

KRIPSI

**PEMBUKTIAN TRANSFER RESISTENSI HORIZONTAL
MELALUI UJI SENSITIVITAS ANTIBIOTIK
BETA-LAKTAM ANTAR BAKTERI
Staphylococcus spp. DARI
KULIT ANJING YANG LUKA**



Oleh :

CHRISTOFORUS

NIM 060610180

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2010**

**PEMBUKTIAN TRANSFER RESISTENSI HORIZONTAL
MELALUI UJI SENSITIVITAS ANTIBIOTIK BETA-LAKTAM
ANTAR BAKTERI *Staphylococcus spp.* DARI KULIT ANJING
YANG LUKA**


Skripsi
Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan
pada
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

oleh

CHRISTOFORUS
NIM 060610180

Menyetujui
Komisi Pembimbing,


(Prof. Dr. Bambang Sektiari L., drh, DEA)
Pembimbing Utama


(Widya Paramita L., drh, MP)
Pembimbing Serta

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi berjudul :

**Pembuktian Transfer Resistensi Horizontal Melalui Uji Sensitivitas
Antibiotik Beta-laktam antar Bakteri *Staphylococcus spp.*
dari Kulit Anjing yang Luka**

tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan 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, 23 Agustus 2010



Christoforus
NIM. 060610180

Telah dinilai pada Seminar Hasil Penelitian

Tanggal : 25 Agustus 2010

KOMISI PENILAI SEMINAR HASIL PENELITIAN

Ketua : Dr Mustofa Helmi Effendi, drh. DTAPH.
Sekretaris : Wiwiek Tyasningsih, drh., M.Kes.
Anggota : Julien Soepraptini, drh., SU.
Pembimbing I : Prof. Dr. Bambang Sektiari L., drh., DEA.
Pembimbing II : Widya Paramita L., drh., M.P.

Telah diuji pada

Tanggal : 1 September 2010

KOMISI PENGUJI SKRIPSI

Ketua : Dr Mustofa Helmi Effendi, drh. DTAPH.

Anggota : Wiwiek Tyasningsih, drh., M.Kes.

Julien Soepraptini, drh., SU.

Prof. Dr. Bambang Sektiari L., drh., DEA.

Widya Paramita L., drh., M.P.

Surabaya, 15 September 2010

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,



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

NIP. 19531216 197806 2 001

**EVIDENCE OF HORIZONTAL TRANSFER RESISTANCE
BY ANTIBIOTICS SENSITIVITY TEST USING BETA-LACTAM
BETWEEN *Staphylococcus spp.* FROM WOUNDED DOG**

Christoforus

ABSTRACT

This experiment was conducted to show the evidence of horizontal transfer resistance by antibiotics sensitivity test using beta-lactam between *Staphylococcus spp.* from wounded dog. Specimens were collected in Surabaya and grown in MSA. These specimens have to contain 2 kind of *Staphylococcus*, one that fermented manitol and one that did not. Preparation of pure culture were confirmed by MSA, catalase and coagulase test. Both isolates were tested by beta-lactam antibiotic using disk diffusion method by kirby-bauer. The result showed that transfer of methicillin resistance is suspected to be present in one of the specimen. This result indicated that there is risk of antibiotics transfer resistance in dog.

Key words : horizontal transfer resistance, *Staphylococcus*, beta-lactam

UCAPAN TERIMAKASIH

Puji syukur kehadiran Tuhan Yesus Kristus atas kasih dan karunia-NYA sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan skripsi dengan judul **Pembuktian Transfer Resistensi Horizontal Melalui Uji Sensitivitas Antibiotik Beta-laktam antar Bakteri *Staphylococcus spp.* dari Kulit Anjing yang Luka**

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terimakasih kepada :

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya Prof. Hj. Romziah Sidik, drh., Ph.D. atas kesempatan mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Prof. Dr. Bambang Sektiari L., drh., DEA. selaku dosen pembimbing pertama dan Widya Paramita L., drh., M.P. selaku dosen pembimbing kedua yang telah memberikan waktu, bimbingan, bantuan dan pengarahannya dalam menyelesaikan skripsi ini.

Dr. Mustofa Helmi E., drh., DTAPH. selaku ketua penguji skripsi dan selaku dosen pembimbing penelitian yang telah memberikan kesempatan pengetahuan, waktu, dan energi pada penelitian ini serta telah memberikan banyak bantuan kepada penulis. Wiwiek Tyasningsih drh., M.Kes. selaku sekretaris penguji skripsi dan Julien Soepraptini, drh., SU. selaku anggota penguji skripsi.

Seluruh staf pengajar Fakultas kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas bimbingan selama mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya

Seluruh paramedis dan mahasiswa koas Rumah Sakit Hewan Pendidikan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas bantuannya dalam mengumpulkan koleksi spesimen dalam penelitian ini.

Ucapan terima kasih yang tidak kalah pentingnya penulis haturkan kepada kedua orang tua, iik po serta mbak tri yang selalu membantu, baik dalam dalam doa, support dan kehidupan penulis.

Rekan penelitian, Ayu Setiawati dan Bayu Suryo Aji yang telah memberikan kerjasama yang menyenangkan dalam penelitian ini. Pak Pur dan Pak Giri selaku asisten eks laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Departemen Mikrobiologi Veteriner yang selalu membantu dalam teknis penelitian.

Sahabat-sahabat, Yunia Rahmawati, Dessy Fajarwati, Christian Santoso, Antoni Widiya, teman-teman Fakultas Kedokteran Hewan UNAIR, teman-teman sel VAP dan teman-teman lain yang tidak bisa disebutkan satu persatu atas semua doa, bantuan, semangat dan penghiburan yang diberikan.

Penulis menyadari bahwa makalah skripsi ini jauh dari sempurna, untuk itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari pembaca. Semoga skripsi ini dapat membantu dan berguna sebagai referensi selanjutnya.

Surabaya, Agustus 2010

Penulis

2.1.2. Resistensi Antibiotik	13
2.2. Tinjauan tentang Staphylococcus	14
2.3. Transfer resistensi Antibiotik pada Staphylococcus	17
BAB 3 MATERI DAN METODE PENELITIAN	19
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian	19
3.2. Materi, Bahan dan Alat Penelitian	19
3.3. Metode Penelitian.....	20
3.3.1. Prosedur Isolasi Staphylococcus	20
3.3.2. Uji Resistensi Antibiotik	21
3.3.3. Pembacaan Transfer Resistensi Horizontal.....	22
3.4. Rancangan Penelitian	22
BAB 4 HASIL PENELITIAN	24
BAB 5 PEMBAHASAN.....	29
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN	33
RINGKASAN.....	35
DAFTAR PUSTAKA.....	37
LAMPIRAN.....	40

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Rumus Bangun Penisilin.....	9
2.2. Rumus Bangun Sefalosporin	10
3.1. Kerangka konseptual Penelitian.....	23
4.1. Pemeriksaan Mikroskopik dengan Pewarnaan Gram	25
4.2. Hasil Uji Koagulase	26
4.3. Hasil Uji Resistensi Antibiotik Sp ₁	27
4.4. Hasil Uji Resistensi Antibiotik Sp ₂	27
4.5. Hasil Uji Resistensi Antibiotik Sp ₃	27
4.6. Hasil Uji Resistensi Antibiotik Sp ₄	28

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1. Hasil uji koagulase terhadap 8 spesimen yang diinkubasi pada 37 ⁰ C selama 24 jam.	25
4.2. Hasil pengukuran zona inhibisi pada uji resistensi antibiotik terhadap spesimen dengan media MHA dan inkubasi pada 37 ⁰ C selama 24 jam	26

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran1. Proses Koleksi Spesimen	41

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah

Antibiotik beta-laktam khususnya penisilin adalah salah satu antibiotik dengan penggunaan terluas di dunia. Beberapa ribu ton obat ini telah diberikan pada manusia selama 40 tahun terakhir ini. Karena itu, penisilin bertanggung jawab terhadap beberapa akibat penyalahgunaan antibiotik yang paling drastis (Katzung, 1995).

Penisilin telah berkembang menjadi obat dengan spektrum yang diperluas, beberapa diantaranya seperti *oxacillin* dan metisilin bahkan ditujukan khusus untuk mengobati bakteri kokus Gram positif yang memproduksi penisilinase terutama spesies *Staphylococcus* (Plumb, 2005). Menurut El Zubeir *et al.* (2007), beberapa dari *Staphylococcus* yang telah diisolasi, resisten terhadap metisilin. Bakteri ini disebut Metisilin-resisten *Staphylococcus aureus* (MRSA). Bakteri ini terkadang juga resisten terhadap antibiotik lain seperti golongan aminoglikosida dan makrolid.

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

Hoekstra dan Paulton (2002) mengatakan bahwa infeksi oleh bakteri *Staphylococcus* biasanya diobati oleh antibiotik. Resiko dari penggunaan antibiotik secara luas dan berlebihan tanpa mengenal lebih lanjut karakteristik bakteri penyebab penyakit menyebabkan adanya resistensi bakteri terhadap antibiotik (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). *Staphylococcus aureus* merupakan satu-satunya bakteri koagulase positif yang dapat diidentifikasi sampai Hajek pada tahun 1976 mengidentifikasi spesies yang unik yang disebut *Staphylococcus aureus* biotipe E dan F yang akhirnya disebut *Staphylococcus intermedius* (Pottumarthy *et al.*, 2004).

Staphylococcus intermedius merupakan bakteri yang diasosiasikan dengan hewan. Bakteri ini mempunyai banyak kemiripan dengan *Staphylococcus aureus*, terlebih dalam faktor virulensinya seperti koagulase, haemolysin, leucocidin dan enterotoksin (Futagawa-Saito *et al.*, 2004). *Staphylococcus intermedius* merupakan penyebab utama dari penyakit infeksi kulit pada anjing seperti pyoderma dan otitis externa (Youn *et al.*, 2010)

Pemberian antibiotika berlebihan harus dihindarkan pada anjing untuk mengurangi banyaknya resistensi antimikrobia terhadap *S. intermedius* serta adanya kemungkinannya terjadi transfer resistensi antibiotik, pada *Staphylococcus* yang terdapat pada manusia (Guardabassi, 2004). Transfer resistensi antibiotik metisilin dilaporkan terjadi dari *Coagulase Negative*

Staphylococcus (CNS) ke *Staphylococcus aureus* (Berger-Bächi and Rohrer, 2002).

Penelitian ini dilaksanakan untuk mengetahui adanya transfer resistensi antibiotik pada *Staphylococcus* hasil isolasi, dimana hasil penelitian ini bersifat eksploratif.

1.2. Perumusan Masalah

1. Apakah *Staphylococcus* hasil isolasi resisten atau sensitif terhadap antibiotik ampicilin, amoksisilin, metisilin, dan kloksasilin?
2. Apakah terdapat transfer horizontal resistensi antibiotik antar genus *Staphylococcus* dari spesimen yang diambil dari masing-masing individu?

1.3. Landasan Teori

Staphylococcus merupakan bakteri yang mempunyai banyak faktor virulensi, terutama *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus intermedius* yang mempunyai faktor seperti haemolysin, leucocidin dan enterotoksin, koagulase positif pada plasma manusia serta kelinci, serta menyebabkan terjadinya nanah atau *pyoderma* (Futagawa-Saito *et al.*, 2004; Hajek, 1976).

Staphylococcus intermedius merupakan flora normal pada anjing dan merupakan bakteri oportunistik yang patogen. Bakteri ini terkadang dapat menimbulkan infeksi yang cukup parah pada manusia. Belakangan ini

Metisilin-resisten *Staphylococcus intermedius* (MRSI) juga timbul di rumah sakit hewan di seluruh dunia (Bannoehr *et al.*, 2007).

Bakteri mudah resisten terhadap antibiotik, disamping resistensi instrinsiknya terdapat peningkatan resistensi yang ditandai dengan meningkatnya gejala klinis yang nyata dan resistensi perolehan ini dapat terjadi karena pemaparan antibiotik dalam waktu yang lama (Effendi, 2008).

Terdapat bakteri *Staphylococcus* yang resisten terhadap beberapa antibiotika seperti aminoglikosida, makrolid dan fluoroquinolon serta adanya Metisilin-resisten *Staphylococcus aureus* (MRSA). MRSA dilaporkan menjadi penyebab mayor penyakit *nosocomial* dan penyakit ini menjadi endemik di banyak rumah sakit di Inggris (Loeffler *et al.*, 2005). Kasus infeksi MRSA ini terus bertambah dan beberapa dilaporkan didapatkan dari binatang peliharaannya dimana hal ini mengindikasikan bahwa bakteri MRSA merupakan masalah potensial untuk manusia (El Zubeir *et al.*, 2007).

Metisilin resisten pada *Staphylococcus* tergantung dari dididapkannya Penicillin-binding protein, PBP2a. PBP2a adalah PBP yang di *encode* oleh *mecA* yang menimbulkan bakteri ini resisten terhadap semua beta-laktam dan derivatifnya (Berger-Bächi and Rohrer, 2002). Resistensi terhadap metisilin dapat ditransferkan secara horizontal melalui elemen *Staphylococcal Cassette Chromosome* (SCC) yang mengandung gen *mecA* (Rachal *et al.*, 2009).

Dalam penelitiannya, Effendi (2008) juga menyimpulkan bahwa terdapat *horizontal transfer of resistance genes* dari *staphylococcus aureus* dan

koagulase negatif staphylococci yang diisolasi dari puting sapi perah yang sama.

1.4. Tujuan Penelitian

Bertitik tolak pada latar belakang penelitian yang telah diuraikan di atas, maka penulis menyusun penelitian yang bertujuan sebagai berikut :

1. Untuk mengetahui apakah *Staphylococcus* hasil isolasi resisten atau sensitif terhadap antibiotik ampisilin, amoksisilin, metisilin, dan kloksasilin.
2. Untuk mengetahui adanya transfer horizontal resistensi antibiotik antar genus *Staphylococcus* dari spesimen yang diambil dari masing-masing individu.

1.5. Manfaat penelitian

1. Untuk menambah khasanah ilmu pengetahuan.
2. Memberikan informasi mengenai adanya transfer resistensi pada genus *Staphylococcus*.
3. Memberikan informasi yang lebih jelas mengenai resistensi antibiotika beta-laktam pada bakteri genus *Staphylococcus*.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan tentang 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 transpor aktif melalui membran sel, penghambatan sintesis protein (penghambat translasi dan transkripsi material genetik), dan penghambatan sintesis asam nukleat.

Dalam level terapeutik, antimikrobia ini 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 ini bergantung pada 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).

2.1.1. Antibiotika Beta-Laktam

Beta-laktam adalah jenis antibiotik bakterisidal yang secara umum cara kerjanya menghambat sintesis dinding sel. Terdapat berbagai aktivitas dari obat ini selain penghambat selektif sintesis dinding sel. Obat ini dinamakan beta-laktam karena mempunyai cincin laktam beranggotakan 4 yang unik. Antibiotika beta-laktam yang beredar dalam masyarakat terbagi atas 2 kelompok obat yang besar yaitu penisilin dan sefalosporin. Kedua obat ini mempunyai persamaan dalam sifat kimiawi, mekanisme kerja, efek farmakologik dan klinik, dan sifat imunologik (Katzung, 1995).

Antibiotika beta-laktam mempunyai beberapa mekanisme dalam membunuh bakteri, antara lain: perlekatan obat dengan reseptor spesifik pada bakteri merupakan langkah awal dari mekanisme kerja obat ini. Antibiotik seperti penisilin ataupun sefalosporin pertama-tama akan berikatan dengan reseptor bakteri yang berupa protein pengikat penisilin (*PBPs = penicillin-binding proteins*). Reseptor yang berbeda pada setiap bakteri membuat cara kerja yang berbeda pula pada setiap bakteri, dimana perlekatan penisilin ke satu *PBPs* akan menyebabkan pemanjangan abnormal pada sel, sementara perlekatan pada sel lain menyebabkan kerusakan dinding sel pada perifer sehingga terjadi lisis sel (Katzung, 1995).

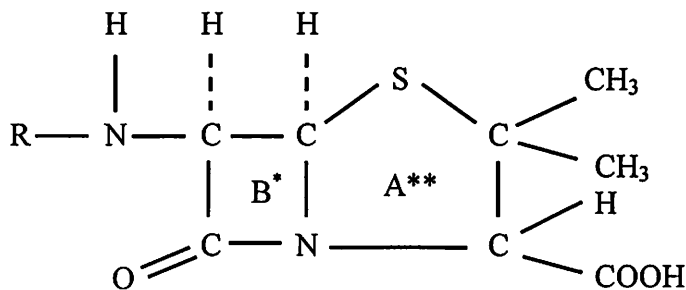
Lebih lanjut, Katzung (1995) mengatakan bahwa PBPs dipengaruhi oleh kontrol kromosom. Mutasi dapat mengubah nomor dan afinitas kromosom untuk obat beta-laktam yang spesifik. Setelah obat beta-laktam melekat pada reseptornya, maka reaksi transpeptidasi dan sintesis peptidoglikan dari bakteri akan dihambat. 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 hipertonik mikroba dapat berubah menjadi protoplas yang hanya dibungkus oleh membran sel yang rapuh. Dalam keadaan ini sintesis protein dan asam nukleat masih dapat berlangsung untuk beberapa waktu.

Salah satu beta-laktam yang paling sering dipergunakan adalah penisilin. Penisilin merupakan obat antimikrobal yang diisolasi dari kapang *Penicillium notatum* yang merupakan produk dari penelitian antimikrobal pertama yang dilakukan oleh Fleming. Fleming melaporkan bahwa koloni dari *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 reaksi ini mengakibatkan reaksi silang pada sintesis peptidoglikan dari 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-aminopenisililat, dimana terdapat adanya cincin tiazolidin yang melekat pada cincin beta-laktam. Berikut adalah rumus bangun dari penisilin.



Gambar 2.1. Rumus bangun penisilin

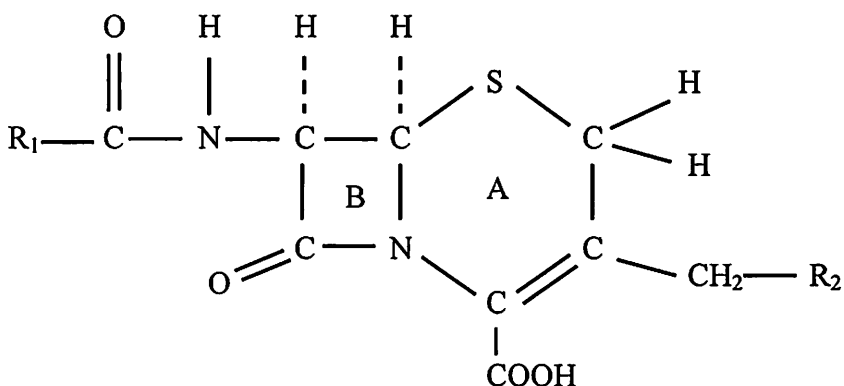
A: cincin tiazolidin

B: cincin beta-laktam

(Katzung, 1995)

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

Sefalosporin merupakan salah satu dari dua grup besar antibiotik beta-laktam. Merupakan obat-obatan antimikrobal beta-laktam yang juga diisolasi dari jamur yang bernama *Cephalosporium acremonium* (Plumb, 2005). Mempunyai cara kerja yang mirip dengan penisilin tetapi resisten terhadap beta-laktamase serta aktif terhadap bakteri Gram positif maupun bakteri Gram negatif. Inti dari sefalosporin adalah asam 7-aminosefalosporanat. Asam 7-aminosefalosporanat sangat menyerupai asam 6-aminopenisilanat. Perlekatan berbagai gugusan R₁ dan R₂ telah menghasilkan berbagai obat dengan aktivitas terapi yang baik dan toksisitas yang rendah (Katzung, 1995).



Gambar 2.2. Rumus bangun sefalosporin

A: cincin tiazolidin

B: cincin beta-laktam

(Katzung, 1995)

Secara umum, sefalosporin terdiri dari beberapa kelas yang berbeda dengan spektrum, aktivitas dan farmakokinetik yang tidak sama. Cara kerja obat-obatan sefalosporin analog dengan penisilin, dimana obat ini 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).

a. Ampisilin

Antibiotika seperti ampicilin dan beta-laktam lainnya sangat efektif terhadap *Staphylococci* dan dipakai sebagai obat pilihan melawan infeksi (Effendi, 2008). Ampicilin 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. Ampicilin dapat berupa ampicilin anhidrat, ampicilin sodium dan ampicilin trihidrat (Plumb, 2005). Masih serupa dengan natural penisilin seperti penisilin G, ampicilin 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-staphylococcal 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, 1995).

e. Antibiotik beta-laktam lainnya

Obat-obatan beta-laktam selain penisilin dan sefalosporin adalah monobaktam, karbapenem serta beta-laktam penghambat beta-laktamase seperti asam kavulanat (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).

2.1.2. Resistensi Antibiotik

Perkembangan dari resistensi antibiotik disebabkan oleh 2 hal yaitu penggunaan antibiotika yang berlebihan dan adanya gen resisten (Effendi, 2008). Resistensi ini dapat diperoleh baik secara genetik maupun non genetik (Katzung, 1995).

Secara genetik resistensi ini dapat terjadi karena mutasi, baik dalam tingkat kromosom maupun dalam plasmidnya (Quinn *et al.*, 2002). Sedangkan resistensi antibiotik secara non genetik dapat terjadi dikarenakan cara kerja antibiotik itu sendiri. Kerja obat antibiotik tergantung dari replikasi bakteri yang aktif (melakukan pembelahan). Jika bakteri yang secara metabolik tidak aktif, maka organisme tersebut resisten terhadap obat-obatan, namun keturunannya rentan terhadap antibiotik (Katzung, 1995).

Salah satu mekanisme resistensi *Staphylococcus* terhadap antibiotik golongan penisilin adalah produksi dari enzim beta-laktamase oleh bakteri yang dapat menghancurkan cincin beta-laktam. Resistensi ini hanya berlaku pada antibiotika beta-laktam yang tidak resisten terhadap beta-laktamase seperti ampisilin dan amoksisilin. Resistensi terhadap beta-laktam seperti metisilin tidak dikarenakan oleh produksi beta-laktamase, MRSA mendapatkan elemen genetik yang *mobile* yang dinamakan *Staphylococcal Cassette Chromosome mec* atau SCCmec (Cohn and Middleton, 2010).

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

Kasus resistensi terhadap antibiotik yang mayor dikarenakan oleh resistensi bakteri yang didapatkan secara genetik ini ditransferkan dari bakteri yang satu ke bakteri yang lain (Pratt and Taylor, 1990).

2.2. Tinjauan tentang *Staphylococcus*

Staphylococcus adalah bakteri Gram positif berbentuk *cocci* atau *coccus* yang mempunyai diameter 0.5 sampai 1.5 μm dimana bakteri ini biasanya bergerombol secara tidak teratur menyerupai struktur anggur dalam rantai sendiri, berpasangan dua atau bahkan empat (Gyles *et al.*, 2004).

Koloni dari bakteri ini biasanya berwarna putih, *opaque* dan berdiameter sampai 4 mm. Strain *Staphylococcus aureus* yang terdapat pada sapi dan manusia mempunyai pigmen yang berwarna kuning keemasan (Quinn *et al.*, 2002).

Bakteri ini tidak membentuk spora serta tidak bergerak (non motil). Beberapa spesies *Staphylococcus* seperti *S. hyicus*, *S. aureus* dan *S. intermedius* telah ditetapkan sebagai bakteri patogen mayor pada hewan (Gyles *et al.*, 2004). *S. intermedius* merupakan bakteri koagulase positif spesifik yang terdapat pada kulit, mukosa serta infeksi serius pada anjing. Sedangkan *S. hyicus* merupakan bakteri patogen pada babi yang bertanggung jawab terhadap penyakit eksudatif epidermitis. Beberapa dari *Staphylococcus* yang patogen ini dapat memproduksi enzim yang dinamakan enzim koagulase dan enzim ini dapat dideteksi untuk menentukan jenis *Staphylococcus* yang diisolasi (Winn *et al.*, 2006).

Berikut merupakan taksonomi dari *Staphylococcus sp.*

Kingdom : Bacteria
Phylum : Firmicutes
Class : Bacilli
Ordo : Bacillales
Family : Staphylococcaceae
Genus : *Staphylococcus*
Species : *Staphylococcus sp*

(Garrity *et al.*, 2003)

Secara genotip, terdapat standar minimal bakteri bisa diklasifikasikan sebagai *Staphylococcus*, yaitu mempunyai guanin dan sitosin 30-39 mol %. Kriteria lainnya merujuk pada spesies bakteri yang belum diketahui didasarkan pada konstruksi pohon filogenetik yang dibandingkan dengan 16S rRNA atau 23S rRNA (Gyles *et al.*, 2004).

Sedangkan secara fenotip, dapat dilakukan 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.*, 1999).

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

Uji koagulase juga dapat membedakan *Staphylococcus* dimana beberapa *Staphylococcus*, seperti *S. aureus* dan *S. intermedius* merupakan koagulase positif (+), sedangkan koagulase negatif *Staphylococcus* merupakan ciri-ciri pada *S. epidermidis*, *S. haemolyticus* dan *S. schleiferi subs. schleiferi* (Winn *et al.*, 2006).

Staphylococcus membawa banyak faktor virulensi yang menyertainya. Faktor ini dapat dikelompokkan menjadi eksoenzim, eksotoksin dan komponen sel. Komponen sel seperti protein A, peptidoglycan, asam teikoid dan adhesin merupakan faktor virulensi yang berkaitan dengan

infeksi staphylococcal terhadap inang. *Staphylococcus* juga mengeluarkan eksotoksin seperti haemolisin, dan enterotoksin. Enterotoksin didalam tubuh dapat menyebabkan diare serta vomit. Beberapa eksoenzim yang diproduksi oleh *Staphylococcus* adalah lipase, hyaluronidase, dan koagulase (Gyles *et al.*, 2004).

2.3. Transfer resistensi Antibiotik pada *Staphylococcus*

Metisilin resisten pada strain *Staphylococcus* dapat ditransferkan melalui elemen dari *Staphylococcal Cassette Chromosome* (SCC) yang mempunyai gen *mecA* (SCC*mec*). SCC*mec* dapat dibedakan menjadi beberapa tipe. Tipe I sampai tipe III terkandung dalam MRSA yang diidentikan dengan infeksi *nosocomial* atau *health care associated* (HA-MRSA). Tipe IV dan tipe V terkandung dalam MRSA yang didapatkan di masyarakat atau community-MRSA (CA-MRSA) (Rachal *et al.*, 2009).

Permasalahannya adalah metisilin-resisten dari *Staphylococcus intermedius* dan *Staphylococcus pseudointermedius* telah berkembang di klinik hewan seluruh dunia, tetapi evolusi dan perkembangannya belum dipelajari (Bannoehr *et al.*, 2007).

Transfer resistensi antibiotik antar strain *Staphylococcus* dalam percobaan laboratorium bisa terjadi via transformasi, transduksi, dan konjugasi, namun hanya konjugasi yang tampak secara signifikan secara *in vivo* (Effendi, 2008).

Rachal *et al.* (2009), melaporkan bahwa mereka telah mengisolasi metisilin-resisten *Staphylococcus* pada hewan peliharaan yang sehat. Isolat ini mempunyai karakteristik sama dengan strain MRSA yang terdapat pada manusia yang dimungkinkan telah terjadi transfer resistensi.

Bannoehr *et al.* (2007), menemukan bahwa kemunculan strain metisilin-resisten pada *Staphylococcus* belakangan ini adalah akibat dari didapatkannya gen *mecA* oleh *Staphylococcus* yang berbeda bahkan pada benua yang berbeda pula. Penelitian lain menunjukkan bahwa terdapat *multi-drug resistance* pada minimal 3 kelas antibiotik yang ditunjukkan pada 58.8% isolat dari 119 sampel di rumah sakit hewan pendidikan di Korea. 41% dari 119 resisten terhadap oksasilin dan diantaranya 11 strain membawa gen *mecA* (Youn *et al.*, 2010).

BAB 3 MATERI DAN METODE

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei 2010 sampai bulan Juli 2010. Penelitian ini bertempat di eks Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Departemen Mikrobiologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Surabaya.

3.2. Materi, Bahan dan Alat Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan mengkoleksi 4 spesimen yang diambil dari luka terbuka pada kulit anjing di daerah Surabaya dengan dilakukan swab pada luka tersebut. Swab yang dilakukan pada kulit menggunakan *cotton butt* steril. Hasil swab tersebut kemudian ditumbuhkan pada media MSA. Kriteria anjing yang dipakai sebagai sumber isolat adalah terdapat luka terbuka pada kulitnya. Kriteria spesimen yang dapat dipakai dalam penelitian, yaitu bakteri yang tumbuh pada media penanamannya (MSA) harus terdapat yang 2 jenis yaitu yang memfermentasi manitol dan yang tidak memfermentasi manitol.

Bahan penelitian menggunakan media *Manitol Salt Agar (MSA)*, *Mueller-Hinton Agar (MHA)*, *Brain Heart Infusion broth (BHI broth)*, *McFarland no.1*, plasma kelinci, larutan H₂O₂, kristal violet, lugol, alkohol 95% dan safranin.

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah meliputi *cotton butt* steril, cawan Petri, tabung reaksi, tabung reaksi bertutup, ose, pipet, *object glass*, *cover glass*, autoklaf, antibiotik disc beta-laktam, inkubator, *refrigerator*, *centrifuge*, pembakar bunsen, *spatel*, pinset dan penggaris.

3.3. Metode Penelitian

3.3.1. Prosedur Isolasi Staphylococcus

Isolasi bakteri didapatkan dengan melakukan swab dari luka terbuka pada kulit anjing yang kemudian dibiakkan pada media MSA sehingga yang tumbuh hanya bakteri Staphylococcus saja. Jika spesimen yang didapatkan terletak jauh dari laboratorium, *cotton swab* dimasukkan kedalam tabung reaksi bertutup yang berisi aquadest steril. Tabung reaksi ini dimasukkan ke dalam *container* berisi es. Jika diperlukan, spesimen bisa disimpan pada pendingin bersuhu 4⁰C. Inkubasi bakteri pada media MSA dilakukan selama 24 jam pada 37⁰C.

Selanjutnya setiap bakteri ini akan dimurnikan. Koloni yang memfermentasi manitol akan mengubah warna agar dari merah menjadi kuning sedangkan yang tidak memfermentasi manitol tidak mengubah warna agar. Isolat bakteri tersebut dimurnikan dengan menggunakan media MSA kembali dan diinkubasi kembali selama 24 jam pada 37⁰C sehingga setiap spesimen dari 1 anjing yang didapatkan, ditumbuhkan 2 spesies bakteri hasil pemurnian yang berbeda.

Setiap hasil pemurnian ini kemudian dilakukan pengamatan mikroskopis, uji katalase, koagulase dan uji resistensi antibiotik dengan metode *disk diffusion method* dari Kirby Bauer menggunakan antibiotik beta-laktam.

3.3.2. Uji Resistensi Antibiotik

Uji resistensi ini dimulai dengan menanam bakteri hasil pemurnian ke dalam BHI broth yang diinkubasi pada 37⁰C selama kurang lebih 4 jam sampai kekeruhan BHI broth menyamai kekeruhannya *McFarland* no.1. Setelah kekeruhan pada BHI broth menyamai kekeruhan standart, diambil 0.2 ml dari BHI broth dengan pipet steril dan dicampurkan pada media MHA lalu diratakan dengan *spatel*.

Uji resistensi antibiotik yang digunakan menggunakan *Disc Diffusion Method* dari Kirby Bauer, dimana cara ini merupakan metode *in vitro*. Bakteri yang sudah dicampurkan pada MHA kemudian diberi antibiotik disk sebanyak 4 disc per plate. Disk yang digunakan adalah Ampisilin 20 µg, Amoksisilin 30 µg, Metisilin 5 µg, Kloksasilin 5 µg. MHA ini kemudian di inkubasikan pada 37⁰C selama 24 jam. Pengukuran resistensi adalah dengan mengukur diameter zona inhibisinya dalam milimeter (Quinn *et al.*, 2002).

Pengukuran zona inhibisi *Staphylococcus* untuk oksasilin/metisilin menurut Lalitha (2004) adalah >13 mm untuk sensitif, 11-12 mm untuk intermediet dan <10 mm untuk resisten. Untuk golongan

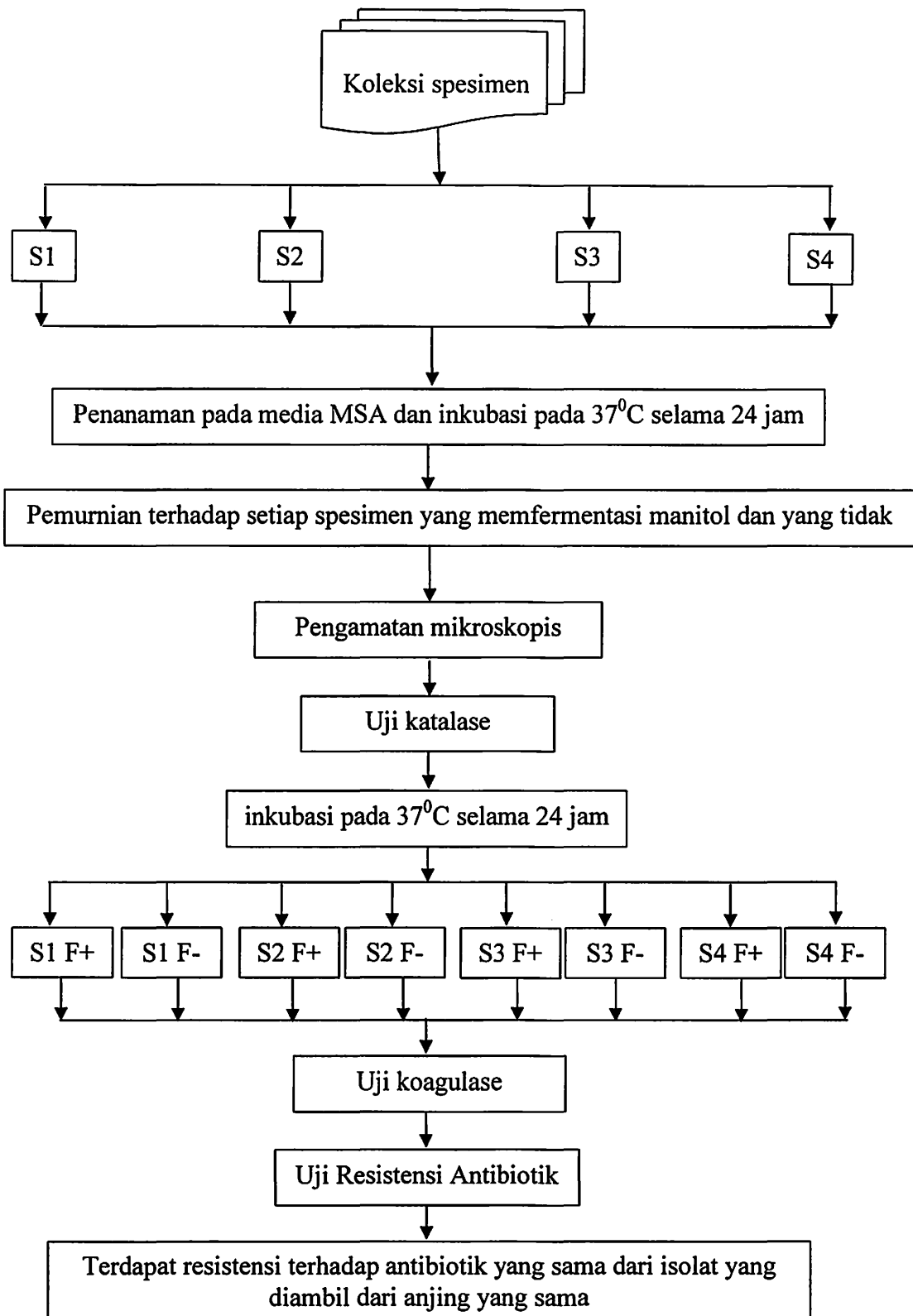
ampisilin adalah >17mm untuk sensitif, 15-17 mm untuk intermediet dan <15 mm resisten (Wilkins *et al.*, 1972).

3.3.3. Pembacaan Transfer Resistensi Antibiotik Horizontal

Pembacaan transfer resistensi antibiotik horizontal menggunakan komparasi dari zona inhibisi antibiotik dari masing-masing *Staphylococcus* yang diisolasi dari tempat yang sama. Transfer resistensi antibiotik horizontal yang terjadi akan ditunjukkan dengan pola dimana kedua *Staphylococcus* dari isolat yang sama mengalami resistensi terhadap antibiotik yang sama yang diujikan (Effendi, 2008).

3.4. Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan studi eksploratif dan dalam pelaksanaannya, pengambilan spesimen ditujukan pada anjing dengan kriteria mempunyai luka terbuka pada kulitnya. Isolat bakteri yang ditumbuhkan harus terdapat 2 jenis, yang memfermentasi manitol dan yang tidak.



Gambar 3.1. Kerangka konseptual Penelitian

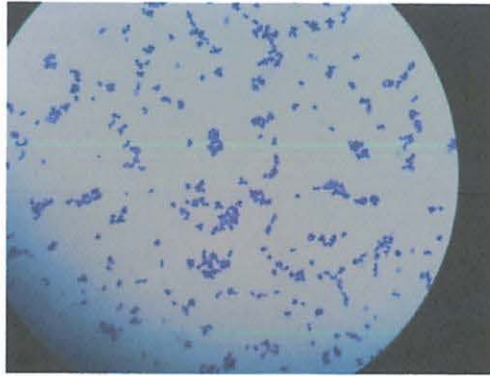
BAB 4 HASIL PENELITIAN

4.1. Hasil Koleksi Spesimen

Spesimen (Sp) didapatkan dari 4 ekor anjing di daerah Surabaya yang mempunyai luka terbuka pada kulitnya. Spesimen yang diambil dari kulit anjing ini memenuhi syarat sebagai spesimen penelitian. Dari keempat spesimen yang ditumbuhkan pada media MSA ini, tumbuh bakteri yang memfermentasi manitol dan tidak, yang kemudian setiap spesimen dimurnikan hingga didapatkan 8 isolat spesimen, yaitu 4 yang memfermentasi manitol (F+) dan 4 yang tidak (F-). Keempat spesimen yang didapatkan diperoleh dari 4 tempat yang berbeda. Sp₁ diisolasi dari pasien Rumah Sakit Hewan yang berumur 7 tahun, sedangkan spesimen lainnya berasal dari luar rumah sakit. Sp₂ dan Sp₄ berasal dari anjing rumahan yang mengalami pyoderma. Sp₃ diisolasi dari anjing yang dijual ditepi jalan.

4.2. Hasil Pemeriksaan Mikroskop

Bakteri yang ditumbuhkan dari kedelapan spesimen ini diamati secara mikroskopik dan diberi pewarnaan Gram. Hasil pemeriksaan mikroskopisnya menunjukkan bahwa semuanya adalah bakteri Gram positif dan berbentuk bulat (*coccus*). Beberapa dari bakteri ini terlihat bergerombol tetapi ada bakteri yang terlihat sendiri-sendiri (lihat gambar 4.1.).



Gambar 4.1. Hasil Pemeriksaan Mikroskopik dengan Pewarnaan Gram
Perbesaran : 1000X

4.3. Hasil Uji Katalase dan Koagulase

Uji katalase digunakan untuk mengkonfirmasi bakteri hasil isolasi apakah bakteri ini termasuk genus *Staphylococcus* atau *Streptococcus*. Hasil uji katalase mengkonfirmasi bahwa semua spesimen adalah bakteri katalase positif sehingga semua spesimen penelitian adalah positif bakteri *Staphylococcus*.

Hasil dari uji koagulase yang dilakukan terhadap 8 spesimen ditunjukkan dengan tabel berikut:

Tabel 4.1. Hasil uji koagulase terhadap 8 spesimen yang diinkubasi pada 37°C selama 24 jam.

Spesimen	Uji Koagulase
Sp ₁ F+	+
Sp ₁ F-	+
Sp ₂ F+	+
Sp ₂ F-	+
Sp ₃ F+	+
Sp ₃ F-	+
Sp ₄ F+	+
Sp ₄ F-	-

Sp, spesimen; F(+), Fermentasi positif manitol; F(-), Fermentasi negatif manitol



Gambar 4.2. Hasil Uji Koagulase

4.4. Hasil Uji Resistensi Antibiotik

Uji resistensi antibiotik dilakukan pada 8 spesimen yang terdiri dari, spesimen 1 yang memfermentasi manitol (Sp_1 F+), spesimen 1 yang tidak memfermentasi manitol (Sp_1 F-) dan seterusnya sampai spesimen 4 yang tidak memfermentasi manitol (Sp_4 F-). Hasil pengukuran zona inhibisi dari uji resistensi antibiotik dapat dilihat pada tabel berikut ini :

Tabel 4.2. Hasil pengukuran zona inhibisi pada uji resistensi antibiotik terhadap spesimen dengan media MHA dan inkubasi pada $37^{\circ}C$ selama 24 jam

Antibiotik	Spesimen isolasi							
	Sp_1 F+	Sp_1 F-	Sp_2 F+	Sp_2 F-	Sp_3 F+	Sp_3 F-	Sp_4 F+	Sp_4 F-
metisilin	7 (R)	10 (R)	15 (S)	25 (S)	16 (S)	22 (S)	Sensitif	
kloksasilin	10 (R)	14 (S)	25 (S)	30 (S)	21 (S)	23 (S)		
ampisilin	12 (R)	18 (S)	23 (S)	15 (I)	28 (S)	17 (S)		
amoksisilin	12 (R)	16 (I)	30 (S)	15 (I)	30 (S)	19 (S)		

Keterangan :

R : Resisten

I : Intermediet

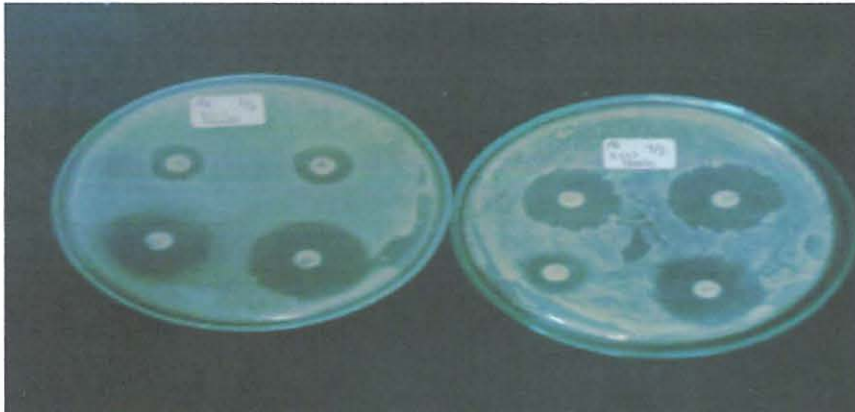
S : Sensitif

Satuan hitung dalam milimeter (mm)

Sp, Spesimen; F(+), Fermentasi positif manitol; F(-), Fermentasi negatif manitol



Gambar 4.3. Hasil Uji Resistensi Antibiotik Sp_1 , *plate* di sebelah kiri merupakan Sp_1 F+ dan *plate* di sebelah kanan adalah Sp_1 F-



Gambar 4.4. Hasil Uji Resistensi Antibiotik Sp_2 , *Plate* di sebelah kiri merupakan Sp_2 F+ dan *plate* di sebelah kanan adalah Sp_2 F-



Gambar 4.5. Hasil Uji Resistensi Antibiotik Sp_3 , *Plate* di sebelah kiri merupakan Sp_3 F+ dan *plate* di sebelah kanan adalah Sp_3 F-



Gambar 4.6. Hasil Uji Resistensi Antibiotik Sp₄, *Plate* di sebelah kiri merupakan Sp₄ F⁺ dan *plate* di sebelah kanan adalah Sp₄ F⁻

Hasil pengukuran zona inhibisi pada Sp₁, Sp₂, Sp₃, dan Sp₄ menunjukkan tingkat resistensi antibiotik yang berbeda pada setiap isolat bakteri. Pada Sp₁ F⁺ menunjukkan resistensi terhadap ampisilin, amoksisilin, metisilin dan kloksasilin. Sp₁ F⁻ menunjukkan resistensi terhadap metisilin, sensitif terhadap ampisilin dan kloksasilin dan intermediet terhadap amoksisilin. Sp₂ F⁺, Sp₃ F⁺, dan Sp₃ F⁻ masih menunjukkan sensitifitasnya terhadap antibiotik beta-laktam penelitian, sedangkan Sp₂ F⁻ menunjukkan sensitifitas terhadap metisilin dan kloksasilin tetapi intermediet pada amoksisilin dan ampisilin. Pengukuran zona inhibisi pada Sp₄ baik F⁺ maupun F⁻, tidak bisa dilakukan karena zona inhibisi Sp₄ terlalu besar dan bertabrakan antar antibiotik beta-laktam penelitian.

BAB 5 PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan terjadinya transfer resistensi antibiotik secara horizontal antar bakteri *Staphylococcus* dalam satu sistem luka (*niche*). Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan komparasi dari zona inhibisi pada uji resistensi antibiotik spesimen dari masing-masing swab.

Uji resistensi antibiotik mempunyai fungsi, terutama dalam pemilihan pengobatan antimikrobal serta untuk memonitor resistensi antimikrobal (Effendi, 2008). Bakteri bisa mendapatkan resistensi antibiotik dari bakteri lainnya. Mekanisme inilah yang paling bertanggung jawab terhadap resistensi antibiotik terhadap bakteri (Plumb, 2005).

Uji koagulase yang dilakukan pada keempat spesimen menunjukkan bahwa sebagian besar spesimen (Sp₁ F+ & F-, Sp₂ F+ & F-, Sp₃ F+ & F-, dan Sp₄ F+) mengkoagulase plasma kelinci. Spesimen yang memfermentasi manitol diduga kuat merupakan *Staphylococcus aureus* karena uji koagulase merupakan salah satu pembeda antara *Staphylococcus aureus* dengan *Staphylococcus* lainnya (Mahoudeau *et al.*, 1997). Bakteri yang tidak memfermentasi manitol diduga sebagai *Staphylococcus intermedius*.

Hasil uji resistensi pada spesimen isolat mengindikasikan bahwa dalam spesimen no. 1 (Sp₁) diduga terjadi transfer resistensi antibiotik metisilin antar bakteri *Staphylococcus*. Metisilin resisten yang terjadi pada Sp₁ belum bisa disebut MRSA (Metisilin-resisten *Staphylococcus aureus*) ataupun MRSI (Metisilin-resisten *Staphylococcus intermedius*) karena diperlukan tes PCR

(*Polymerase chain reaction*) untuk mengkonfirmasi adanya gen *mecA* yang menegaskan bahwa bakteri isolasi adalah MRSA ataupun MRSI (Loeffler *et al.*, 2005). Pada Sp₁ yang memfermentasi manitol telah terjadi resistensi antibiotik terhadap ketiga antibiotik lainnya yaitu ampisilin, amoksisilin dan kloksasilin, hanya saja tidak terlihat adanya transfer resistensi antibiotik.

Menurut Hansen *et al.* (2004), metisilin resisten pada *Staphylococcus* disebabkan oleh adanya ekspresi dari PBP2a (PBP2') yang di *encode* oleh gen *mecA*. PBP2a ini mempunyai afinitas yang rendah terhadap metisilin tetapi tetap mempunyai fungsi PBPs dari hostnya (Stapleton and Taylor, 2002). Metisilin resisten pada strain *Staphylococcus* dapat ditransferkan melalui elemen dari *Staphylococcal Cassette Chromosome* (SCC) yang mempunyai gen *mecA* (SCC*mec*) (Rachal *et al.*, 2009). Gen ini juga dapat dideteksi pada *Staphylococcus intermedius*. Transfer gen *mecA* yang telah dilaporkan terjadi dari *Staphylococcus koagulase positif* ke *Staphylococcus aureus* (Hanssen *et al.*, 2004).

Metisilin sebenarnya hampir tidak pernah digunakan pada pengobatan infeksi pada hewan di Surabaya. Resistensi terhadap metisilin yang terjadi kemungkinan didapatkan dari resistensi metisilin yang terjadi pada manusia. Penggunaan metisilin yang jarang pada hewan serta penyebaran resistensi terhadap metisilin (MRSA dan MRSI) di seluruh dunia yang sangat cepat merupakan masalah yang sangat mendesak untuk dipecahkan.

Ketiga spesimen lainnya (Sp₂, Sp₃, dan Sp₄) tidak menunjukkan adanya resistensi terhadap antibiotika beta-laktam percobaan. Sp₂ F- mempunyai pola intermediet terhadap ampisilin dan amoksisilin, tetapi sensitiv terhadap metisilin

dan kloksasilin. Hal ini bisa disebabkan karena bakteri pada Sp₂ F- tersebut mulai memproduksi enzim beta-laktamase yang menimbulkan hasil uji resistensi antibiotik ampisilin dan amoksisilin mengarah ke resisten (intermediet). Beta-laktamase menghidrolisis cincin beta-laktam pada penisilin yang sensitiv terhadap beta-laktamase seperti ampisilin dan amoksisilin (Fuda *et al.*, 2005). Transfer resistensi antibiotik beta-laktam tidak bisa dibicarakan lebih jauh pada Sp₂, Sp₃, dan Sp₄ karena tidak adanya resistensi dari spesimen diatas.

Kemungkinan transfer resistensi yang terjadi hanya terlihat pada antibiotik metisilin, hal ini sangat dimungkinkan karena SCC_{mec} merupakan elemen yang sangat mudah ditransferkan, sehingga tidak diperlukan paparan yang berlebihan terhadap metisilin untuk menjadikan bakteri terutama *Staphylococcus* untuk resisten terhadap metisilin. Hal ini menjadi masalah yang sangat mendesak, terutama karena beberapa *Staphylococcus* merupakan bakteri patogen major penyebab infeksi pada beberapa macam penyakit, yaitu *S. aureus* yang merupakan bakteri patogen pada manusia yang menyebabkan infeksi *nosocomial* (Berger-Bächi and Rohrer, 2002). *S. intermedius* penyebab pyoderma pada anjing. *S. hyicus* penyebab epidermitis eksudatif pada babi serta *Staphylooccus aureus* yang merupakan penyebab mastitis pada sapi (Quinn *et al.*, 2002).

Keempat spesimen yang didapatkan diperoleh dari 4 tempat yang berbeda. Spesimen Sp₁ diisolasi dari pasien Rumah Sakit Hewan yang berumur 7 tahun, sedangkan spesimen lainnya berasal dari luar rumah sakit. Sp₂ dan Sp₄ berasal dari anjing rumahan yang mengalami pyoderma. Sp₃ diisolasi dari anjing yang dijual ditepi jalan. Dari segi umur, anjing pertama dan ketiga anjing lainnya

mempunyai perbedaan yang mendasar. Anjing kedua dan anjing ketiga berumur kurang lebih 1 tahun, sedangkan anjing keempat berumur 1.5 tahun. Anjing pertama berumur 7 tahun dan tercatat sebagai pasien Rumah Sakit Hewan.

Menurut Effendi (2008), antibiotika beta-laktam seperti penisilin, ampicilin dan sefalosporin sangat efektif terhadap *Staphylococcus* dan biasanya selalu dipakai. Tetapi dengan adanya resistensi antibiotika dan transfer resistensi antibiotika beta-laktam yang terjadi, penggunaan antibiotika harus benar-benar diperhatikan. Resistensi terhadap beta-laktam yang terjadi bisa disebabkan karena *Staphylococcus* hasil isolasi menghasilkan beta-laktamase yang memecah cincin beta-laktam (Katzung, 1995). Ataupun adanya ekspresi dari PBP2a yang mempunyai afinitas rendah terhadap metisilin maupun beta-laktam lainnya (Fuda *et al.*, 2005).

Antibiotika beta-laktam dalam penelitian sebenarnya masih cukup efektif untuk mengobati infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus*, dimana hal ini ditunjukkan oleh Sp₂, Sp₃, dan Sp₄. Ketiga spesimen tersebut menunjukkan sensitivitas terhadap antibiotika beta-laktam, kecuali Sp₂ F(-) yang menunjukkan hasil intermediet pada uji sensitivitas ampicilin dan amoksisilin.

Pembahasan secara keseluruhan dari penelitian ini adalah bahwa antibiotika beta-laktam masih bisa sebagai pilihan utama pengobatan infeksi *Staphylococcus*, tetapi perlu diwaspadai adanya resistensi dan transfer resistensi antibiotik yang terjadi pada bakteri. Hasil penelitian menunjukkan adanya kesamaan resistensi terhadap metisilin pada spesimen pertama (Sp₁) dan diduga adanya transfer resistensi antibiotik yang terjadi adalah pada metisilin.

BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Beberapa spesimen yang resisten terhadap beta-laktam yang digunakan pada penelitian adalah sebagai berikut:

Sp₁ F⁺ resisten terhadap antibiotik ampisilin, amoksisilin, metisilin, dan kloksasilin. Sp₁ F⁻ resisten terhadap antibiotik metisilin dan sensitif terhadap ampisilin, amoksisilin dan kloksasilin. Sp₂ F⁺, Sp₃, dan Sp₄ sensitif terhadap antibiotik ampisilin, amoksisilin, metisilin, dan kloksasilin. Sp₂ F⁻, menunjukkan pola intermediet pada ampisilin dan amoksisilin, serta sensitif terhadap metisilin dan kloksasilin.

2. Diduga terdapat transfer horizontal resistensi antibiotik metisilin pada salah satu spesimen.

6.2. SARAN

Berdasarkan hasil penelitian, maka saran yang diajukan adalah sebagai berikut :

1. Hindari pemakaian antibiotika berlebihan yang dapat menimbulkan resistensi antibiotik.

2. Untuk memperoleh keakuratan data transfer resistensi antibiotik terhadap MRSA, sebaiknya dilakukan penelitian dengan lebih mendalam dengan pengujian gen *mecA* untuk mengkonfirmasi MRSA.

RINGKASAN

Christoforus. Pembuktian Transfer Resistensi Horizontal Melalui Uji Sensitifitas Antibiotik Beta-Laktam antar Bakteri *Staphylococcus spp.* dari Kulit Anjing yang Luka. Di bawah bimbingan Prof. Dr. Bambang Sektiari L., drh., DEA. selaku pembimbing pertama dan Widya Paramita L., drh., MP. selaku pembimbing kedua.

Antibiotik beta-laktam khususnya penisilin adalah salah satu antibiotik dengan penggunaan terluas di dunia dan bertanggung jawab terhadap beberapa akibat penyalahgunaan antibiotik yang paling drastis. Penggunaannya terutama metisilin dan *oxacillin* bahkan ditujukan khusus untuk mengobati bakteri kokus Gram positif yang memproduksi penisilinase terutama spesies *Staphylococcus*. Beberapa dari *Staphylococcus* yang telah diisolasi, resisten terhadap metisilin yang disebut Metisilin-resisten *Staphylococcus aureus* (MRSA).

Resistensi terhadap metisilin dapat ditransferkan secara horizontal melalui elemen *Staphylococcal Cassette Chromosome* (SCC) yang mengandung gen *mecA*. Adanya kemungkinannya terjadi transfer resistensi antibiotik pada *Staphylococcus*, mendasari dilakukannya penelitian ini. Penelitian ini dilaksanakan untuk mengetahui adanya transfer resistensi antibiotik pada *Staphylococcus* hasil isolasi, dimana hasil penelitian ini bersifat eksploratif.

Penelitian ini dilakukan dengan mengkoleksi 4 spesimen yang diambil dari luka terbuka pada kulit anjing di daerah Surabaya dengan dilakukan swab pada luka tersebut. Kriteria anjing yang dipakai sebagai sumber isolat adalah terdapat luka terbuka pada kulitnya. Kriteria spesimen yang dapat dipakai dalam penelitian

yaitu bakteri yang tumbuh pada media penanamannya (MSA) harus terdapat yang 2 jenis yaitu yang memfermentasi manitol dan yang tidak memfermentasi manitol. Pemeriksaan pada *Staphylococcus* hasil isolasi meliputi pengamatan mikroskopis, uji katalase, uji koagulase dan untuk mengamati adanya transfer resistensi antibiotik dilakukan uji sensitifitas antibiotik menggunakan metode *disc diffusion method* dari Kirby Bauer menggunakan antibiotik beta-laktam.

Hasil penelitian menunjukkan adanya resistensi terhadap metisilin pada isolat bakteri yang sama pada salah satu spesimen penelitian. Dari hal ini dapat disimpulkan diduga terdapat transfer resistensi horizontal antibiotik metisilin pada salah satu spesimen.

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 into *agr* Diversification and the Emergence of Methicillin-Resistant Strains. *J. of Bacteriology*. Vol 189 No 23. p. 8685–8692.
- Berger-Bächi, B and S. Rohrer. 2002. Factors influencing methicillin resistance in staphylococci. *Arch Microbiol*. 178 :165–171.
- Cohn, R.A. and J.R. Middleton. 2010. A veterinary perspective on methicillin-resistant staphylococci. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 20(1). p 31–45.
- Effendi, M.H. 2008. Pembuktian *Horizontal Transfer Of Resistance Genes* Melalui Uji Sensitifitas Antibiotika 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. Kloos, 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 *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* Second edition.

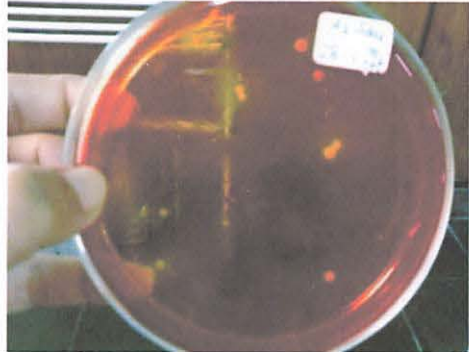
- Gross, T.L., P.J. Lhrke, E.J. Walder and V.K. Affolter. 2005. *Skin Diseases of The Dog and Cat Clinical and Histopathologic Diagnosis Second Edition*. Denmark. Blackwell Publishing.
- Guardabassi, L., M.E. Loeber and A. Jacobson. 2004. Transmission of Multiple Antimicrobial-Resistant *Staphylococcus intermedius* between Dogs Affected by Deep Pyoderma and Their Owners. *Veterinary Microbiology*. 98, 23-27
- Gyles, C. L., J.F. Prescott, J.G. Songer and C.O. Thoen. 2004. *Pathogenesis of Bacterial Infections in Animal*. Blackwell Publishing. Iowa
- Hajek, V. 1976. *Staphylococcus intermedius, a New Species Isolated from Animals*. *International Journal of Systematic Bacteriology*. Vol. 26 no.4 p 401-408.
- Hanssen, A-M., G. Kjeldsen and J.U.E. Sollid. 2004. Local Variants of Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* in Sporadic Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* and Methicillin-Resistant Coagulase-Negative Staphylococci: Evidence of Horizontal Gene Transfer? *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. Vol. 48, No. 1, p. 285-296.
- Hoekstra, K.A. and R.J.L. Paulton. 2002. Clinical Prevalence and Antimicrobial Susceptibility of *Staphylococcus aureus* and *Staph. intermedius* in Dogs. *Journal of Applied Microbiology*. 93, 406-413.
- Joshi, N.V., and V.S.R. Rao. 1982. Theoretical Studies on β -lactam Antibiotics VI: Conformational Analysis and Structure-Activity relationships of Penicillin Sulfoxides and Cephalosporin. *J.Biosci*. Vol. 4. No.2. pp 209-218.
- 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.
- Loeffler, A., A.K. Boag, J. Sung, 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. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 56, 692-697.
- Mahoudeau, I., X. Delabranche, G. Prevost, Henrimonteil and Y. Piemont. 1997. Frequency of Isolation of *Staphylococcus intermedius* from Humans. *Journal of Clinical Microbiology*. Vol. 35. No 8, p 2153-2154.

- Patel, Anita and Peter Forsythe. 2008. *Small Animal Dermatology*. China. Saunders Elsevier.
- Plumb, D.C. 2005. *Plumb's Veterinary Drug Handbook 5th Edition*. Iowa. Blackwell Publishing.
- Pottumarthy, S. J.M. Schapiro, J.L. Prentice, Y.B. Houze, S.R. Swanzy, F.C. Fang and B.T. Cookson. 2004. Clinical Isolates of *Staphylococcus intermedius* Masquerading as Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal Of Clinical Microbiology*. Vol. 42, No. 12 p. 5881–5884.
- Pratt, W.B. and P. Taylor. 1990. *Principles of Drug Action the Basis of Pharmacology Third Edition*. Philadelphia. Churchill Livingstone.
- Quinn, P.J., B.K. Marley, M.E. Carter, W.J. Donnelly and F.C. Leonard. 2002. *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. Blackwell Science. Dublin.
- Rachal, T., K. Leonard, L. Martinez, J.G. Breaux, A. Corbin and R. Nathaniel. 2009. Prevalence of SCC_{mec} types in methicillin resistant *Staphylococcus intermedius* in healthy pets from Southeastern United States. *Journal of Infectious Diseases and Immunity*. Vol. 1, pp. 006-010
- Stapleton, P.D. and P.W. Taylor. 2002. Methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*: mechanisms and modulation. *Sci Prog*. 85(Pt 1): 57–72.
- Talan, D.A., D. Staats, A. Staats, E.J.C. Goldstein, K. Singer and G.D. Overturf. 1989. *Staphylococcus intermedius* in Canine Gingiva and Canine-Inflicted Human Wound Infection: Laboratory Characterization of a Newly Recognized Zoonotic Pathogen. *Journal of Clinical Microbiology*. Vol. 27, No. 1. p. 78-81.
- 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.
- 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
- 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 animals, staff and the environment in animal hospitals in Korea. *J Microbiol Biotechnol*. 20(2):425-32

Lampiran 1. Foto Penelitian



Swab dari kulit anjing



Media MSA dengan bakteri Isolasi



Pemurnian bakteri hasil isolasi



Persiapan Uji Resistensi