebanyakan mamalia dan *Staphylococcus hyicus* pada babi, dilakukan beberapa tes biokimia (Phillips and Kloos, 1981). Dari hasil uji tersebut, didapatkan bahwa *Staphylococcus intermedius* mempunyai karakteristik tidak berpigmen, tidak memproduksi acetoin, tidak memanfaatkan *mannitol* secara anaerob, tidak tumbuh pada Media Agar dan *Baird-Parker* Agar (MBP), dan memproduksi β -galaktosidase (Roberson *et al.*, 1992).

2.4 Antibiotik

Antibiotik atau bisa disebut juga agen antimikrobia adalah metabolik mikrobia yang berat molekulnya rendah yang dapat membunuh ataupun menghambat bakteri yang sesuai (Quinn *et al.*, 2002).

Menurut Katzung (1995), kebanyakan antibiotik belum diketahui mekanisme kerjanya, tetapi bisa dikatakan bahwa cara kerja antibiotik dapat dibagi sebagai berikut : penghambat sintesis dinding sel, perubahan permeabilitas membran sel atau transport aktif melalui membran sel, penghambatan sintesis protein (penghambat translasi dan transkripsi material genetik), dan penghambatan sintesis asam nukleat.

Dalam level terapeutik, antibiotik terbagi atas sifat bakterisidal dan bakteriostatik (Quinn *et al.*, 2002). Istilah bakterisidal digunakan untuk obat yang menyebabkan kerusakan permanen dan kematian pada bakteri dengan mengikat secara irreversibel struktur sel target. Obat bakterisidal yang khas adalah beta-laktam dan aminoglikosida. Antibiotik bakteriostatik menggambarkan suatu obat yang sewaktu-waktu menghambat pertumbuhan bakteri. Obat yang khas digunakan adalah tetrasiklin dan sulfonamid (Katzung, 1995). Keberhasilan pengobatan dengan antibiotik bergantung kepada mekanisme pertahanan inang dan jika konsentrasinya tidak dijaga pada dosis efektif dalam tubuh maka bakteri dapat bertahan dalam tubuh. Pada konsentrasi tinggi beberapa agen bakteriostatik dapat bersifat bakterisidal (Quinn *et al.*, 2002).

2.4.1 Antibiotik Beta-Laktam

Beta-laktam adalah jenis antibiotik bakterisidal yang secara umum cara kerjanya menghambat sintesis dinding sel. Terdapat berbagai aktivitas pada antibiotik beta laktam ini selain sebagai penghambat selektif sintesis dinding sel seperti; Penisilin, Sefalosforin. Obat ini dinamakan beta-laktam karena mempunyai cincin laktam beranggotakan empat yang unik. Antibiotik beta-laktam yang beredar di masyarakat terbagi atas dua kelompok besar yaitu penisilin dan sefalosporin. Kedua kelompok tersebut mempunyai persamaan dalam sifat kimiawi, mekanisme kerja, efek farmakologik dan klinik, serta sifat imunologik (Katzung, 1995).

Antibiotik beta-laktam mempunyai beberapa mekanisme untuk membunuh bakteri, antara lain : perlekatan obat dengan reseptor spesifik pada bakteri merupakan langkah awal mekanisme kerja antibiotik beta-laktam. Penisilin ataupun sephalosporin pertama-tama akan berikatan dengan reseptor bakteri yang disebut PBPs (*Penicillin-Binding Proteins*). Reseptor yang berbeda pada setiap bakteri membuat cara kerja yang berbeda pula pada setiap bakteri, dimana perlekatan penisilin ke PBPs akan menyebabkan pemanjangan abnormal pada sel, sementara perlekatan pada sel lain menyebabkan kerusakan dinding sel pada perifer sehingga terjadi lisis sel (Katzung, 1995).

Lebih lanjut, Katzung (1995) mengatakan bahwa PBPs dipengaruhi oleh kontrol kromosom. Mutasi dapat mengubah nomor dan afinitas kromosom untuk obat beta-laktam yang spesifik. Setelah antibiotik beta-laktam melekat pada reseptornya, maka reaksi transpeptidasi dan sintesis peptidoglikan bakteri akan dihambat. Langkah selanjutnya melibatkan penghilangan suatu inhibitor enzim autolitik dalam dinding sel. Penghilangan enzim ini akan berakibat aktifnya enzim litik pada beberapa mikroorganisme dan dapat mengakibatkan lisis jika lingkungannya isotonis. Dalam lingkungan hipertonic mikroba dapat berubah menjadi protoplasma yang hanya dibungkus oleh membran sel yang rapuh. Dalam keadaan ini sintesis protein dan asam nukleat masih dapat berlangsung untuk beberapa waktu.

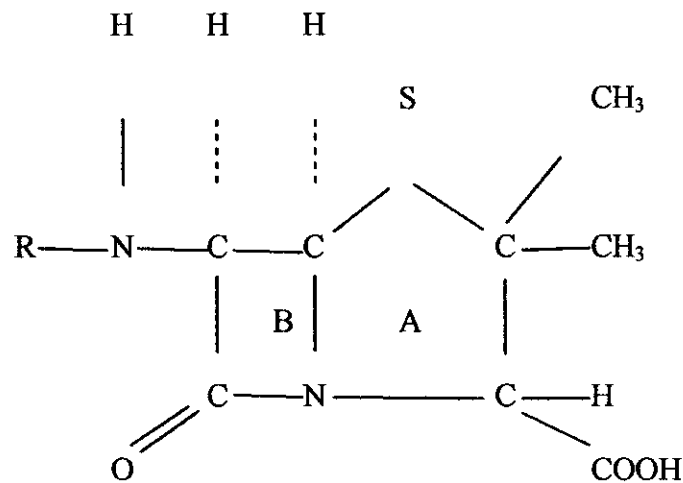
Antibiotik beta-laktam yang paling sering digunakan adalah penisilin. Penisilin merupakan obat antimikrobal yang diisolasi dari kapang *Penisilin notatum* yang merupakan produk penelitian antimikrobal pertama yang dilakukan oleh *Fleming*. *Fleming* melaporkan bahwa koloni *Staphylococcus* mengalami lisis ketika berdekatan dengan kapang ini. Tetapi gagal dalam mengisolasi zat yang bersifat bakteriolitik ini (Quinn *et al.*, 2002).

Cara kerja penisilin adalah dengan menghambat enzim transpeptidase dan atau karboksipeptidase, dimana pembatas tersebut

akan mengakibatkan reaksi silang pada sintesis peptidoglikan dinding sel bakteri (Joshi and Rao, 1982).

Penisilin merupakan antibiotik dengan berbagai macam spektrum dan aktivitas. Terdapat natural penisilin seperti penisilin G dan penisilin V. Penisilin yang resisten terhadap penisilinase seperti kloksasilin, dikloksasilin, oksasilin, nafsilin dan metisilin. Aminopenisilin, dimana yang termasuk didalamnya seperti ampisilin, amoksisilin dan hetasilin, serta penisilin yang spektrumnya telah diperluas seperti azlocillin, mezlocillin, carbenicillin dan ticarcillin (Plumb, 2005). Penemuan penisilin dan derivatnya mengantarkan penisilin menjadi obat antimikrobal yang paling sering digunakan dalam dunia kedokteran (Joshi and Rao, 1982).

Menurut Katzung (1995), semua penisilin mempunyai struktur dasar yang sama yaitu asam 6-aminopenisilamat, dimana terdapat adanya cincin tiazolidin yang melekat pada cincin beta-laktam. Struktur dasar penisilin tampak pada gambar 2.1.



Gambar 2.1 Rumus bangun penisilin
Sumber : Katzung (1995).

Keterangan :

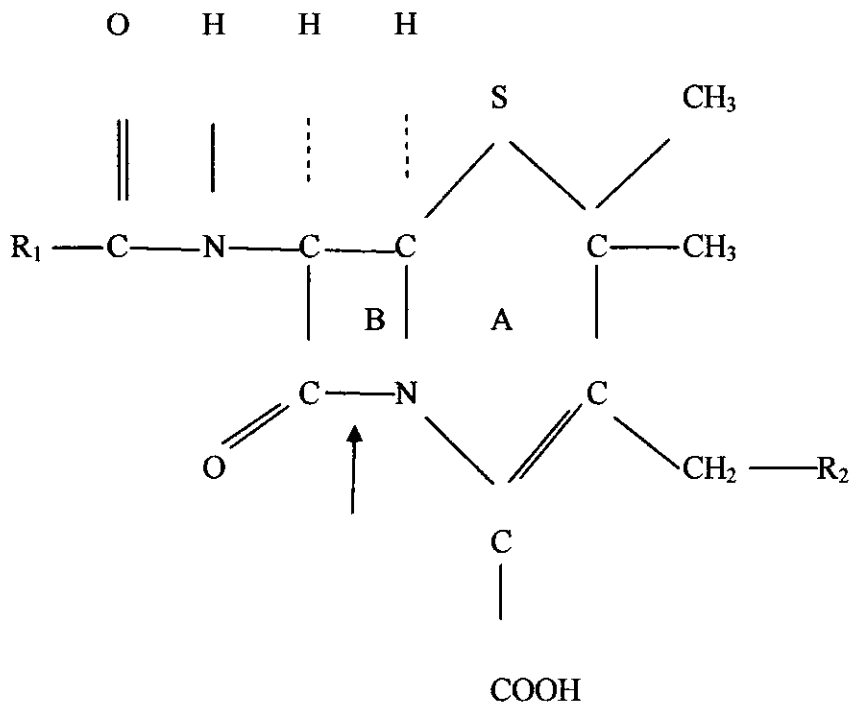
A : Cincin tiazolidin

B : Cincin beta-laktam

Perlekatan gugus-gugus pada R seperti tertera pada gambar 2.1 dapat menghasilkan penisilin baru. Perlekatan pada gugus R juga menentukan sifat farmakologik obat bersangkutan (Katzung, 1995).

Sefalosporin merupakan salah satu dari dua grup besar antibiotik beta laktam dan merupakan antimikrobia beta-laktam yang juga diisolasi dari jamur yang bernama *Cephalosporium acremonium* (Plumb, 2005). Sefalosporin cara kerjanya mirip dengan penisilin tetapi resisten terhadap beta-laktamase serta aktif terhadap bakteri Gram positif maupun bakteri Gram negatif. Inti sefalosporin adalah asam 7-aminopenisilinat. Perlekatan berbagai gugusan R1 dan R2 telah menghasilkan berbagai obat dengan aktivitas terapi yang baik dan

toksitas yang rendah (Katzung, 1995). Rumus bangun sefalosporin tampak pada gambar 2.2



Gambar 2.2 Rumus bangun sefalosporin

Sumber : Katzung (1995)

Keterangan :

A : Cincin tiazolidin

B : Cincin beta-laktam

Tanda panah menunjukkan inti sefalosporin (asam 7- aminopenisilanat)

Secara umum, sefalosporin terdiri dari beberapa kelas yang berbeda dalam hal spektrum, aktivitas dan farmakokinetiknya. Cara kerja sefalosporin analog dengan penisilin, dimana sefalosporin menghambat sintesis dinding sel melalui pengikatannya dengan enzim bakteri seperti karboksipeptidase dan transpeptidase (Plumb, 2005).

Semua sefalosporin tidak aktif terhadap enterokokus dan MRSA (Katzung, 1995). Secara tradisional, sefalosporin dapat dibagi menjadi 3 grup utama, yaitu : sefalosporin generasi pertama, sefalosporin generasi kedua dan sefalosporin generasi ketiga (Katzung, 1995).

Antibiotik termasuk golongan beta-laktam adalah :

a. Ampisilin

Antibiotika seperti ampisilin dan beta-laktam lainnya sangat efektif terhadap Staphylococci dan dipakai sebagai obat pilihan melawan infeksi (Effendi, 2008). Ampisilin merupakan aminopenisilin semi sintetik. Antibiotik ini merupakan pengembangan derivat dari penisilin yang aktivitasnya telah diperluas sehingga dapat menjangkau banyak bakteri Gram negatif aerob yang tidak dapat dijangkau oleh natural penisilin (Plumb, 2005).

Obat ini biasanya diberikan dalam bentuk oral. Ampisilin dapat berupa ampisilin anhidrat, ampisilin sodium dan ampisilin trihidrat (Plumb, 2005). Masih serupa dengan natural penisilin seperti penisilin G, ampisilin dihancurkan oleh beta-laktamase. Pemberian obat ini bersama dengan asam klavulanat, sulbaktam atau tazobaktam dapat melindungi perusakan oleh beta-laktamase (Katzung, 1995).

b. Amoksisilin

Amoksisilin juga merupakan aminopenisilin yang serupa dengan ampisilin. Mempunyai spektrum yang sama dengan ampisilin, hanya saja memberikan kadar dalam darah yang lebih tinggi (Plumb, 2005).

Perbedaan ampisilin dengan amoksisilin adalah pada penyerapan usus. Amoksisilin lebih mudah diserap oleh usus, jadi dengan dosis 3 kali sehari dengan pemberian 200-500 mg amoksisilin sebanding dengan pemberian 4 kali sehari ampisilin dengan dosis yang sama. Pemberian obat ini dengan asam klavulanat, sulbaktam atau tazobaktam juga dapat melindungi perusakan oleh beta-laktamase (Katzung, 1995).

c. Metisilin

Obat antibiotik seperti metisilin, oksasilin dan kloksasilin yang tergolong sebagai penisilin yang resisten terhadap penisilinase biasa disebut sebagai *anti-Staphylococcus penicillins*. Indikasi dari obat ini adalah pada infeksi oleh bakteri penghasil beta-laktamase. Kelemahan obat ini yaitu mempunyai spektrum yang lebih sempit dari natural penisilin (Plumb, 2005).

d. Kloksasilin

Obat ini juga termasuk golongan penisilin resisten terhadap penisilinase. Obat ini mempunyai 1 atom Cl dalam struktur R

penisilin (gambar 2.1). Serupa dengan metisilin dalam resistensinya terhadap beta-laktamase hanya saja obat ini stabil terhadap asam (Katzung, 2005).

e. Antibiotik beta-laktam lainnya

Obat-obatan beta-laktam selain penisilin dan sefalosporin adalah monobaktam, karbapenem serta beta-laktam penghambat beta laktamase seperti asam klavulanat (Katzung, 1995). Obat-obatan ini termasuk beta-laktam jenis baru. Aktivitas obat-obatan beta-laktam jenis baru ini seperti karbapenem menunjukkan aktivitas yang tinggi terhadap PBPs dan inhibitor beta-laktamase yang poten. Kedua aktivitas ini dapat bekerja bersama, dimana hal ini tidak dapat dilakukan oleh obat-obatan jenis penisilin (Pratt and Taylor, 1990).

2.5 Resistensi Antibiotik

Munculnya resistensi antibiotik disebabkan oleh dua hal yaitu penggunaan antibiotika yang berlebihan dan munculnya gen resisten (Effendi, 2008). Resistensi antibiotik dapat diperoleh baik secara genetik maupun non genetik (Katzung, 1995).

Penggunaan antibiotik berlebihan terutama antibiotik berspektrum luas untuk jangka panjang dapat merangsang efek samping lain. Kejadian ini dapat ditemukan pada flora normal tubuh dapat dihancurkan oleh antibiotik, dan

akibatnya bakteri dapat mengambil alih dan berkembang biak dengan subur dan bakteri mengalami resisten serta sangat sulit untuk diberantas.

Resistensi menghasilkan perubahan bentuk pada gen bakteri yang disebabkan oleh dua proses genetik :

a. Mutasi dan seleksi alam (evolusi vertikal)

Evolusi vertikal didorong oleh prinsip seleksi alam. Mutasi spontan pada kromosom bakteri memberikan resistensi terhadap satu populasi bakteri. Pada lingkungan tertentu antibiotik yang tidak termutasi (non mutan) maka bakteri akan mati sedangkan antibiotik yang termutasi (mutan), bakteri menjadi resisten kemudian tumbuh dan berkembang biak.

b. Perubahan antar strain dan spesies (evolusi horizontal)

Evolusi horizontal yaitu pengambilalihan gen resisten dari organisme lain. Beberapa bakteri mengembangkan resisten genetik melalui proses mutasi dan seleksi, kemudian memberikan gen kepada beberapa bakteri lain melalui salah satu proses untuk perubahan genetik yang ada pada bakteri.

Secara genetik resistensi antibiotik dapat terjadi karena mutasi, baik dalam tingkat kromosom maupun dalam plasmidnya (Quinn, 2002). Sedangkan resisten antibiotik non genetik dapat terjadi karena cara kerja antibiotik itu sendiri. Kerja antibiotik tergantung aktivitas replikasi bakteri. Jika bakteri secara metabolik tidak aktif, maka bakteri tersebut resisten

terhadap antibiotik, namun keturunannya rentan terhadap antibiotik (Katzung, 1995).

Salah satu mekanisme terjadinya resistensi *Staphylococcus* terhadap antibiotik golongan penisilin adalah akibat diproduksinya enzim beta-laktamase oleh *Staphylococcus* yang berperan menghancurkan cincin beta-laktam. Resistensi *Staphylococcus* terhadap beta-laktam seperti metisilin tidak disebabkan oleh diproduksinya beta-laktamase tetapi karena, MRSA mendapatkan elemen genetik yang mobile yaitu SCC*mec* (*Staphylococcal Cassette Chromosome mec*) (Cohn and Middleton, 2010).

Mekanisme lainnya yang menyebabkan munculnya resistensi *Staphylococcus* adalah adanya ekspresi PBP2a yang di *encode* oleh *mecA*. PBP2a mempunyai aktivitas mirip dengan PBPs yaitu mensintesis dinding sel tetapi afinitasnya rendah terhadap metisilin maupun beta-laktam lainnya (Fuda *et al.*, 2005).

Resistensi terhadap antibiotik yang penyebabnya berasal dari faktor genetik dapat ditransferkan dari bakteri yang satu ke bakteri yang lain (Pratt and Taylor, 1990).

2.6 Transfer Resistensi Antibiotik Pada *Staphylococcus* sp

Resistensi *Staphylococcus* terhadap metisilin dapat ditransferkan melalui elemen SCC (*Staphylococcal Cassette Chromosome*) yang mempunyai gen *mec A* (SCC*mec*) karena penentu resistensi metisilin terletak pada elemen yang disebut SCC *mec A* (Hiratmatsu *et al.*, 2001). SCC*mec*

dapat dibedakan menjadi beberapa tipe. Tipe I sampai tipe III terkandung di dalam MRSA yang diidentikkan dengan infeksi *nosocomial* atau *health care associated* (HA-MRSA). Tipe IV dan tipe V terkandung di dalam MRSA yang didapatkan di masyarakat atau *community-MRSA* (CA-MRSA) (Rachal *et al.*, 2009). CA-MRSA penularan lebih kepada pola hidup yang kurang bersih sedangkan HA-MRSA penularannya sering berhubungan dengan manajemen rumah sakit yang kurang. Memenuhi standart kebersihan. Banyak orang sehat membawa *Staphylococcus aureus* tanpa terinfeksi.

Resistensi *Staphylococcus intermedius* dan *Staphylococcus pseudointermedius* terhadap metisilin telah terdeteksi dan berkembang diklinik hewan seluruh dunia, tetapi evolusi dan perkembangannya belum dipelajari (Bannoehr *et al.*, 2007).

Rachal *et al.*, (2009), melaporkan bahwa *Staphylococcus* yang resisten terhadap metisilin telah diisolasi dari hewan peliharaan yang sehat. Isolat tersebut mempunyai karakteristik sama dengan strain MRSA yang terdapat pada manusia. Fenomena di atas menggambarkan dimungkinkannya telah terjadi transfer resistensi.

Bannoehr *et al* (2007), mengemukakan bahwa kemunculan strain *Staphylococcus* yang resisten terhadap metisilin belakang ini adalah akibat diduplikasinya gen *mecA* pada *Staphylococcus* yang berbeda bahkan pada benua yang berbeda pula. Penelitian lain menunjukkan telah ditemukannya

multi-drug resistance (MRSA) pada sedikitnya tiga kelas antibiotik yang ditunjukkan melalui isolat *Staphylococcus* sebesar 58,88% dari 119 sampel di rumah sakit hewan pendidikan di Korea dimana diantaranya ditemukan resistensi 41% terhadap oksasilin dan 11 strain terbukti membawa gen *mecA* (Youn *et al.*, 2010).

2.7 Transfer Resistensi antibiotik secara Horizontal

Transfer resistensi horizontal adalah transfer gen resistensi antar spesies atau strain pada bakteri *Staphylococcus* sp melalui cara konjugasi, transformasi, dan transduksi. Perpindahan resistensi antar strain *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus intermedius* dalam percobaan laboratorium terjadi via transformasi, konjugasi dan transduksi (Lacey, 1975), hanya konjugasi tampak signifikan secara *in vivo* (Mc Gowan, 1991)

Menurut Kreteiswirth, (1993) transfer resistensi metisilin secara horizontal dapat terjadi diantara spesies atau strain *Staphylococcus*, walaupun kejadiannya jarang. Menurut Lloy *et al.*, (2007) Asal-usul utama infeksi MRSA pada anjing peliharaan adalah melalui kontak dengan manusia yang terinfeksi atau pembawa MRSA, selanjutnya anjing dapat berperan sebagai sumber infeksi ulang.

Resistensi antibiotik merupakan masalah kompleks yang melibatkan berbagai spesies bakteri. MRSA dan MRSI merupakan spesies yang memiliki potensi zoonosis. Pada manusia MRSA diakui sebagai bakteri patogen yang zoonosis karena dari isolasi 18% luka yang ditimbulkan oleh anjing ternyata

mempunyai karakteristik sama dengan yang berada pada anjing (Pottumarthy, *et al.*, 2004).

Bakteri dapat memperoleh resistensi melalui mutasi kromosom atau mendapat materi genetik seperti plasmid atau transposons yang mengandung gen resisten terhadap antibiotik. Perpindahan plasmid resistensi dari mikroorganisme lainnya dapat menyebarkan resistensi secara luas. Perubahan pola resistensi dapat terjadi setelah bakteri terpapar oleh antibiotik yang lama atau dapat muncul selama pengobatan penyakit infeksi (Levy, 2002; Sawant, 2005).

Perpindahan gen horizontal adalah mekanisme yang memungkinkan bakteri untuk menggunakan material genetik secara bersama yang menyebabkan perpindahan resistensi antibiotik (Walsh, 2000; Rice, 2000). Ada tiga proses yang terlibat dalam perpindahan gen secara horizontal, yaitu *conjugation*, *transduksi* dan *transformation* (Walsh, 2002; Rice, 2000). Secara konjugasi adalah proses perpindahan gen bakteri melalui kontak antar sel. Secara transformasi merupakan proses perpindahan gen bakteri melalui sel bebas. Sedangkan secara transduksi adalah proses perpindahan gen dari suatu bakteri lain dengan bantuan bakteriofage.

BAB 3

MATERI DAN METODE

BAB 3 MATERI DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian akan berlangsung di tiga tempat yaitu Rumah Sakit Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya dan Rumah Sakit Hewan SETAIL Jalan Setail nomor 3 Surabaya dan Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Departemen Mikrobiologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Waktu pelaksanaan penelitian adalah dari bulan Agustus-Desember 2011.

3.2 Bahan dan Alat

3.2.1 Bahan

MSA (KgaA, Darmstadt, Germany), NaCl fisiologis (KgaA, Darmstadt, Germany), BHI Broth (KgaA, Darmstadt, Germany), MC Farland No.1 (terdiri dari : a. Barium chloorid (E. Merck, Darmstadt, Germany), b. H₂SO₄ (E. Merck, Darmstadt, Germany)), Safranin (E. Merck, Darmstadt, Germany), Lugol (terdiri dari : a. Kaliumiodid neutral 500 gr (E. Merck, Darmstadt, Germany), b. Iodoni 100 gr (E. Merck, Darmstadt, Germany), Kristal violet (E. Merck, Darmstadt, Germany), Alkohol (E. Merck, Darmstadt, Germany), Amoksisilin 30 µgr (Oxoid,Hampshire England), Kloksasilin 5 µgr (Oxoid,

Hampshire England), Ampisilin 20 μ gr (Oxoid, Hampshire England), Metisilin 5 μ gr (Oxoid, Hampshire England).

3.2.2 Alat

Cotton *swab* (10 cm/ EuroTube), Tabung reaksi (Pyrex, IWAKI TE 32, Asahi Techo, Indonesia), Elemeyer (Pyrex, IWAKI TE 32, Japan), Inkubator (Edelstahl, Germany), Pipet (0,006 m² x 20c, Pyrex, IWAKI, DV400009), Autoklap (Electric, Prosure steam Sterilizet, Model No. 25 x)

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Sampel Penelitian

Penelitian ini menggunakan sampel *swab* mukosa lubang hidung anjing diambil dari Rumah Sakit Hewan Pendidikan Universitas Airlangga dan sampel *swab* hidung anjing diambil dari SETAIL Surabaya. Jumlah anjing sebagai sampel masing-masing sebanyak 22 ekor dan 8 ekor. Jumlah tersebut berdasarkan hasil observasi sebelumnya bahwa rata-rata jumlah anjing yang diperiksa setiap hari di Rumah Sakit Hewan Pendidikan UNAIR mencapai 20 ekor sedangkan di SETAIL Surabaya mencapai 3 ekor anjing.

Bahan pemeriksaan yang akan diteliti *Staphylococcus*nya berasal dari *swab* lubang hidung anjing dengan menggunakan *cotton bud*.

Pengambilan *swab* hidung anjing dengan dibantu tenaga medis atau pemilik anjing.

3.3.2 Isolasi Genus *Staphylococcus*

Isolasi bakteri didapatkan dengan melakukan *swab* hidung anjing, kemudian dibiakkan pada media MSA sehingga tumbuh hanya *Staphylococcus* saja. Jika spesimen yang didapatkan terletak jauh dari laboratorium, *cotton bud* dimasukkan ke dalam tabung reaksi bertutup yang berisi *aquadest* steril. Tabung reaksi ini dimasukkan ke dalam *container* berisi es. Jika diperlukan, spesimen bisa disimpan pada pendingin bersuhu 4 °C.

Biakkan spesimen pada MSA diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Setelah 24 jam dapat diamati koloni bakteri yang tumbuh, yaitu yang memfermentasi *mannitol* dengan merubah warna media menjadi kuning (F+) serta yang tidak memfermentasi *mannitol* dengan tidak ada perubahan serta warna media tetap merah (F-).

Selanjutnya koloni yang menfermentasi *mannitol* (F+) dan yang tidak menfermentasi *mannitol* (F-) dimurnikan lagi dengan menggunakan media MSA kembali dan diinkubasi kembali selama 24 jam pada 37 °C sehingga setiap spesimen dari satu anjing yang didapat, ditumbuhkan 2 koloni bakteri hasil pemurnian yang berbeda.

3.3.3 Identifikasi Genus *Staphylococcus*.

Masing-masing koloni yang didapat baik yang memfermentasi *mannitol* dan yang tidak memfermentasikan *mannitol*, kemudian dilakukan identifikasi untuk membedakan *speciesnya*. Identifikasi pada tahap awal yaitu dengan memeriksa morfologi koloni yang tampak secara makroskopis dan mikroskopis. Selanjutnya untuk memastikan bahwa bakteri yang diisolasi tersebut adalah dari genus *Staphylococcus* maka dilakukan uji katalase. Identifikasi yang paling penting dilakukan berikutnya yaitu uji koagulase. Uji koagulase dilakukan dengan menggunakan tabung yang berisi plasma kelinci.

Untuk mendapatkan inokulum yang cukup padat pada hasil tes, koloni murni dari *swab* hidung anjing terlebih dahulu ditrasfer ke dalam 0,5 ml BHI. Setelah diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam, ditambahkan plasma kelinci dengan perbandingan 1 : 1 lalu inkubasi kembali pada suhu 37 °C. Masa inkubasi pendek dalam BHI tidak hanya menyediakan inokulum yang cukup besar untuk tes tetapi juga memungkinkan elaborasi enzim koagulase dan nuklease, meningkatkan intensitas dan kecepatan reaksi positif (Barry *et al.*, 1973).

Sampel *swab* hidung anjing yang telah diuji koagulase kemudian diamati hasilnya. Koagulase positif dapat dinilai dalam 4 skala yaitu 1 + positif bila ada sedikit gumpalan yang bentuknya tidak jelas; 2 + positif

bila terdapat sedikit gumpalan namun sudah terorganisir dengan baik; 3 + positif bila terdapat banyak gumpalan yang terorganisir dengan baik; dan 4 + positif bila keseluruhan isi tabung menggumpal dan tidak berubah posisi bila tabung dibalik (Sperber and Tatini, 1975).

Setelah hasil pemurnian koloni bakteri *swab* hidung anjing dilakukan pengamatan makroskopis, mikroskopik, uji katalase, uji koagulase kemudian dilakukan uji resistensi antibiotik dengan metode *disc diffusion methode* Kirby Bauer menggunakan antibiotik beta-laktam.

3.3.4 Uji Resistensi Antibiotik

Keterbatasan antibiotik untuk menimbulkan efek pada anjing, mendorong untuk dilakukan uji sensitivitas dari CPS yang diisolasi untuk menentukan jenis antibiotik yang tepat. Prinsip uji sensitivitas adalah untuk menemukan kemampuan menghambat CPS yang memfermentasi *mannitol* dan CPS yang tidak memfermentasi *mannitol* dengan satu jenis antibiotik (Brander *et al.*, 1991).

Uji resistensi ini dimulai dengan menanam bakteri hasil pemurnian ke dalam BHI broth yang diinkubasi pada suhu 37 °C selama kurang lebih 4 jam sampai dengan populasi kuman sekitar 10⁸ sesuai kekeruhan standart BHI broth dengan MC Farland No. 1. BHI broth berperan sebagai media bakteri. Selanjutnya diambil 0,2 ml dari BHI broth

dengan pipet steril dan dicampurkan pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA) lalu diratakan dengan spatel.

Uji resistensi antibiotik menggunakan *Disc Diffusion Methode* dari Kirby Bauer, dimana cara ini merupakan metode *in vitro*. Bakteri yang sudah dicampurkan pada MHA kemudian diberi antibiotik *disc* sebanyak 5 disc per plate. Disc yang digunakan adalah ampicilin 20 µg, amoksisilin 30 µg, metisilin 5 µg, kloksasilin 5 µg. MHA ini kemudian diinkubasikan pada 37 °C selama 24 jam. Pengukuran resistensi adalah dengan mengukur diameter zona inhibisinya dalam milimeter (Quinn *et al.*, 2002).

Pengukuran zona inhibisi *Staphylococcus* untuk metisilin dan kloksasilin menurut Lalitha (2004) adalah >13 mm untuk sensitif, 11-12 mm untuk intermediet dan <10 mm untuk resisten. Untuk penggolongan ampicilin dan amoksisilin adalah >17 mm tergolong sensitif, 15-17 mm untuk intermediet dan <15 mm resistensi (Wilkins *et al.*, 1972).

3.3.5 Definisi Operasional Variabel

Variabel penelitian : CPS, resisten antibiotik, *swab* hidung anjing, transfer gen resisten secara horizontal.

CPS adalah Bakteri yang dimurnikan di media MSA, dimurnikan lagi dengan media MSA lagi kemudian dilihat ada yang menfermentasi

mannitol atau tidak, kemudian uji katalase positif dan uji koagulase positif juga. Terakhir identifikasi *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus intermedius*.

Resistensi Antibiotik diperoleh dari uji sensitivitas terhadap antibiotik amoksisilin, ampisilin, kloksasilin, dan metisilin dengan metode *Disc Diffusion Methode* dari Kirby Bauer. Zona inhibisi *Staphylococcus* terhadap amoksisilin dan ampisilin digolongkan sensitif pada lebar (mm) zona inhibisi > 17 mm, 15 -17 mm untuk intermediet dan <15 mm resisten. Sedangkan pada kloksasilin dan metisilin adalah >13 mm untuk sensitif, 11-12 mm untuk intermediet, dan <10 mm untuk resisten.

Swab hidung anjing adalah sampel yang diambil dari usapan mukosa hidung anjing, baik lubang hidung kanan dan kiri tanpa dibatasi umur, jenis kelamin, BB dan diagnosa penyakit tertentu.

Transfer gen resisten secara horizontal adalah perpindahan gen resisten diantara spesies *Staphylococcus* melalui proses konjugasi, transformasi, dan transduksi. Cara membaca dengan menggunakan komparasi dari zona inhibisi antibiotik antara *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus intermedius* terhadap antibiotik yang sama diujikan (Effendi, 2008).

3.4 Rancangan Penelitian

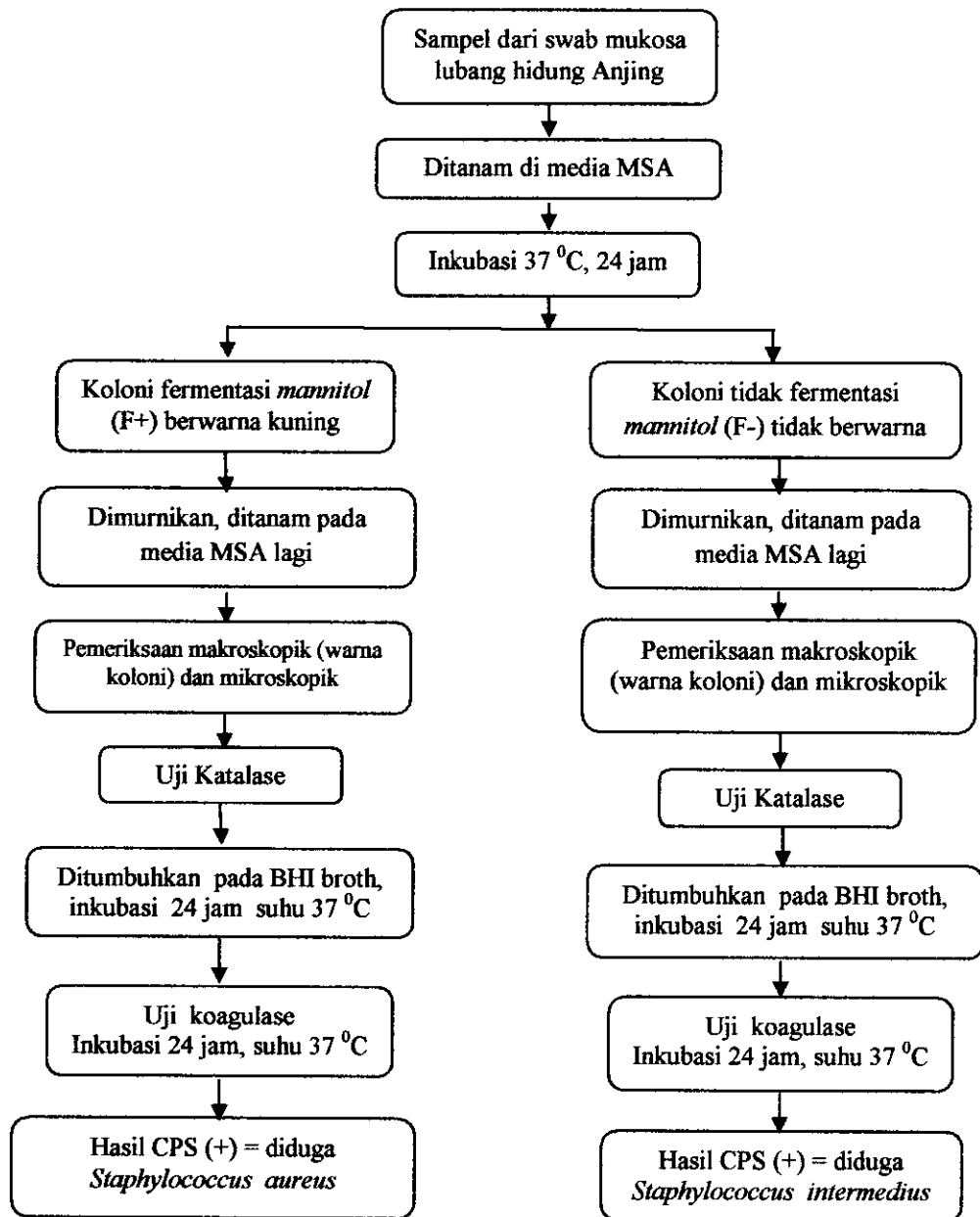
Penelitian ini merupakan penelitian eksploratif laboratoris yang dalam pelaksanaan teknik pengambilan sampelnya berupa *non-probability* sampling jenis *purposive*.

3.5 Pengolahan Data

Data dikumpulkan pada formulir dan dikumpulkan dalam satu tabel induk, kemudian diolah dengan komputer dengan menggunakan program SPSS.

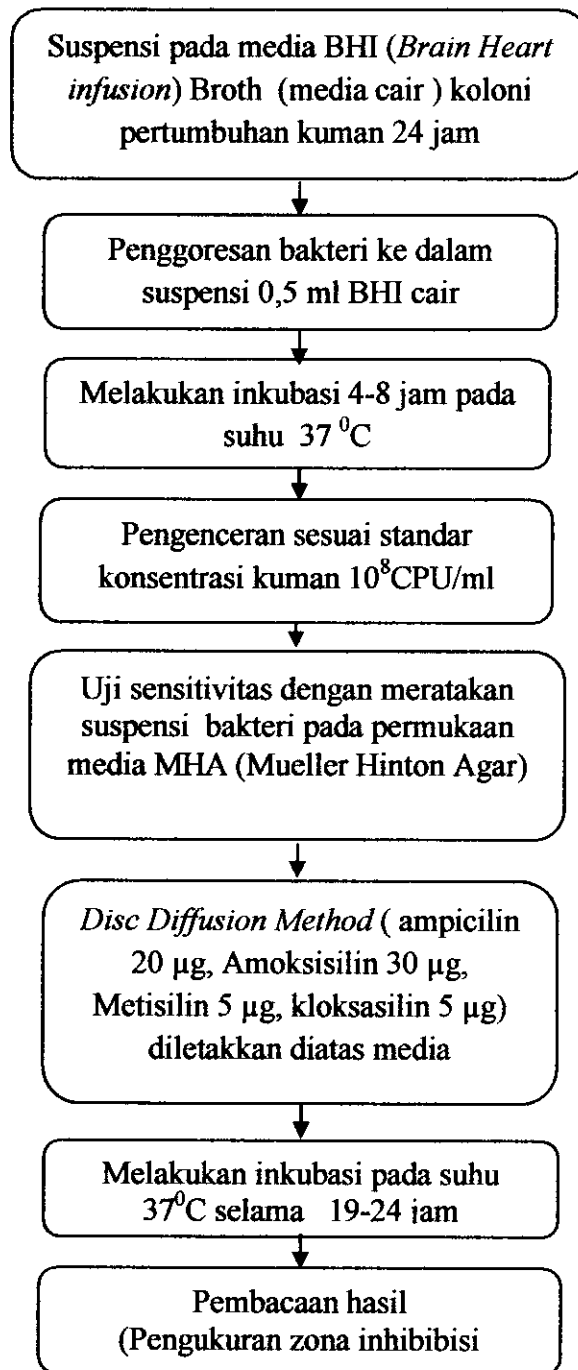
Hasil dari uji resistensi antibiotik dinyatakan dengan prosentase (%) resisten, peka, atau intermediate dan dianggap bermakna pada taraf $P < 0,05$. Untuk menggambarkan resistensi *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus intermedius* terhadap antibiotik dengan digunakan Cqi-square

3.6 Diagram Prosedur Identifikasi Genus *Staphylococcus*



Gambar 3.1 Diagram Prosedur Identifikasi genus *Staphylococcus*

3.7 Diagram Prosedur Uji Resistensi Antibiotik



Gambar 3.2. Diagram Prosedur Uji Resistensi Antibiotik

BAB 4

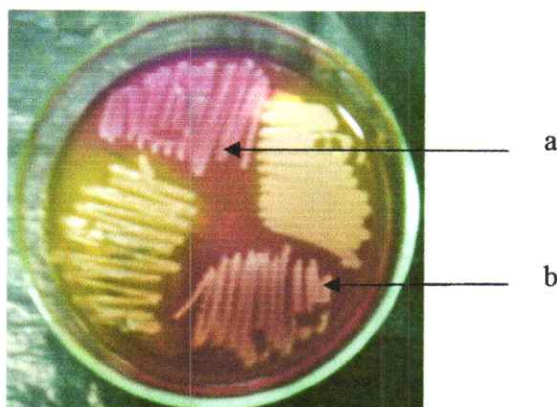
HASIL PENELITIAN

BAB 4 HASIL PENELITIAN

4.1 Identifikasi Isolat *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus intermedius*

Spesimen berhasil diisolasi dari 30 sampel ekor anjing didaerah Surabaya dengan rincian 8 ekor anjing dari Rumah Sakit Hewan SETAIL Surabaya dan 22 ekor anjing dari Rumah Sakit Hewan FKH UNAIR Surabaya. 30 Spesimen terpilih adalah yang menfermentasi *mannitol* dan tidak menfermentasi *mannitol*, uji makroskopik bentuk *coccus* bergerombol, dan katalase positif serta koagulase positif.

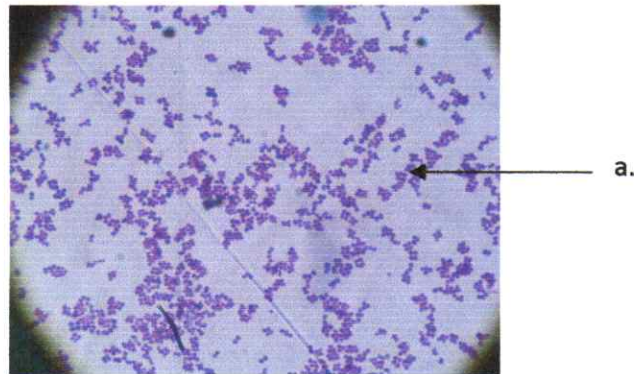
Secara makroskopik pemeriksaan Isolat *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus intermedius* dibedakan berdasarkan warna koloni pada media MSA setelah 24-48 jam dengan suhu 37 °C. Selanjutnya warna koloni isolat *Staphylococcus* sp. dapat dilihat pada gambar 4.1.



Gambar 4.1. Identifikasi *Staphylococcus* sp. berdasarkan pemeriksaan makroskopik

Keterangan :

- a. Koloni berwarna kuning pada media MSA diduga kuat *Staphylococcus aureus*
- b. Koloni tidak berwarna pada media MSA diduga kuat *Staphylococcus intermedius*



Gambar 4.2. Identifikasi *Staphylococcus* sp pada uji mikroskopik

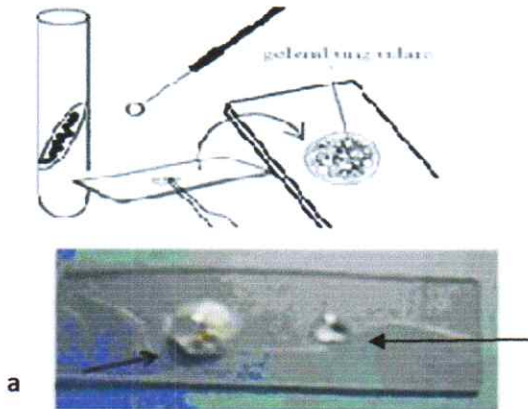
Keterangan :

- a. *Staphylococcus* sp berbentuk *coccus*, bergerombol pada mikroskop elektrik pembesaran 1000x. Bakteri berwarna ungu menandakan bakteri merupakan gram positif

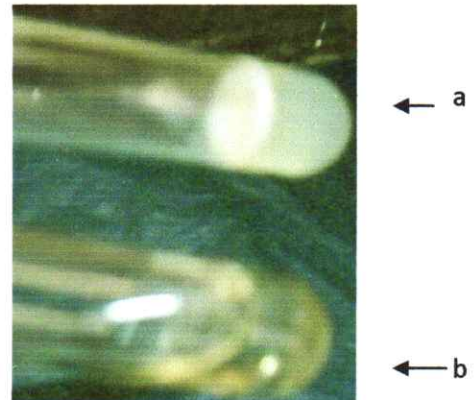
Identifikasi *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus intermedius* bertujuan untuk memperoleh isolat murni masing-masing spesies dari *swab* hidung anjing yang berasal dari rumah sakit FKH Unair dan Rumah sakit SETAIL Surabaya. Dalam identifikasi bakteri digunakan standar laboratorium yaitu berupa uji mikroskopis, pengecatan gram, uji fermentasi pada MSA, uji katalase, dan uji koagulase yang berguna untuk membedakan jenis *Staphylococcus* yang berada di mukosa hidung anjing.

Setelah uji makroskopik dan mikroskopik 30 spesimen dilanjutkan dengan uji katalase dan uji koagulase. Uji katalase digunakan untuk mengkonfirmasi bakteri hasil isolasi bakteri termasuk jenis *Staphylococcus* atau *Streptococcus*. Hasil Uji katalase memberikan hasil positif artinya semua spesimen adalah bakteri *Staphylococcus*, terlihat saat bakteri dicelupkan pada cairan H_2O_2 mengeluarkan gelembung gas karena pengaruh metabolisme

enzim yang dihasilkan oleh *Staphylococcus*. Pada uji koagulase, hasil positif dapat dilihat pada gambar berikut :



Gambar 4.3 Uji katalase pada isolat *Staphylococcus sp.*



Gambar 4.4 Uji Koagulase pada isolat *Staphylococcus sp.*

Keterangan gambar 4.3 :

- Tanda panah menunjukkan hasil positif dengan ditunjukkannya gelembung udara saat ditempelkan *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus intermedius*
- Tanda panah menunjukkan hasil negatif dengan tidak ditunjukkannya gelembung udara saat ditempelkan *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus intermedius*

Keterangan gambar 4.4 :

- Koagulase positif ditandai dengan adanya penggumpalan, tidak berubah saat tabung dimiringkan
- Koagulase negatif ditandai dengan tidak adanya penggumpalan pada BHI broth, serta berubah saat tabung dimiringkan

Secara berurutan dapat diamati, uji makroskopik, mikroskopik, uji katalase dan uji koagulase dapat dilihat pada tabel 4.1

Tabel 4.1 Identifikasi Isolat *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus intermedius* Berdasarkan Pewarnaan Koloni, Mikroskopik, Uji Katalase dan Uji Koagulase

No. Kode	Koloni yang Tumbuh pada MSA	Koloni Warna	Bentuk Bakteri	Uji Katalase	Uji Koagulase	Identifikasi Bakteri
Sp.1	(F+)	Kuning	<i>Coccus</i> , Bergerombol	+	+	(SA)
Sp.2	(F+)(F-)	Kuning, Merah	<i>Coccus</i> , Bergerombol	+	+	(SA) (SI)
Sp.3	(F+)(F-)	Kuning, Merah	<i>Coccus</i> , Bergerombol	+	+	(SA) (SI)
Sp.4	(F-)	Merah	<i>Coccus</i> , Bergerombol	+	+	(SI)
Sp.5	(F+)(F-)	Kuning, Merah	<i>Coccus</i> , Bergerombol	+	+	(SA) (SI)
Sp.6	(F+)(F-)	Kuning, Merah	<i>Coccus</i> , Bergerombol	+	+	(SA) (SI)
Sp.7	(F+)(F-)	Kuning, Merah	<i>Coccus</i> , Bergerombol	+	+	(SA) (SI)
Sp.8	(F+)(F-)	Kuning, Merah	<i>Coccus</i> , Bergerombol	+	+	(SA) (SI)
Sp.9	(F+)(F-)	Kuning, Merah	<i>Coccus</i> , Bergerombol	+	+	(SA) (SI)
Sp.10	(F-)	Merah	<i>Coccus</i> , Bergerombol	+	+	(SI)
Sp.11	(F+)	Kuning	<i>Coccus</i> , Bergerombol	+	+	(SA)
Sp.12	(F+)(F-)	Kuning, Merah	<i>Coccus</i> , Bergerombol	+	+	(SA) (SI)
Sp.13	(F-)	Merah	<i>Coccus</i> , Bergerombol	+	+	(SI)
Sp.14	(F+)	Kuning	<i>Coccus</i> , Bergerombol	+	+	(SA)
Sp.15	(F-)	Merah	<i>Coccus</i> , Bergerombol	+	+	(SI)
Sp.16	(F+)	Kuning	<i>Coccus</i> , Bergerombol	+	+	(SA)
Sp.17	(F+)	Kuning	<i>Coccus</i> , Bergerombol	+	+	(SA)
Sp.18	(F+)	Kuning	<i>Coccus</i> , Bergerombol	+	+	(SA)
Sp.19	(F+)(F-)	Kuning, Merah	<i>Coccus</i> , Bergerombol	+	+	(SA) (SI)
Sp.20	(F+)	Kuning	<i>Coccus</i> , Bergerombol	+	+	(SA)
Sp.21	(F+)(F-)	Kuning, Merah	<i>Coccus</i> , Bergerombol	+	+	(SA) (SI)
Sp.22	(F+)(F-)	Kuning, Merah	<i>Coccus</i> , Bergerombol	+	+	(SA) (SI)
Sp.23	(F-)	Merah	<i>Coccus</i> , Bergerombol	+	+	(SI)
Sp.24	(F+)	Kuning	<i>Coccus</i> , Bergerombol	+	+	(SA)
Sp.25	(F+)(F-)	Kuning, Merah	<i>Coccus</i> , Bergerombol	+	+	(SA) (SI)

Sp.26	(F+)(F-)	Kuning, Merah	<i>Coccus</i> , Bergerombol	+	+	(SA) (SI)
Sp.27	(F+)	Kuning	<i>Coccus</i> , Bergerombol	+	+	(SA)
Sp.28	(F+)	Kuning	<i>Coccus</i> , Bergerombol	+	+	(SA)
Sp.29	(F+)(F-)	Kuning, Merah	<i>Coccus</i> , Bergerombol	+	+	(SA) (SI)
Sp.30	(F+)	Kuning	<i>Coccus</i> , Bergerombol	+	+	(SA)

Keterangan :

Sp.1 s/d Sp.8 : Spesimen berasal dari RSH (Rumah Sakit Hewan) SETAIL Surabaya

Sp.9 s/d Sp.30 : Spesimen berasal dari RSH FKH UNAIR Surabaya

F+ : Fermentasi *mannitol*

F- : Tidak menfermentasi *mannitol*

SA : *Staphylococcus aureus*

SI : *Staphylococcus intermedius*

Jumlah isolat *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus intermedius*

dari 30 sampel yang berhasil diidentifikasi dapat dilihat pada tabel 4.2

Tabel 4.2 Jumlah Isolat *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus intermedius*

Isolat	Kode spesimen	TOTAL
<i>Staphylococcus aureus</i>	S _{p1} F ⁺ , S _{p2} F ⁺ , S _{p3} F ⁺ , S _{p5} F ⁺ , S _{p6} F ⁺ , S _{p7} F ⁺ , S _{p8} F ⁺ , S _{p9} F ⁺ , S _{p11} F ⁺ , S _{p12} F ⁺ , S _{p14} F ⁺ , S _{p16} F ⁺ , S _{p17} F ⁺ , S _{p18} F ⁺ , S _{p19} F ⁺ , S _{p20} F ⁺ , S _{p21} F ⁺ , S _{p22} F ⁺ , S _{p24} F ⁺ , S _{p25} F ⁺ , S _{p26} F ⁺ , S _{p27} F ⁺ , S _{p28} F ⁺ , S _{p29} F ⁺ , S _{p30} F ⁺	25 (56.82%)
<i>Staphylococcus intermedius</i>	S _{p2} F ⁻ , S _{p3} F ⁻ , S _{p4} F ⁻ , S _{p5} F ⁻ , S _{p6} F ⁻ , S _{p7} F ⁻ , S _{p8} F ⁻ , S _{p9} F ⁻ , S _{p10} F ⁻ , S _{p12} F ⁻ , S _{p13} F ⁻ , S _{p15} F ⁻ , S _{p19} F ⁻ , S _{p21} F ⁻ , S _{p22} F ⁻ , S _{p23} F ⁻ , S _{p25} F ⁻ , S _{p26} F ⁻ , S _{p29} F ⁻	19 (43.18%)

4.2 Uji Resistensi Antibiotik pada Isolat *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus intermedius*

Pengamatan zona inhibisi pada masing-masing *Staphylococcus* sp dapat diperhatikan pada tabel 4.3 sebagai berikut :

Tabel 4.3 Hasil pengukuran zona inhibisi pada uji resistensi antibiotik terhadap spesimen dengan media MHA dan inkubasi pada 37 °C selama 24 jam

Antibiotik	Spesimen isolasi							
	Sp ₁ F+	Sp ₂ F+	Sp ₂ F-	Sp ₃ F+	Sp ₃ F-	Sp ₄ F-	Sp ₅ F+	Sp ₅ F-
Metisilin	25(S)	23(S)	26(S)	22(S)	21(S)	27(S)	26(S)	25(S)
Kloksasilin	31(S)	29(S)	34(S)	25(S)	24(S)	10(R)	29(S)	22(S)
Ampisilin	13(R)	18(S)	21(S)	14(R)	13(R)	8 (R)	18 (S)	17(I)
Amoksisilin	12(R)	22(S)	24(S)	15(I)	14(I)	7 (R)	18 (S)	20(S)
Antibiotik	Spesimen isolasi							
	Sp ₆ F+	Sp ₆ F-	Sp ₇ F+	Sp ₇ F-	Sp ₈ F+	Sp ₈ F-	Sp ₉ F+	Sp ₉ F-
Metisilin	21(S)	24(S)	34(S)	23(S)	20(S)	29(S)	18(S)	20(S)
Kloksasilin	25(S)	25(S)	37(S)	27(S)	25(S)	27(S)	12(I)	25(S)
Ampisilin	13(R)	13(R)	38(S)	14(R)	13(R)	19(S)	15(I)	12(R)
Amoksisilin	11(R)	12(R)	34(S)	16(I)	15(I)	27(S)	14(R)	13(R)

Antibiotik	Spesimen isolasi						
	Sp ₁₀ F-	Sp ₁₁ F+	Sp ₁₂ F+	Sp ₁₂ F-	Sp ₁₃ F-	Sp ₁₄ F+	Sp ₁₅ F-
Metisilin	24(S)	19(S)	25(S)	25(S)	19(S)	19(S)	11(I)
Kloksasilin	33(S)	24(S)	27(S)	30(S)	25(S)	24(S)	15(S)
Ampisilin	29(S)	13(R)	24(S)	18(S)	11(R)	13(R)	18(S)
Amoksisilin	37(S)	14(I)	26(S)	20(S)	13(R)	19(S)	20(S)

Antibiotik	Spesimen isolasi					
	Sp ₁₆ F+	Sp ₁₇ F+	Sp ₁₈ F+	Sp ₁₉ F+	Sp ₁₉ F-	Sp ₂₀ F+
Metisilin	8(R)	11(I)	7(R)	17(S)	14(S)	6(R)
Kloksasilin	13(S)	20(S)	13(S)	27(S)	11(I)	13(S)
Ampisilin	8(R)	18(S)	9(R)	13(R)	32(S)	26(S)
Amoksisilin	11(R)	19(S)	9(R)	13(R)	12(R)	26(S)

Antibiotik	Spesimen isolasi							
	Sp ₂₁ F+	Sp ₂₁ F-	Sp ₂₂ F+	Sp ₂₂ F-	Sp ₂₃ F-	Sp ₂₄ F+	Sp ₂₅ F+	Sp ₂₅ F-
Metisilin	11(I)	9(R)	16(S)	24(S)	12(I)	21(S)	11(I)	16(S)
Kloksasilin	16(S)	21(S)	20(S)	30(S)	18(S)	22(S)	20(S)	24(S)
Ampisilin	23(S)	10(R)	36(S)	33(S)	26(S)	25(S)	15(I)	16(I)
Amoksisilin	23(S)	11(R)	34(S)	36(S)	27(S)	36(S)	26(S)	12(R)

Antibiotik	Spesimen isolasi						
	Sp ₂₆ F+	Sp ₂₆ F-	Sp ₂₇ F+	Sp ₂₈ F+	Sp ₂₉ F+	Sp ₂₉ F-	Sp ₃₀ F+
Metisilin	16(S)	19(S)	19(S)	11(I)	19(S)	19(S)	10(R)
Kloksasilin	23(S)	24(S)	24(S)	16(S)	24(S)	22(S)	16(S)
Ampisilin	16(I)	18(S)	16(I)	14(R)	31(S)	18(S)	12(R)
Amoksisilin	27(S)	26(S)	24(S)	21(S)	25(S)	26(S)	24(S)

Keterangan :

R : Resisten
I : Intermediet
S : Sensitif

Satuan hitung dalam milimeter (mm)

Sp (spesimen); F(+) fermentase *mannitol* positif; F(-) fermentase negatif *mannitol*

4.3. Gambaran Resistensi

Gambaran resistensi antara *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus intermedius* dapat dilihat pada tabel 4.3. Hasil uji statistik $P > 0.05$ yang artinya tidak bermakna, dengan demikian hasil resistensi antibiotik pada *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus intermedius* memberikan gambaran resistensi yang sama, artinya telah terpapar oleh agen resisten terhadap antibiotik pilihan. Berikut gambaran resistensi pada *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus intermedius* dapat dilihat pada tabel 4.4.

Tabel 4.4 Gambaran resistensi pada *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus intermedius*

	RESISTEN	INTERMEDIATE	SENSITIVE	TOTAL
SA				
Amoksisilin	6 (24%)	3 (12%)	16 (64%)	25
Ampisilin	11 (44%)	4 (16%)	10 (44%)	25
Kloksasilin	0 (0%)	1 (4%)	24 (96%)	25
Metisilin	4 (16%)	4 (16%)	17 (68%)	25
SI				
Amoksisilin	7 (37%)	2 (10%)	10 (53%)	19
Ampisilin	7 (37%)	2 (10%)	10 (53%)	19
Kloksasilin	1 (5%)	1 (5%)	17 (90%)	19
Metisilin	2 (10%)	2 (10%)	15 (80%)	19

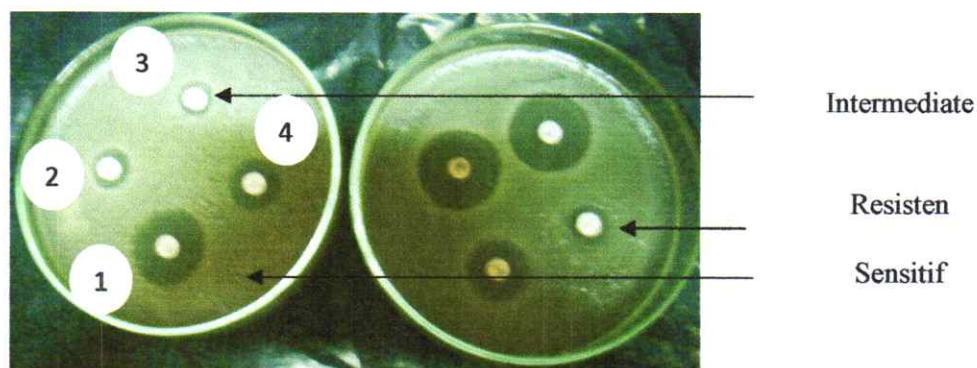
Keterangan :

SA : *Staphylococcus aureus*

SI : *Staphylococcus intermedius*

4.4. Transfer Gen Resisten Secara Horizontal

Salah satu hasil pengukuran zona inhibisi dari uji sensitivitas antibiotik dapat dilihat pada gambar 4.5 berikut :



a. b
 Gambar 4.5 Hasil pengukuran zona Inhibisi pada uji resistensi antibiotik pada spesimen yang sama dengan media MHA dan inkubasi pada 37 °C selama 24 jam, zona resisten, zona intermediate dan zona sensitif pada uji sensitivitas antibiotika metode *disk diffusion*

Keterangan :

a dan b masing-masing adalah pasangan isolat pada anjing yang sama. Pasangan isolat tersebut adalah isolat *Staphylococcus aureus* dan isolat *Staphylococcus intermedius* yang diuji sensitivitasnya

Angka 1 : disk antibiotik amoksisilin

Angka 2 : disk antibiotik ampisilin

Angka 3 : disk antibiotik kloksasilin

Angka 4 : disk antibiotik Metisilin

Gambar 4.5 pada a dan b merupakan contoh dua isolat pada satu spesimen dengan pola resistensi sama yang artinya telah terjadi transfer gen resisten secara horizontal, walaupun terdapat perubahan pola resistensinya.

Kejadian transfer gen resisten secara horizontal dapat diamati pada tabel 4.3. terutama pada satu sampel yang mengandung dua isolat berbeda, sedangkan untuk mengamati kejadian transfer resisten metisilin dapat dilihat tabel 4.5 berikut :

Tabel 4.5 Hasil Pengamatan Kejadian Transfer Gen Resisten

Antibiotik	Sp17+	Sp23-	Keterangan
Metisilin	11 (I)	12(I)	Terisolasi dari sampel yang berbeda
Kloksasilin	20(S)	18(S)	Sumber sampel dari <i>owner</i> berbeda, tapi alamat sama (Mulyorejo, Surabaya Timur)
Ampisilin	18(S)	20(S)	Keduanya intermediet terhadap metisilin
Amoksisilin	19(S)	27(S)	Diduga terjadi penularan agen resisten metisilin dari manusia dan antara anjing dengan anjing.

Antibiotik	Sp16F+	Sp25F+	Sp25F-	Sp28F+	Keterangan
Metisilin	8(R)	11(I)	11 (I)	12(I)	Terisolasi dari 3 sampel dengan 4 isolat
Kloksasilin	13(S)	20(S)	20(S)	18(S)	Sumber sampel dari satu <i>owner</i> , dan dari alamat sama (Mulyorejo Tengah, Surabaya Timur).
Ampisilin	8(R)	15(S)	18(S)	13(S)	Intermediet dan resisten terhadap metisilin
Amoksisilin	11(R)	26(S)	19(S)	26(S)	Diduga terjadi transfer gen resisten secara horizontal pada sampel nomor 25. Lainnya terpapar agen resisten metisilin dari manusia atau dari anjing lain

Antibiotik	Sp20+	Sp21+	Sp22-	Keterangan
Metisilin	6(R)	11 (I)	9(R)	Terisolasi dari tiga sampel.
Kloksasilin	13(S)	16(S)	21(S)	Berasal dari satu owner dan alamat yang sama (Dharmahusada Indah, Surabaya Timur).
Ampisilin	26(S)	26(S)	11(R)	Mengalami resisten, intermediet terhadap metisilin.
Amoksisilin	26(S)	22(S)	12(R)	Diduga terjadi penularan agen resisten metisilin dari manusia dan dari anjing lainnya

Antibiotik	Sp18F+	Sp30F+	Keterangan
Metisilin	7(R)	10 (R)	Keduanya merupakan sampel dominasi
Kloksasilin	13(S)	16(S)	Sampel dari alamat berbeda (Kedung Cowek, Surabaya Utara, Satelit Barat, Surabaya Barat) dan owner yang berbeda
Ampisilin	9(R)	22(S)	Keduanya resisten terhadap metisilin.
Amoksisilin	9(R)	24(S)	Diduga terjadi penularan agen resisten metisilin berasal dari manusia

Selanjutnya untuk mengetahui isolat *Staphylococcus* sp. yang resisten dan intermediet terhadap lebih dari satu antibiotik dapat dilihat pada tabel 4.6 berikut :

Tabel 4.6 Tabel Isolat *Staphylococcus* sp yang Resisten dan Intermediet Terhadap Lebih dari Satu Antibiotik

Kode Sampel	Antibiotik			
	Amoksisilin	Ampisilin	Kloksasilin	Metisilin
S _{p1} F+	√	√		
S _{p3} F+	√	√		
S _{p3} F-	√	√		
S _{p4} F-	√	√	√	
S _{p7} F-	√	√		
S _{p8} F+	√	√		
S _{p9} F+	√	√		
S _{p9} F-	√	√		
S _{p13} F-	√	√		
S _{p16} F+	√	√		√
S _{p18} F+	√	√		√
S _{p19} F+	√	√		
S _{p19} F-	√		√	
S _{p21} F-	√	√		√
S _{p25} F+		√		√
S _{p28} F+		√		√
S _{p30} F+		√		√
JUMLAH	14	16	2	6

Keterangan :

Tanda √ : artinya isolat *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus intermedius* yang resisten dan intermediet terhadap antibiotik yang diujikan

Sp. : Spesimen

F+ : Spesimen yang menfermentasi *mannitol*F- : Spesimen yang tidak menfermentasi *mannitol*

BAB 5

PEMBAHASAN

BAB 5 PEMBAHASAN

5.1 Identifikasi Isolat *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus intermedius*

Keberadaan CPS (*Coagulase Positive Staphylococcus*) dapat diamati berdasarkan kemampuan menfermentasi MSA, uji mikroskopik dan pewarnaan gram, uji katalase, serta uji koagulase yang hasilnya positif.

Uji koagulase merupakan uji yang dapat digunakan untuk menentukan beberapa spesies *Staphylococcus* yang mempunyai kemampuan mengkoagulase plasma. Dalam uji koagulase, suspensi *Staphylococcus* dicampur dengan plasma kelinci didalam tabung reaksi. Fibrinogen pada plasma kelinci akan diubah menjadi fibrin oleh enzim koagulase yang dimiliki bakteri. Uji koagulase dalam tabung reaksi adalah untuk mendeteksi adanya *free coagulase* atau *Staphylocoagulase* yang disekresi oleh bakteri ke dalam plasma. Uji koagulase merupakan uji definitif terhadap produksi koagulase dan reaksi positif ditandai dengan terbentuknya gumpalan didalam tabung setelah diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam (Quinn *et al*, 2002).

Koagulase merupakan protein ekstraseluler yang mengikat *prothrombin* hospes dan membentuk kompleks yang disebut *Staphylothrombin*. Karakteristik aktifitas protease pada thrombin diaktifasi dalam kompleks tersebut, menghasilkan konversi fibrinogen menjadi fibrin. Uji koagulase merupakan cara sederhana untuk mengidentifikasi *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus intermedius* (Todar, 2008).

Mannitol salt agar (MSA) umum digunakan sebagai media pertumbuhan dalam mikrobiologi. MSA mengandung konsentrasi garam NaCl yang tinggi (7,5%-10%), sehingga membuat MSA menjadi media selektif untuk *Micrococcaceae* dan *Staphylococcus* karena tingkat NaCl yang tinggi akan menghambat bakteri lain (Prescott *et al*, 2003). MSA merupakan media defferensial yang mengandung *mannitol* dan indikator *phenol red*. Produksi asam sebagai hasil fermentasi *mannitol*, yang merupakan ciri beberapa spesies seperti *Staphylococcus aureus*, akan mengubah warna media agar yang semula berwarna merah menjadi kuning (Tirnata, 2007).

Bakteri yang menfermentasi *mannitol* pada media MSA umumnya adalah bakteri dengan koloni yang berwarna kekuningan. Hasil studi terdahulu menunjukkan bahwa koloni berwarna kuning yang menfermentasi *mannitol* pada MSA akan menunjukkan hasil positif pada uji koagulase dan diidentifikasi sebagai *Staphylococcus aureus* (Todar, 2008). Studi terbaru menunjukkan bahwa koloni yang tidak berpigmen dan tidak menfermentasi *mannitol* juga dapat menunjukkan hasil positif pada uji koagulase. *Staphylococcus intermedius* merupakan bakteri koagulase positif yang tidak menfermentasi *mannitol* dan spesifik pada beberapa spesies hewan terutama anjing. *Staphylococcus intermedius* merupakan bakteri koagulase positif yang berhasil dibedakan dengan *Staphylococcus aureus* melalui beberapa reaksi biokimia dan komposisi dinding selnya (Hajek, 1976). Beberapa reaksi kimia tersebut didapatkan *Staphylococcus intermedius* mempunyai

karakteristik tidak menghasilkan pigmen, tidak memproduksi acetoin, tidak memanfaatkan *mannitol* secara anaerob, tidak tumbuh pada MPB (*Baird-Parker Agar*), dan memproduksi β -galaktosidase.

Dalam penelitian ini, telah berhasil diisolasi dua jenis bakteri yaitu bakteri yang memfermentasi *mannitol* dan bakteri yang tidak memfermentasi *mannitol*. Koloni yang memfermentasi *mannitol* mempunyai warna kekuningan sedangkan yang tidak memfermentasi *mannitol* cenderung tidak berpigmen.

Staphylococcus intermedius merupakan bakteri yang berperan penting dalam sebagian besar kasus infeksi kulit pada anjing sehingga dapat digolongkan sebagai bakteri patogen. Potogenitas *Staphylococcus intermedius* salah satunya ditunjukkan oleh kemampuannya mengkoagulasi plasma kelinci. Karena itu, keberadaan *Staphylococcus intermedius* tidak dapat dianggap remeh, bahkan menurut Todar *et al.*, (1989), bakteri *Staphylococcus intermedius* bersifat zoonosis walaupun kasusnya belum banyak dijumpai.

Isolat *Staphylococcus aureus* diidentifikasi dapat memfermentasi *mannitol* dengan ditunjukkan adanya perubahan warna kuning pada media MSA yang sebelumnya berwarna merah. Pada uji mikroskopik bentuk *coccus*, bergerombol dan uji katalase serta uji koagulasi positif.

Isolat *Staphylococcus intermedius* diidentifikasi tidak memfermentasi *mannitol* dengan ditunjukkan warna media tetap menjadi merah pada MSA.

Uji mikroskopik bentuk *coccus*, bergerombol, dan uji katalase serta uji koagulase hasil positif.

Terdapat 25 isolat *Staphylococcus aureus*, dan 19 isolat *Staphylococcus intermedius* sebagai CPS, berhasil diidentifikasi seperti pada tabel 4.1 dan 4.2 Bab 4 Hasil.

Target isolasi dan identifikasi *Staphylococcus sp* pada penelitian minimal satu spesimen terdapat satu isolat tunggal, *Staphylococcus aureus* saja atau *Staphylococcus intermedius* saja. Maksimal terdapat dua isolat berbeda jenis yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus intermedius* pada satu sampel, yang dapat digunakan untuk mengamati kejadian transfer resisten horizontal. *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus intermedius* berhasil diisolasi dan diidentifikasi dari *swab* mukosa hidung anjing sehat dan yang sakit. Menurut Hoekstra and Paulton (2002) bahwa *Staphylococcus* dapat diisolasi dari anjing dibagian mukosa dan kulit.

Pada tabel 4.1 dapat dilihat sampel dengan hanya satu isolat dan sampel dengan sepasang disolat berbeda, sampel dengan sepasang isolat berbeda jumlahnya 14 yaitu Sp2, Sp3, Sp5, Sp6, Sp7, Sp8, Sp9, Sp12, Sp19, Sp21, Sp22, Sp25, Sp26, Sp29. Keempat belas sampel tersebut dapat digunakan untuk mengamati kejadian transfer resisten horizontal. Sisanya 16 sampel merupakan sampel dengan satu isolat.

Gen *mecA*, 100% dapat diidentifikasi dari genus CPS dan hanya 45% terkandung pada genus CNS (*Coagulase Negative Staphylococcus*) (Hussein.,

2000). Selanjutnya gen *Mec A* merupakan gen penyandi resisten metisilin yang terdapat pada SCC *mecA* (*Staphylococcal Cassette Chromosome mec*), sehingga tes fenotifik pada uji resistensi pada *Staphylococcus* didasarkan atas CPS (*coagulase positive Staphylococcus*).

5.2 Uji Resistensi Antibiotik Isolat *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus intermedius*

Uji resistensi dilakukan dengan menggunakan komparasi dari zona inhibisi pada masing-masing *swab*. Uji resistensi antibiotik berfungsi dalam pengobatan manusia dan hewan. Utamanya, dapat digunakan untuk pilihan pengobatan antibiotik dan lainnya untuk memonitor resistensi antibiotik (Effendi, 2008).

Uji resistensi metode *Kirby-Bauer* dengan menggunakan *agar Disk Diffusion* menghasilkan kategori kualitatif dengan penilaian sensitif, intermediate dan resisten. Perkembangan resistensi antibiotik pada bakteri adalah disebabkan dua hal penting yaitu penggunaan antibiotik yang berlebihan dan adanya gen resisten. Ada hubungan yang sangat erat antara perkembangan resistensi antibiotik dengan jumlah penggunaan antibiotik (Lopez-Lozano *et al.*, 2000).

Pada dasarnya terdapat tiga mekanisme kerja antibiotik (Sawant, 2005):

- 1) Penghambatan biosintesis dinding sel. Dinding sel bakteri mengandung peptidoglican, merupakan rantai peptida dan glikan secara kovalen *cross linked*. Hubungan tersebut memerlukan enzim transpeptidase untuk

merapatkannya (Katayama *et al.*, 2003); Walsh, 2000). Antibiotik beta-laktam (penisilin, ampicilin dan sefalosporin), mengikat enzim transpeptidase dan menghambat sintesis dinding sel. Enzim transpeptidase disebut juga *penicillin-binding proteins* (Walsh, 2000). 2) Penghambatan sintesis protein. Beberapa kelas antibiotik mampu untuk mempengaruhi sintesis protein dalam ribosom (Sawant, 2005). Ribosom bakteri terdiri atas dua sub unit, yaitu 50S dan 30S) sub unit (Harms *et al.*, 2003). Antibiotik dapat menghambat sintesis protein dengan beberapa type antara lain penghambat kode protein atau A-site. 3) penghambatan replikasi dan perbaikan DNA. Fluoroquinolones adalah antibiotik sintesis yang membunuh bakteri melalui target enzim DNA gyrase dan topoisomerase (Harmns *et al.*, 2005). DNA gyrase adalah enzim yang bertanggung jawab untuk berhasilnya replikasi DNA. *Quinolones* mengikat enzim DNA gyrase sehingga replikasi DNA terganggu (Hooper, 2001).

Resistensi terhadap antibiotik dapat terjadi melalui empat mekanisme utama : pemindahan tempat target dari antibiotik (seperti perubahan dalam *penicillin binding proteins*), pemecahan obat dan inaktivasi enzimatik dari antibiotik (*penicillinase*), perubahan permeabilitas dinding sel yang mencegah masuknya antibiotik, dan peningkatan aktifitas tekanan dalam sel yang mencegah akumulasi antibiotik didalam sel (Wise, 1999).

Uji resistensi berdasarkan tes fenotipik secara berkala sangat diperlukan untuk mendeteksi adanya resistensi diantara genus *Staphylococcus* terhadap metisilin, karena salah satu mekanisme resistensi *Staphylococcus* terhadap

golongan penisilin seperti amoksisilin dan ampisilin adalah akibat diproduksinya enzim beta-laktamase yang berperan menghancurkan cincin beta-laktam. Sedangkan antibiotik beta-laktam lainnya seperti metisilin tidak disebabkan oleh beta-laktamase tetapi karena adanya elemen genetik yang mobile yakni gen *mecA* pada *SCCmec* dan isolat resisten tersebut disebut MRSA atau MRSI (Cohn and Middleton, 2010).

Saat bakteri mengalami resistensi maka pengobatan akan sulit diberantas, membutuhkan finansial lebih dan hasilnya belum berhasil. Hasil penelitian menunjukkan telah ditemukannya *multi drug resistance* pada 17 isolat yang dapat dilihat pada tabel 4.6 *Staphylococcus* sp yang resisten terhadap antibiotik beta-laktam terbanyak secara berurutan adalah ampisilin, amoksisilin, Metisilin dan kloksasilin. Menurut Fuda *et al.*, (2005) beta-laktamase pada antibiotik beta-laktam menghidrolisis cincin beta-laktam pada penisilin yang sensitif terhadap beta-laktamase seperti ampisilin dan amoksisilin.

Tiga puluh spesimen terisolasi, 11 spesimen diantaranya masih efektif untuk mengobati infeksi oleh agen bakteri *Staphylococcus* sp, akan tetapi 19 spesimen yang lainnya tidak efektif lagi, artinya lebih banyak sampel resisten terhadap antibiotik beta-laktam dibandingkan yang masih efektif.

Resistensi antibiotik golongan penisilin (amoksisilin, ampisilin) pada isolat *Staphylococcus* adalah akibat diproduksinya enzim beta laktamase oleh *Staphylococcus* yang berperan menghancurkan cincin beta laktam. Akan

Staphylococcus yang berperan menghancurkan cincin beta laktam. Akan tetapi resistensi *Staphylococcus* terhadap beta laktam seperti metisilin dan kloksasilin tidak disebabkan oleh diproduksinya beta-laktamase tetapi karena elemen genetik yang mobile yaitu SCCmec (*Staphylococcal cassette chromosome mec*)

Mekanisme lainnya yang menyebabkan munculnya resistensi *Staphylococcus* terhadap metisilin adalah adanya ekspresi PBP2a yang di encode oleh *mecA*. PBP2a mempunyai aktivitas mirip dengan *Penicilline Binding Proteins* (PBPs) yaitu mensintesis dinding sel tetapi afinitasnya rendah terhadap metisilin maupun beta-laktam lainnya (Fuda *et al.*, 2005).

5.3 Gambaran Resistensi *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus intermedius* terhadap antibiotik

Gambaran resistensi antara *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus intermedius* terhadap amoksisilin, ampisilin, kloksasilin dan metisilin menunjukkan $P > 0.05$ pada uji statistik yang artinya tidak bermakna, bahwa antara isolat *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus intermedius* mempunyai gambaran resistensi sama terhadap antibiotik beta-laktam.

Pada tabel 4.4 terlihat kedua isolat *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus intermedius*, menunjukkan gambaran resistensi yang sama pada antibiotik terpilih. Artinya hasil penelitian pada sampel anjing di Surabaya menunjukkan adanya indikasi telah terjadi paparan gen resisten metisilin. Dapat disimpulkan bahwa terdapat isolat CPS yaitu *Staphylococcus*

aureus dan *Staphylococcus intermedius* yang resisten terhadap metisilin dan diduga terdapat strain MRSA dan MRSI. Isolat *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus intermedius* merupakan CPS yang berhasil diisolasi di Surabaya. Ditinjau dari kemudahan lalu lintasnya, wilayah Surabaya dan segenap fasilitas kendaraan umum, memberi kemudahan untuk dilalui oleh alat transportasi, sehingga peluang terjadinya kontak kulit antar manusia dan hewan terutama anjing mudah terjadi. Kontak antar kulit merupakan transmisi utama penularan gen resisten pada *Staphylococcus*.

Spesies yang sama pada *Staphylococcus* sp di wilayah tertentu belum tentu menunjukkan gambaran resistensi yang sama di wilayah lain, hal tersebut tergantung adanya kontak diantara spesies *Staphylococcus* maupun antar genus *Staphylococcus*.

Menurut Cohn and Middleton (2010) bahwa pada CPS terdapat SCC *mecA* yang merupakan elemen genetik yang *mobile* dan mudah ditransferkan. Penyebaran gen resistensi pada *Staphylococcus* disebabkan oleh penyebaran plasmid dan *transposon* (Lyon dan skurray, 1887).

Menurut Khan *et al.*, (2000) Penggunaan antibiotik pada manusia bisa merupakan ancaman bagi hewan dengan meningkatkan resistensi beberapa bakteri dan resistensi bisa dipindahkan pada tingkatan interspesies dan antar genus.

Dengan demikian dari gambaran resistensi yang sama merupakan indikator telah terjadinya paparan gen resisten terhadap metisilin. Hal tersebut

patut diwaspadai kemungkinan adanya MRSA atau MRSI dari anjing yang berhasil diisolasi di Surabaya.

5.4 Transfer Resistensi Horizontal

Transfer resistensi horizontal adalah transfer gen resisten antar jenis atau strain pada bakteri *Staphylococcus* sp melalui cara konjugasi, transformasi, dan transduksi. Perpindahan resistensi antar strain *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus intermedius* dalam percobaan laboratorium terjadi via transformasi, konjugasi dan transduksi (Lacey, 1975), hanya konjugasi tampak signifikan secara in vivo (McGowan, 1991), dimana konjugasi merupakan perpindahan gen resisten terjadi karena adanya kontak antar spesies bakteri, dipermudah dengan bentuk bakteri yang *coccus* bergerombol.

Transfer gen resisten secara horizontal sering terjadi diantara bakteri dan dianggap sebagai penyebab utama meningkatnya kejadian resistensi antibiotik pada tahun terakhir. Ilustrasinya ketika satu sel bakteri memperoleh gen resisten maka akan cepat menyebar secara transfer resisten horizontal ke banyak spesies.

Kemungkinan transfer resisten yang terjadi hanya terlihat pada antibiotik metisilin, hal ini sangat dimungkinkan karena SCC *mec* merupakan elemen yang mudah ditransferkan, sehingga tidak diperlukan paparan berlebihan terhadap metisilin untuk menjadikan bakteri terutama *Staphylococcus* sp resisten terhadap metisilin.

Untuk membaca transfer resisten antibiotik horizontal dengan melihat komparasi dari diameter (mm) zona inhibisi antibiotik antara isolat *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus intermedius* yang diisolasi dari spesimen yang sama. Transfer resistensi antibiotik secara horizontal ditunjukkan dengan pola resistensi pada *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus intermedius*, mengalami resistensi terhadap antibiotik yang sama yang diujikan (Effendi, 2008). Tabel 4.3 menunjukkan hasil dimana terdapat transfer gen resisten secara horizontal, yang transmisinya kemungkinan diperoleh dari manusia selaku pemilik anjing yang sebelumnya membawa MRSA atau MRSI. Menurut Lloy *et al.*, (2007) asal-usul utama infeksi MRSA pada anjing peliharaan adalah melalui kontak dengan manusia yang terinfeksi atau pembawa MRSA, selanjutnya anjing dapat berperan sebagai sumber infeksi ulang.

Berikut sampel yang diketahui telah terjadi transfer gen resisten secara horizontal pada tabel 4.3 adalah sampel nomor Sp2 telah terinfeksi gen resisten terhadap amoksisilin dan ampisilin yang polanya sama, diduga merupakan infeksi lama. Sampel Sp5 merupakan infeksi baru terhadap ampisilin, karena pola resistensi tidak sama. Sampel Sp6, merupakan infeksi lama terhadap amoksisilin dan ampisilin. Sampel Sp7 dan Sp8 merupakan infeksi baru terhadap amoksisilin dan ampisilin. Sampel Sp9 merupakan infeksi lama terhadap amoksisilin dan infeksi baru pada ampisilin dan kloksasilin. Sampel Sp21 merupakan infeksi baru terhadap amoksisilin,

ampisilin dan metisilin. Sampel Sp25, infeksi baru terhadap amoksisilin, dan metisilin serta infeksi lama terhadap infeksi ampisilin. Sampel Sp26, infeksi baru terhadap ampisilin.

Banyak orang sehat membawa *Staphylococcus aureus* tanpa terinfeksi. Fakta 25-30% atau 1/3 bagian tubuh manusia terdapat bakteri *Staphylococcus aureus*. Terdapat pada permukaan kulit, hidung, tanpa menyebabkan infeksi dan dikenal sebagai koloni bakteri. Melalui luka dapat menyebabkan infeksi, yang pada infeksi serius menyebabkan luka dan pnemonia.

MRSA atau MRSI adalah bakteri yang bertanggung jawab terhadap kejadian resisten pada antibiotik metisilin yang terdapat pada manusia dan hewan terutama anjing. MRSA atau MRSI adalah Strain *Staphylococcus aureus* atau *Staphylococcus intermedius* yang resisten terhadap antibiotik beta-laktam termasuk penisilin (metisilin, oksasilin, nafsilin, dicoklasilin) dan Sefalosporin atau dapat juga disebut strain *multi drug resistance*.

Rachal *et al.*, (2009), melaporkan bahwa *Staphylococcus* yang resisten terhadap metisilin telah diisolasi dari hewan peliharaan yang sehat, dan mempunyai karakteristik sama dengan strain MRSA yang terdapat pada manusia. Survey penelitian pada Rumah Sakit Hewan SETAIL Surabaya dan Rumah Sakit Hewan FKH UNAIR, tempat sampel *swab* hidung anjing dikumpulkan, terapi antibiotik terutama metisilin tidak pernah digunakan pada anjing. Ternyata hasilnya ditemukan adanya isolat resisten terhadap

metisilin, juga berasal dari anjing yang sehat. Demikian juga pada gambaran resistensinya ternyata memberikan gambaran yang sama artinya sudah ada paparan gen resisten pada anjing yang penularannya diduga dari manusia.

Staphylococcus sp yang resisten terhadap Metisilin pada tahun terakhir mulai meningkat, hal tersebut kemungkinan merupakan kejadian transfer resisten horizontal (Futagawa-Saito *et al.*, 2004), dimana diantara bakteri *Staphylococcus* berbeda spesies, bahkan strain saling menularkan gen resisten. Perubahan pola resisten dapat terjadi setelah bakteri terpapar oleh antibiotik yang lama atau dapat muncul selama pengobatan penyakit infeksi (Levy, 2002; Sawant, 2005).

Penyakit disebabkan oleh agen *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus intermedius* berbahaya bagi manusia dan hewan, namun dibandingkan MRSA atau MRSI, justru lebih berbahaya karena tingkat perlawanan MRSA atau MRSI terhadap antibiotik menjadi lemah, selain itu lebih merugikan secara ekonomi dan berdampak pada kesehatan masyarakat.

Staphylococcus intermedius merupakan flora normal pada anjing dan merupakan bakteri oportunistik yang patogen. Bakteri ini terkadang dapat menimbulkan infeksi yang cukup parah pada manusia. Belakang ini Metisilin-resisten *Staphylococcus intermedius* (MRSI) juga timbul di rumah sakit hewan diseluruh dunia (Bannoehr *et al.*, 2007).

Ciri-ciri MRSA atau MRSI adalah strain *Staphylococcus* yang resisten metisilin dengan frekuensi berulang dan mengandung gen *MecA*. Sumber

MRSA atau MRSI utamanya pada manusia yang diperoleh dari Rumah Sakit atau berasal dari *nosocomial diseases*, panti jompo dan pengguna antibiotik quinolon. *Nosocomial diseases* adalah penyakit yang berasal dari rumah sakit, dapat ditularkan secara kontak langsung dengan penderita atau pembawa MRSA atau MRSI. Selain itu dapat juga ditularkan oleh petugas kesehatan saat pelayanan, melalui peralatan medis, makanan terkontaminasi.

Pengendalian MRSA atau MRSI pada manusia, terutama ditujukan pada manajemen rumah sakit; 1. Menggunakan sarung tangan, 2. Mencuci tangan dengan alkohol dan air atau sabun antiseptik adalah teknik dasar mencegah transmisi MRSA, 3. Sterilisasi terhadap alat medis (transfusi darah, pasien dengan gagal ginjal) setiap digunakan pada satu orang, 4. Sanitasi dengan amonium kuartener yang ditambahkan alkohol.

Resiko tinggi tertular MRSA dan MRSI adalah 1. Kontak atau dekat dengan individu dengan riwayat terinfeksi MRSA dan kolonisasi; 2. Tingginya prevalensi MRSA dan MRSI dimasyarakat; 3. Sering timbul penyakit kulit; 4. Kondisi rumah dengan kepadatan tinggi; 5. Sering menggunakan antibiotik; 6. Pengguna narkoba; 7. Anak dibawah usia 2 tahun; 8. Penderita diabetes, HIV/AIDS.

Penularan MRSA atau MRSI biasanya melalui kontak langsung yaitu dari tangan yang terinfeksi. *Reservoir* utama MRSA adalah rumah sakit, menyebar dari pasien satu ke pasien lainnya melalui tangan staf kesehatan yang terkontaminasi. Selain itu penularan dapat berasal dari makanan, secara

aerosol, dari ibu ke anak melalui proses kelahiran. MRSA juga dapat ditularkan ke hewan terutama anjing, dan sebagian besar penularannya berasal dari manusia. Anjing yang tertular merupakan *reservoir* bagi manusia juga anjing lain disekitarnya. Selain pada anjing, merpati, rubah, cerpelai, dan kuda dapat ditemukan MRSA (Pottumarthy, *et al.*, 2004).

Resistensi antibiotik merupakan masalah kompleks yang melibatkan berbagai spesies bakteri. MRSA dan MRSI merupakan spesies yang memiliki potensi zoonosis. Pada manusia MRSA diakui sebagai bakteri patogen yang zoonosis dapat ditularkan melalui kontak langsung antar kulit (Pottumarthy *et al.*, 2004).

BAB 6

KESIMPULAN DAN SARAN

BAB 6 KESIMPULAN

6.1 Kesimpulan

- 6.1.1 Terdapat Genus CPS (*Coagulase Positive Staphylococcus*) yaitu isolat *Staphylococcus aureus* dan isolat *Staphylococcus intermedius*, yang resisten terhadap metisilin dan diduga merupakan MRSA dan MRSI pada anjing.
- 6.1.2 Telah terpapar gen resistensi pada beberapa isolat *Staphylococcus aureus* dan isolat *Staphylococcus intermedius*.
- 6.1.3 Terdapat kejadian transfer gen resisten secara horizontal antara isolat *Staphylococcus aureus* dan isolat *Staphylococcus intermedius* pada spesimen mukosa hidung anjing yang sama.

6.2 Saran :

- 6.2.1 Perlu diwaspadai terjadinya penularan MRSA dan MRSI terhadap kota-kota berikut teridentifikasi terpapar gen resisten metisilin pada anjing; Mulyorejo dan Dharmahasada wilayah Kota Surabaya Timur, Kedung Cowek wilayah Kota Surabaya Utara, dan Satelit Barat wilayah Kota Surabaya Barat.
- 6.2.2 Diperlukan penelitian lanjutan untuk mengidentifikasi spesies pada CPS dengan PCR untuk mendeteksi gen *mecA* yang menyandi resistensi terhadap metisilin dalam rangka mengetahui sumber utama penularannya.

6.2.3 Diperlukan data prevalensi MRSA dan MRSI pada manusia sebagai acuan telah ditemukan transfer gen resisten secara horizontal antara isolat *Staphylococcus aureus* dan isolat *Staphylococcus intermedius*.

RINGKASAN

RINGKASAN

Staphylococcus aureus dan *Staphylococcus intermedius* merupakan CPS (Coagulase Positive Staphylococcus) yang menfermentasi *mannitol* dan tidak menfermentasi *mannitol*, bakteri gram positif, bentuk *coccus*, bergerombol, pada uji katalase serta uji koagulase menunjukkan hasil positif.

CPS merupakan genus *Staphylococcus* yang mengandung gen *mecA* sebagai penyandi resisten terhadap antibiotik beta-laktam, oleh karena itu uji resistensi antibiotik dilakukan berdasarkan CPS .

Uji resistensi antibiotik dilakukan terutama untuk mendeteksi adanya bakteri *Staphylococcus* yang resisten terhadap metisilin, yang diduga merupakan MRSA atau MRSI. MRSA dan MRSI adalah strain *Staphylococcus aureus* atau *Staphylococcus intermedius* yang bertanggung jawab terhadap kejadian resistensi metisilin secara berulang. MRSA dan MRSI disebut juga sebagai strain yang *multi drug resistance*.

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi genus *Staphylococcus* yang diisolasi dari *swab* hidung anjing di Surabaya, menetapkan gambaran resistensi terhadap antibiotik amoksisilin, ampisilin, kloksasilin dan metisilin, serta untuk mengetahui adanya transfer resisten horizontal pada genus *Staphylococcus*.

Hasil penelitian menunjukkan adanya isolat *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus intermedius*, yang resisten terhadap metisilin, yang diduga MRSA dan MRSI serta terdapat kejadian transfer gen resisten secara horizontal antara

isolat *Staphylococcus aureus* dan isolat *Staphylococcus intermedius* pada spesimen mukosa hidung anjing yang sama., dimana transmisi utamanya berasal dari manusia. Perlu waspada terhadap penularan gen resisten *Staphylococcus* pada anjing di Kecamatan Surabaya yang telah teridentifikasi, berikut kecamatan dimaksud; Mulyorejo, dan Dharmahasada Kota Surabaya Timur, Kedung Cowek Kota Surabaya Utara dan Satelit Barat Kota Surabaya Barat.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Bannoehr, J., L. Nouri, B. Zakour, A.S. Waller, L. Guardabassi, K. L. Thoday, A.H.M. van den Broek and J.R. Fitzgerald. 2007. Population Genetic Structure of the *Staphylococcus intermedius* Group: Insights. *J. of Bacteriology*. Vol 189 No 23. p. 8685-8692.
- Barry, A. L., R. V. F. Lachica, and F. W. Atchison. 1973. Identification of *Staphylococcus aureus* by Simultaneous Use of Tube Coagulase and Thermonuclease Tests. *Applied Microbiology* Vol. 25 No. 3 p. 496-497.
- Becker, K., B. Keller, Christof von Eiff, M. Bruck, G. Lubritz, J. Etienne, and G. Peters. 2004. Enterotoxigenic Potential of *Staphylococcus intermedius*. *Applied and Environmental Microbiology* Vol. 67 No. 12 p.5551-5557.
- Berger-Bachi, B and S. Rohrer. 2002. Factors influencing methicillin resistance in *Staphylococci*. *Arch Microbiol*. 178 :165-171.
- Bremer, P. J., G. C. Fletcher, C. Osborne. 2004. *Staphylococcus aureus*, New Zealand Institute for Crop & Food Research Limited. A Crown Research Institute.
- Borlaug, Gwen., 2005. Community Associated Methicillin Resistant *Staphylococcus Aureus* (CA MRSA). Quidelines for Clinical Management and Control of transmission, PPH 4216.
- Cohn, R. A. And J. R. Middleton. 2010. A veterinary perspective on methicillin-resistant staphylococci. *Journal of Veterinary Emergency and Critial Care* 20 (1). P 31-45.
- Christoforus, 2010. Pembuktian Trasfer Resisten Horizontal Melalui Uji Sensitifitas Antibiotika Beta-Laktam Antar Bakteri *Staphylococcus* Sp. Dari Kulit Anjing Yang luka [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga Surabaya.
- Dinas Peternakan, 2009. Livestock and Health of animal Data 2009. Dinas Peternakan Provinsi Jawa Timur : 28.
- Effendi, M. H. 2008. Pembuktian *Horizontal Transfer Of Resistance Genes* Melalui Uji Sensitifitas Antibiotik pada Bakteri Genus *Staphylococcus* dari Kasus Bovine Mastitis. *Berkala Penelitian Hayati*. Vol. 13 No. 2.

- El Zubeir, I.E.M., T. Kanbar, J. Alber, C. Lammler, O. Akineden, R. Weiss and M. Zschock. 2007. Phenotypic and Genotypic characteristics of methicillin/oxacillin-resistant *Staphylococcus intermedius* Isolated from Clinical Specimens during Routine Veterinary Microbiological Examinations. *Veterinary Microbiology*. 121 170-176
- Freney, J., W.E. Kloss, V Hajek, J.A, Webster, M. Bes, Y. Brun and C. Vernozy-Rozand. 1999. Recommended Minimal Standards for Description of New *Staphylococcal* Species *International Journal of Systematic Bacteriology*. 49, 489-502.
- Fuda, C.C.S., J.F. Fisher and S. Mobashery. 2005. β -Lactam resistance in *Staphylococcus aureus*: the adaptive resistance of a plastic genome. *Cell. Mol. Life Sci*. 62. 2617-2633.
- Futagawa-Saito, K., M. Suzuki, M. Ohsawa, S. Ohshima, N. Sakurai, W. Ba-Thein and T. Fukuyasu. 2004. Identification and prevalence of an enterotoxin-related gene, se-int, in *Staphylococcus intermedius* isolates from dogs and pigeons. *Journal of Applied Microbiology*, 96, 1361-1366.
- Garrity, G.M., J.A. Bell and T.G. Lilburn. 2003. Taxonomy of the Procaryotes Berges's Manual of Systematic Bacteriology Second edition.
- Guardabassi, L., M.E. Loeber and A. Jacobson. 2004. Transmission of Multiple Antimicrobial-Resistant *Staphylococcus intermedius* between dogs Affected by Deep Pyoderma and Their Owners. *Veterinary Microbiology*. 98, 23-27.
- Guardabassi, L., S. Schwarz and D. H. Lloyd. 2004. Pet Animals As Reservoirs Of Antimicrobial-Resistant Bacteria. *Journal Of Antimicrobial Chemotherapy* Vol 54. No. 321-332.
- Gyless, C. L., J.F. Prescott, J.G. Songer and C.O. Thoen. 2004. Pathogenesis of Bacterial Infection in Animal. Blackwell Publishing. Iowa.
- Harms JM, Bartels H, Schlunzen F, dan Yonath A, 2003. Antibiotics acting on the translational machinery. *J. Cell. Sci*. 116: 1391-1393
- Hajek, V. 1976. *Staphylococcus intermedius*, a New Species Isolated from Animal. *International Journal of Systematic Bacteriology*. Vol. 26 no. 4 p 401-408.
- Hiratmatsu K, Cui L, Kuroda M. Ito T. 2003. The emergence and evolution of methicillin-resistance *staphylococcus aureus*. *Trends. Microbiol*. 9:486-493.

- Hussain, Z., L., Stoakes, S. Garrow, S. Longo, V. Fitzgerald, and R. Lamigan. 2000. Rapid. Detection of *mecA*-positive and *mecA*-negative coagulase negative staphylococci by an anti-penicillin binding protein 2a slide test. *J. Clin. Microbiol.* 38:2051-2054.
- Hoekstra, K. A. And R.J.L. Paulton. 2002. Clinical Prevalence and Antimicrobial Susceptibility of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus intermedius* in Dogs. *Journal of Applied Microbiology.* 93, 406-413.
- Hooper DC, 2001. Emerging Mechanisms of Fluoroquinolone Resistance. *Emerging Infect. Dis.* 7:337-341.
- Hnilica, K. A. 2006. *Staphylococcus*, *Malassezia*, and *Pseudomonas*: Why are they there and what to do about it. The University of Tennessee.
- Joshi, N. V., and V.S.R. Rao. 1982. Theoretical Studies on β -lactam Antibiotics VI: Conformational Analysis and Structure-Activity relationship of Penicillin Sulfoxides and Cephalosporin. *J. Biosci.* Vol. 4. No.2. pp 209-218.
- Katayama Y, Zhang HZ, and Chambers HF, 2003. Effect of disruption of *Staphylococcus aureus* *pbp4* Gene on Resistance to β -Lactam Antibiotics. *Micro. Drug Resist.* 9:329-336.
- Katzung, B. G. 1995. *Farmakologi Dasar dan Klinik (Basic & Clinical Pharmacology)*. Jakarta. Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Lalitha, M.K. 2004. *Manual on Antimicrobial Susceptibility Testing*. Tamil Nadu. Christian Medical Colage.
- Lacey.RW. 1975. Antibiotic resistance plasmids of *staphylococcus aureus* and their clinical. Importance. *Bakteriol. Rev.* 39:1-32.
- Levy SB, 2002. Factors Impacting on the problem of antibiotics resistance. *J. Antimicrob. Chemother.*49:25-30.
- Loeffler, A., A.K. Boag, J.A. Lindsay, L. Guardabassi, A. Dalsgaard, H. Smith, K.B. Stevens and D. H. Llyod. 2005. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Among Staff and Pets in a Small Animal Referral Hospital in the UK. *J. Antimicrobial Chemotherapy.* 56, 692-697.
- Lopez-Lozano JM, Monnet DL and Sacz M. 2000. Modelling and forecasting antimicrobial resistance and its dynamic relationship to antimicrobial use; a time series analysis. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 14:21.

- Mc Gowan JE Jr. 1991. Abrupt changes in antibiotic resistance. *J. Hosp. Infect.* 18:202-210.
- Pedersen, Kurl., Pedersen, Kristin., Jensen, Helene., Finster, K F. Jensen, Vibeke., and E. Hever, Ole. 2007. Occurrence of Antimicrobial Resistance In Bacteria from Diagnostic Sampel from Dogs. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 60, 775-781.
- Plumb, D.C. 2005. *Plumb's Veterinary drug Handbook 5th Edition*. Iowa. Blackwell Publishing.
- Pratama, M. R. 2005. Pengaruh Ekstrak Serbuk Siwak (*Salvadora perrisica*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Sterptococcus Mutan* dan *Staphylococcus Aureus* Dengan Metode Difusi Agar. Fakultas Matematika daan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Tehnologi Sepuluh November Surabaya.
- Pottumarthy, S., JM Scahapiro, JL Prentice, YB Houze, SR Swanzy, F.C Fang and B.T. Cookson., 2004. Clinical isolates of aureus intermedius masquerading as Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Microbiology*, 42:5881-5884.
- Pinho MG, Lencastre H and Tomasz A. 2001. An Acquired and a native penicillin binding protein cooperate in bulding the cell wall of drug-resistance *Staphylococci*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 21:21.
- Phillips, W. E. and W. E. Kloos. 1981. Identifikasi of Coagulase-Positive *Staphylococcus intermedius* and *Staphylococcus hyicus* subsp. *Hyicus* Isolates From Veterinary Clinical Specimens. *Journal of Clinical Microbiology* Vol. 14 No. 6 p. 671-673.
- Pratt, W.B. and P. Taylor 1990. *Principles of Drug Action the Basis of Pharmacology 3th Edition*. Philadelphia. Churchill Livingstone.
- Prescott, L. M., J. P. Harley, and D. A. Klein. 2003. *Microbiology Fifth Edition*. McGraw-Hill Higher Education: New York.
- Quinn, P.J., B.K. merley. M.E. Carter, W. J. Donnelly and F. C. Leonard. 2002. *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. Blackwell Science. Dublin.
- Rachel, T., K. Leonard, L. Martinez, J. G. Breaux, A. Corbin and R. Nathaniel. 2009. Prevalence of SCC*mec* types in methicillin resistant *Staphyloicoccus intermedius* in healthy pets from Southeastern United States. *Journal of Infectious Diseases and Immunity*. Vol. 1, pp. 006-010.

- Rice LB, 2000. Bacterial monopolists : The Bunding and Dissemination of antimicrobial Resistance genes in Gram Positive Bacteria. *Clin Infect Dist.*31:762-769.
- Roberson, J. R., L. K. Fox, D.D. Hancock, and T. E. Besser. 1992. Evaluation of Methods for Differentiation of Coagulase-Positive, *Journal of Clinical Microbiology* Vol.30 No 12 p. 3217-3219.
- Sawant AA, 2005. Descriptive and Moliculer Epidemiology of antibiotic Resistant Gram Negative Enteric Bacteria from Dairy Cattle. *Thesis*, The Pennsylvanis State University, USA.
- Setiawati, Ayu. 2010. Isolasi dan Identifikasi *Staphylococcus* Koagulase Postive dari Luka pada Anjing di Surabaya [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Unversitas Airlangga Surabaya.
- Schaechter, N. C. Engleberg, B.I. Eisenstein, Gerard Medoff. Lippincott Williams & Wilkins:USA.
- Sperber, W. H. and S. R. Tatini. 1975. Interpretation of the Tube Coagulase Tes for Identification of *Staphylococcus aureus*. *Applied Microbiology* Vol. 29 No. 4 p. 502-505.
- Suarsana, I. N. 2005. Protein-A: Peranannya Dalam Mekanisme Infeksi. *Jounal Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana Denpasar*.
- Sugiono, 2009. *Statistik Untuk Penelitian*. CV. Alfabeta. Bandung.
- Tirnata, L.P. 2007. Identifikasi *Staphylococcus aureus* Penyebab Mastitis Dengan Uji Fermentasi Mannitol dan Deteksi Produksi Asetoin Pada Sapi Perah Di Wilayah Kerja Usaha Tani Ternak Suka Makmur Grati Pasuruan. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.
- Todar, K. 2008. *Staphylococcus aureus and Staphylococcus Disease*. www.textbookofbacteriology.net [27Mei2010]
- Talan, D. A., D. Staatz, A. Staatz, E..J.C. Goldstein, K. Singer, G.D. Overtruf. 1989. *Staphylococcus intermedius* in Canine Gingiva and Canine-Inflicted Human Wound infections: Laboratory Characterizzation of a Newly Recognized Zoonotic Patogen. *Journal of Veterinary Microbiology* Vol. 27 No. 1 p. 78-81.
- Tally, F. P. And N. L. Barg. 1999. *Staphylococci: Abscesses and other Diseases Chapter 11 in Mechanisms of Microbial Disease 3rd Edition*. Editor: Moselio.

- Talan, D. A., D. Staatz, A. and, G.D. Overtruf. 1989. Frequency of *Staphylococcus intermedius* as Human Nasopharyngeal Flora.. Journal Of Clinical Microbiology Vol. 27 No. 10 p. 2393.
- Vavra SB, Yin S, Challapalli M. And Daum RD. 2003. Transcriptional induction. Of the penicillin-binding protein 2 gene in *Staphylococcus aureus*. by cell active antibiotics oxacillin and vancomycin. J. Antimicro. Agents and Chemother. 47:1028-1036.
- Walsh C, 2000. Molecular mechanisms that Confer Antibacterial Drug Resistance. Nature 404:775-781.
- Winn Jr, W., S. Allen, W. Janda, E. Koneman, G. Procop, P. Schreckenberger and G. Woods. 2006. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology Sixth Edition. Lippincott Williams and Wilkins, Baltimore.
- Wise R. 1999. A review of the mechanisms o action and resistance of antimicrobial agent Can. Resp. J. 6 Suppl:20A.
- Wilkins, T.D., L. V. Holdeman, J. Abramson and W. E. C. Moore. 1972. Standardized Single-Disc Method for Antibiotic Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Vol. 1. No. 6. P 451-459.
- Youn, J. H., S.Y. Hwang, S. H. Kim, H. C. Koo, S, Shin, S. K. Lim and Y. H. Park. 2010. *mecA* gene transferrability and antibiogram of zoonotic *Staphylococcus intermedius* from animal, staff and the environment in animal hospital in korea. J Microbiol Biotechnol. 20 (2):425-32.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan Statistik Gambaran Resistensi *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus intermedius* terhadap antibiotik Amoksisilin, Ampisilin, Kloksasilin dan Metisilin

Gambaran Resistensi Terhadap Amoksisilin

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	.859 ^a	2	.651
Likelihood Ratio	.855	2	.652
Linear-by-Linear Association	.774	1	.379
N of Valid Cases	44		

a. 2 cells (33.3%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 2.16.

Gambaran Resistensi Terhadap Ampisilin

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	.751 ^a	2	.687
Likelihood Ratio	.755	2	.686
Linear-by-Linear Association	.480	1	.489
N of Valid Cases	44		

a. 2 cells (33.3%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 2.59.

Gambaran Resistensi Terhadap Kloksasilin

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	1.403 ^a	2	.496
Likelihood Ratio	1.767	2	.413
Linear-by-Linear Association	1.145	1	.285
N of Valid Cases	44		

a. 4 cells (66.7%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .43.

Gambaran Resistensi Terhadap Metisilin

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	.652 ^a	2	.722
Likelihood Ratio	.664	2	.718
Linear-by-Linear Association	.553	1	.457
N of Valid Cases	44		

a. 4 cells (66.7%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 2.59.