

**KARYA AKHIR**

**PENGARUH VANKOMISIN DALAM ERADIKASI BIOFILM  
*METHICILLIN-RESISTANT STAPHYLOCOCCUS AUREUS*  
(MRSA) TERHADAP KEMUNCULAN *HETEROGENOUS*  
*VANCOMYCIN INTERMEDIATE STAPHYLOCOCCUS*  
*AUREUS/VANCOMYCIN INTERMEDIATE STAPHYLOCOCCUS*  
*AUREUS* (hVISA/VISA)**



Oleh:

Erizka Rivani  
NIM: 011828226301

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1  
PROGRAM STUDI MIKROBIOLOGI KLINIK  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA  
RSUD DR. SOETOMO SURABAYA  
2022**

**PENELITIAN KARYA AKHIR**

**PENGARUH VANKOMISIN DALAM ERADIKASI BIOFILM  
*METHICILLIN-RESISTANT STAPHYLOCOCCUS AUREUS*  
(MRSA) TERHADAP KEMUNCULAN *HETEROGENOUS*  
*VANCOMYCIN INTERMEDIATE STAPHYLOCOCCUS*  
*AUREUS/VANCOMYCIN INTERMEDIATE STAPHYLOCOCCUS*  
*AUREUS* (hVISA/VISA)**

**Oleh:**

**ERIZKA RIVANI**  
**NIM 011828226301**

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1  
PROGRAM STUDI MIKROBIOLOGI KLINIK  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA  
RSUD DR. SOETOMO SURABAYA**

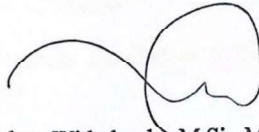
**2022**

ii

**LEMBAR PERSETUJUAN**

PENELITIAN KARYA AKHIR INI TELAH DISETUJUI  
PADA TANGGAL 10 Juni 2022

Oleh :  
Pembimbing Ketua



Dr. Agung Dwi Wahyu Widodo, dr., M.Si., M.Ked.Klin., Sp.MK

NIP. 19750407 200604 1 001

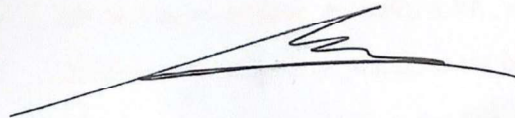
Pembimbing Kedua



Dr. M. Vitanata Arfijanto, dr., Sp.PD., K-PTI., FINASIM

NIP. 19710915 200604 1 001

Mengetahui,  
Koordinator Pendidikan Dokter Spesialis I Mikrobiologi Klinik



Prof. Dr. Ni Made Mertaniasih, dr., MS., Sp.MK (K)

NIP. 19570307 198403 2 001

## HALAMAN PENGESAHAN PANITIA PENGUJI KARYA AKHIR

Penelitian Karya Akhir ini diajukan oleh:

Nama : dr. Erizka Rivani  
NIM : 011828226301  
Program Studi : Program Pendidikan Dokter Spesialis-1 Mikrobiologi Klinik  
Judul : “Pengaruh Vankomisin dalam Eradikasi Biofilm *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) Terhadap Kemunculan *Heterogenous Vancomycin Intermediate Staphylococcus aureus/Vancomycin Intermediate Staphylococcus aureus* (hVISA/VISA)”

Karya Akhir ini telah diuji dan dinilai oleh panitia penguji

Program Pendidikan Dokter Spesialis-1 Mikrobiologi Klinik

Universitas Airlangga Pada tanggal 28 Juni 2022

Panitia penguji:

Ketua : Dr. Agung Dwi Wahyu Widodo, dr., M.Si., M.Ked.Klin., Sp.MK  
Anggota : Dr. M. Vitanata Arfijanto, dr., SpPD., K-PTI., FINASIM  
Lindawati Alimsardjono, dr., M.Kes., Sp.MK (K)  
Pepy Dwi Endraswari, dr., M.Si., M.Ked.Klin., Sp.MK  
Dr. Budi Utomo, dr., M.Kes

## **HALAMAN PENETAPAN PANITIA PENGUJI KARYA AKHIR**

Karya akhir ini telah diuji dan dinilai oleh panitia penguji pada Program  
Pendidikan Dokter Spesialis-1 Mikrobiologi Klinik Fakultas Kedokteran

Universitas Airlangga pada tanggal 28 Juni 2022

Panitia penguji:

Ketua : Dr. Agung Dwi Wahyu Widodo, dr., M.Si., M.Ked.Klin., Sp.MK

Anggota : Dr. M. Vitanata Arfijanto, dr., SpPD., K-PTL, FINASIM

Lindawati Alimsardjono, dr., M.Kes., Sp.MK (K)

Pepy Dwi Endraswari, dr., M.Si., M.Ked.Klin., Sp.MK

Dr. Budi Utomo, dr., M.Kes

Ditetapkan dengan Surat Keputusan

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

Tentang Panitia Penguji Karya Akhir

### HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : dr. Erizka Rivani

NIM 011828226301

Program Studi : Program Pendidikan Dokter Spesialis-1 Mikrobiologi Klinik

Judul : “Pengaruh Vankomisin dalam Eradikasi Biofilm *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) Terhadap Kemunculan *Heterogenous Vancomycin Intermediate Staphylococcus aureus/Vancomycin Intermediate Staphylococcus aureus* (hVISA/VISA)”

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa karya akhir saya ini adalah asli (hasil karya sendiri) dan bukan merupakan hasil peniruan atau penjiplakan (plagiarism) dari karya orang lain.

Karya akhir ini belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik.

Dalam karya akhir ini tidak terdapat pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan disebutkan nama pengarang dan dicantumkan dalam daftar pustaka. Demikian pernyataan ini dibuat tanpa adanya paksaan dari pihak manapun, apabila pernyataan ini tidak benar, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan norma dan peraturan yang berlaku di Universitas Airlangga.

Surabaya, 22 Juni 2022



Erizka Rivani, dr.

## KATA PENGANTAR

*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) merupakan bakteri dengan spektrum penyakit infeksi yang luas dan menunjukkan resistensi antibiotik serta kemampuan produksi biofilm, membuat MRSA menjadi salah satu patogen utama infeksi nosokomial dan infeksi terkait *device*. Pemberian antibiotik utama MRSA yakni vankomisin dalam dosis standar dinyatakan tidak dapat mengeradikasi biofilm. Pemberian dosis tinggi dengan waktu paparan yang panjang diduga lebih efektif dalam eradikasi, namun kekhawatiran akan timbulnya resistensi akibat paparan menjadi salah satu penyebab modalitas terapi antibiotik lokal dosis tinggi belum banyak diterapkan.

Karya akhir ini disusun untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam menyelesaikan Program Pendidikan Dokter Spesialis-1 Mikrobiologi Klinik di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Hasil penelitian diharapkan dapat memberi informasi terkait dosis dan lama paparan vankomisin yang efektif dalam mengeradikasi biofilm serta mengetahui efek paparan terhadap kemunculan isolat dengan penurunan susceptibilitas vankomisin. Peneliti berupaya untuk membuat karya akhir ini dengan baik, namun tentu masih banyak kekurangan dalam isi dan penulisan sehingga saran dan kritik yang bersifat konstruktif akan sangat diharapkan demi perbaikan.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji dan syukur kepada Allah SWT yang telah menganugerahkan kesempatan kepada penulis untuk menyelesaikan karya akhir berjudul “Pengaruh Vankomisin dalam Eradikasi Biofilm *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) Terhadap Kemunculan *Heterogenous Vancomycin Intermediate Staphylococcus aureus*/Vancomycin Intermediate *Staphylococcus aureus* (hVISA/VISA)”.

Penulis menyampaikan terima kasih dan penghargaan kepada Dr. Agung Dwi Wahyu Widodo, dr., M.Si., M.Ked.Klin., Sp.MK selaku pembimbing utama dan Dr. M. Vitanata Arfijanto, dr., Sp.PD., K-PTI., FINASIM selaku pembimbing kedua yang telah meluangkan waktu, memberikan perhatian, bimbingan dan arahan serta motivasi dalam setiap konsultasi dan selama penulis menempuh pendidikan dokter spesialis Mikrobiologi Klinik di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Lindawati Alimsardjono, dr., M.Kes., Sp.MK(K) selaku penguji yang dengan penuh kesabaran memberi bimbingan, nasihat, arahan, dan motivasi selama penulis menempuh pendidikan dokter spesialis Mikrobiologi Klinik di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Pepy Dwi Endraswari, dr., M.Si., M.Ked.Klin., Sp.MK dan Dr. Budi Utomo, dr., M.Kes.yang telah memberikan saran dan ilmu pengetahuan demi perbaikan karya akhir ini.

Penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Rektor Universitas Airlangga Surabaya, Prof. Dr. Mohammad Nasih, MT., SE., AK., CMA., atas kesempatan dan kelancaran administrasi yang diberikan kepada penulis untuk menempuh dan menyelesaikan pendidikan dokter spesialis Mikrobiologi Klinik di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Prof Dr. H. Budi Santoso, dr., SpOG(K), yang memberikan kesempatan beserta fasilitas kepada penulis untuk menempuh dan menyelesaikan dokter spesialis Mikrobiologi Klinik di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Direktur RSUD Dr. Soetomo Surabaya, Dr. Joni Wahyuhadi, dr., Sp.BS(K) dan segenap jajarannya atas segala sarana, prasarana dan izin selama menempuh pendidikan dokter spesialis Mikrobiologi Klinik. Para dosen dan staf pengajar Pendidikan Dokter Spesialis-1 Mikrobiologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang tidak dapat disebutkan namanya satu persatu, atas bimbingan dan ilmu pengetahuan yang diberikan kepada penulis selama menempuh pendidikan.

Dr. Eko Budi Koendhori, dr., M.Kes., Sp.MK, selaku ketua Departemen/SMF Mikrobiologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/ RSUD Dr. Soetomo dan Prof. Dr. dr. Ni Made Mertaniasih, MS., Sp.MK (K) selaku Koordinator Program Studi Pendidikan Dokter Spesialis-1 Mikrobiologi Klinik

Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/ RSUD Dr. Soetomo Surabaya, yang telah berkenan memberikan kesempatan kepada penulis untuk menempuh pendidikan dan memperdalam pengetahuan di bidang Mikrobiologi Klinik serta atas bimbingan dan arahannya selama mengikuti masa pendidikan.

Prof. Dr. Eddy Bagus Wasito, dr., M.S., Sp.MK (K), selaku dosen wali penulis, yang telah memberikan kesempatan untuk belajar dan membimbing penulis dalam menempuh pendidikan dan memperdalam pengetahuan di program studi pendidikan dokter spesialis Mikrobiologi Klinik.

Ucapan terima kasih tak terhingga penulis sampaikan kepada Bapak Drs. Emlan dan Ibu Ir. Sri Rustianti, M.Si, yang telah membesarkan dan selalu memberikan dukungan penuh dalam setiap kegiatan penulis, serta menjadi *support system* utama selama pendidikan ini.

Suami tercinta dr. Abdul Gofar dan anak tersayang Muhammad Ghazi Ariq Anargha serta Muhammad Ghali Ariq Arsakha yang selalu menyertai dan menjadi semangat dan kekuatan, terima kasih atas dukungan, bantuan, keikhlasan, dan doa yang tiada putus-putusnya selama pendidikan ini. Terima kasih kepada adik dr. Rizki Adena Putri yang menjadi bagian dari *support system* inti dalam keluarga. Terima kasih juga untuk keluarga besar penulis yang telah memberikan dorongan, semangat, dan doa bagi kelancaran pendidikan penulis.

Teman-teman seangkatan dr. Andy Setiawan, dr. Tiar Sondang Uli Sihotang, dr. Eny Purwoningsih, dr. AD Sekar Langit Partha yang menjadi teman sejati saat susah dan senang, memberi dorongan dan saling membantu untuk menyelesaikan pendidikan bersama-sama. Serta kakak senior maupun adik-adik PPDS yang telah membantu penyusunan tesis maupun selama menempuh pendidikan.

Teruntuk analis Mikrobiologi Klinik RSUD Dr. Soetomo yang telah banyak membantu dan membimbing penulis dalam mengerjakan penelitian. Kepada seluruh pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang tanpa bantuan mereka, penelitian ini tidak akan berjalan baik.

Akhir kata, penulis menyampaikan permohonan maaf kepada semua pihak atas segala sesuatu yang kurang berkenan selama penulis menempuh pendidikan Magister Kedokteran Klinik ini. Semoga Allah SWT melimpahkan rahmat, karunia, dan hidayah-Nya bagi kita semua.

Surabaya, 22 Juni 2022

Penulis

### HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademik Universitas Airlangga, saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : dr. Erizka Rivani

NIM : 011828226301

Program Studi : Program Pendidikan Dokter Spesialis Mikrobiologi Klinik

Jenis Karya : Karya Akhir

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Airlangga **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty-Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

**Pengaruh Vankomisin dalam Eradikasi Biofilm *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) Terhadap Kemunculan *Heterogenous Vancomycin Intermediate Staphylococcus aureus*/Vancomycin Intermediate *Staphylococcus aureus* (hVISA/VISA)**

Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Airlangga berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di Surabaya

Pada 22 Juni 2022



Yang menyatakan

Erizka Rivani, dr.

## RINGKASAN

### **PENGARUH VANKOMISIN DALAM ERADIKASI BIOFILM *METHICILLIN-RESISTANT STAPHYLOCOCCUS AUREUS* (MRSA) TERHADAP KEMUNCULAN *HETEROGENOUS* *VANCOMYCIN INTERMEDIATE STAPHYLOCOCCUS* *AUREUS/VANCOMYCIN INTERMEDIATE STAPHYLOCOCCUS* *AUREUS* (hVISA/VISA)**

**Erizka Rivani**

MRSA merupakan patogen penyebab dari infeksi ringan terkait komunitas seperti *skin and soft tissue infection*, namun dapat juga menyebabkan infeksi berat terkait pusat kesehatan seperti pneumonia, osteomyelitis, abses serebral, dan sepsis dengan angka morbiditas dan mortalitas yang tinggi. MRSA memiliki spektrum resistensi antibiotik yang luas dan kemampuan produksi biofilm yang mempersulit terapi. Vankomisin merupakan antibiotik golongan glikopeptida yang menjadi pilihan utama dalam kasus infeksi MRSA, namun penggunaannya dalam eradikasi biofilm membutuhkan konsentrasi dan waktu paparan yang tinggi sehingga menimbulkan kekhawatiran akan induksi maupun seleksi isolat dengan penurunan susceptibilitas terhadap vankomisin.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas vankomisin dalam eradikasi biofilm dan mengetahui efek dari paparan terhadap kemunculan isolat hVISA/VISA. Penelitian ini adalah sebuah penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan *post test control group design* yang dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Klinik RSUD Dr. Soetomo Surabaya pada Juni 2022. Efektivitas eradikasi biofilm dinilai dari persentasi eradikasi, pengaruh paparan terhadap kemunculan isolat hVISA/VISA dinilai dari pertumbuhan isolat hVISA/VISA setelah paparan vankomisin terhadap biofilm.

Biofilm MRSA dipaparkan dengan vankomisin dalam konsentrasi 1 kali MIC, 1.000 kali MIC, dan 10.000 kali MIC (2 µg/ml, 2 mg/ml, 20 mg/ml) dengan waktu paparan *continous* 24 jam vs intermiten 6 jam per hari selama 3 hari berturut-turut. Setelah paparan vankomisin, dilakukan pengukuran ketebalan biofilm dan subkultur spesimen biofilm ke media *brain-heart infusion agar with vancomycin and casein* (BHIA-VC) untuk mengisolasi isolat hVISA/VISA.

Paparan vankomisin konsentrasi 2 µg/ml dengan waktu inkubasi 24 jam maupun 6 jam/hari selama 3 hari tidak menimbulkan efek eradikasi biofilm. Pada kelompok yang diberi paparan 2 mg/ml secara *continuous*, eradikasi biofilm berkisar antara 21-63,9%. Pada kelompok yang diberi paparan 2 mg/ml secara intermiten, eradikasi biofilm berkisar antara 32,8-69%. Pada kelompok yang diberi paparan 20 mg/ml secara *continuous*, eradikasi biofilm berkisar antara 60-87,6%. Pada kelompok yang diberi paparan 20 mg/ml secara intermiten, eradikasi biofilm berkisar antara 64-86,1%. Dari uji komparasi dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan nilai *optical density* yang signifikan antar kelompok konsentrasi paparan vankomisin. Tidak didapatkan perbedaan nilai *optical density* yang signifikan antar kelompok paparan *continuous* versus intermiten.

Terdapat 3/12 isolat yg tumbuh di media BHIA-VC. Kemunculan isolat hVISA/VISA paling banyak terjadi pada isolat yang mendapatkan paparan vankomisin konsentrasi 2 µg/ml, diikuti dengan kelompok dengan paparan 2 mg/ml, dan paling sedikit timbul pada kelompok yang diberi paparan vankomisin 20 mg/ml. Konsentrasi vankomisin yang dipapar berkorelasi dengan kemunculan isolat hVISA/VISA setelah paparan. Perbedaan waktu paparan tidak menimbulkan perbedaan efek kemunculan isolat hVISA/VISA yang bermakna secara statistik, walaupun pertumbuhan di media BHIA-VC lebih banyak terjadi pada yang dipaparkan vankomisin selama 6 jam per hari dan diinkubasi selama total 72 jam.

Manfaat penelitian ini adalah dapat memberi informasi berupa data konsentrasi dan lama paparan vankomisin yang efektif dalam eradikasi biofilm isolat MRSA dan pengaruh paparan vankomisin terhadap kemunculan isolat hVISA/VISA sehingga dapat menjadi dasar dalam penyusunan protokol terapi infeksi MRSA terkait biofilm.

## SUMMARY

### **EFFECT OF VANCOMYCIN IN *METHICILLIN-RESISTANT STAPHYLOCOCCUS AUREUS* (MRSA) BIOFILM ERADICATION AND ISOLATION OF *HETEROGENOUS VANCOMYCIN INTERMEDIATE STAPHYLOCOCCUS AUREUS/VANCOMYCIN INTERMEDIATE STAPHYLOCOCCUS AUREUS* (hVISA/VISA)**

**Erizka Rivani**

MRSA is a pathogen that causes minor community-associated infections such as skin and soft tissue infections, but can also cause serious healthcare-associated infections such as pneumonia, osteomyelitis, cerebral abscess, and sepsis with high morbidity and mortality rates. MRSA has a broad spectrum of antibiotic resistance and biofilm production capabilities that complicate therapy. Vancomycin is the main choice in cases of MRSA infection, but its use in biofilm eradication requires high concentration and exposure time, which raises concerns about the induction and selection of isolates with decreased susceptibility to vancomycin.

This study aimed to determine the effectiveness of vancomycin in eradicating biofilms and to determine the effect of exposure on the emergence of hVISA/VISA isolates. This research is an experimental laboratory study with a post-test control group design which was carried out at the Clinical Microbiology Laboratory of Dr. Soetomo General Academic Hospital, Surabaya in June 2022. The effectiveness of biofilm eradication was assessed from the percentage of eradication, and the effect of exposure on the emergence of hVISA/VISA isolates was assessed from the growth of hVISA/VISA isolates after vancomycin exposure to the biofilm.

MRSA biofilms were exposed to vancomycin in concentrations of 1 times the MIC, 1,000 times the MIC, and 10,000 times the MIC (2 µg/ml, 2 mg/ml, 20 mg/ml) with a continuous exposure time of 24 hours vs. intermittent 6 hours per day for 3 days. Biofilm specimens after exposure were subcultured onto brain-heart infusion agar with vancomycin and casein (BHIA-VC) to isolate hVISA/VISA isolates.

Exposure of 2 µg/ml vancomycin did not have biofilm eradication effect. Continuously exposed group with 2 mg/ml concentration has biofilm eradication percentation ranged from 21-63.9%. In the group that was exposed to 2 mg/ml intermittently, the biofilm eradication ranged from 32.8-69%. In the group that was continuously exposed to 20 mg/ml, the biofilm eradication ranged from 60-87.6%. In the group that was exposed to 20 mg/ml intermittently, the biofilm eradication ranged from 64-86.1%. From the comparative test, it can be concluded that there are significant differences in optical density values between groups of vancomycin

exposure concentrations. There was no significant difference in optical density values between continuous versus intermittent exposure groups.

There were three isolates growing on BHIA-VC media after vancomycin exposure to its biofilm. The highest prevalence of hVISA/VISA isolates occurred in the isolates exposed to vancomycin concentration of 2 µg/ml, followed by the group with 2 mg/ml exposure, and the least occurrence in the group exposed to 20 mg/ml vancomycin. The concentration of vancomycin exposed correlated with the appearance of hVISA/VISA isolates after exposure. The difference in exposure time did not cause a statistically significant difference in the effect of the emergence of hVISA/VISA isolates, although growth in BHIA-VC media was more common in those exposed to vancomycin for 6 hours per day and incubated for a total of 72 hours.

**PENGARUH VANKOMISIN DALAM ERADIKASI BIOFILM  
*METHICILLIN-RESISTANT STAPHYLOCOCCUS AUREUS*  
(MRSA) TERHADAP KEMUNCULAN *HETEROGENOUS*  
*VANCOMYCIN INTERMEDIATE STAPHYLOCOCCUS*  
*AUREUS/VANCOMYCIN INTERMEDIATE STAPHYLOCOCCUS*  
*AUREUS* (hVISA/VISA)**

**Erizka Rivani**<sup>1</sup>, Agung Dwi Wahyu Widodo<sup>1</sup>, Muhammad Vitanata Arfijanto<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departemen Mikrobiologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas  
Airlangga/RSUD Dr. Soetomo, Surabaya, Indonesia

<sup>2</sup>Departemen Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Universitas  
Airlangga/RSUD Dr. Soetomo, Surabaya, Indonesia

**ABSTRAK**

**Latar Belakang:** Vankomisin merupakan terapi pilihan pada infeksi MRSA namun dosis standar tidak optimal dalam eradikasi biofilm. Pemberian vankomisin dengan konsentrasi maupun lama paparan yang ditingkatkan memiliki potensi dalam eradikasi biofilm, namun dikhawatirkan akan menimbulkan seleksi maupun induksi isolat dengan penurunan susceptibilitas terhadap vankomisin.

**Metode:** Penelitian eksperimental laboratorium ini menggunakan sepuluh isolat klinis MRSA serta isolat ATCC MRSA 43300 dan ATCC *S.aureus* 25923. Biofilm yang dibentuk oleh isolat dipaparkan vankomisin konsentrasi 1 kali MIC, 1.000 kali MIC, dan 10.000 kali MIC (2 µg/ml, 2 mg/ml, 20 mg/ml) dengan waktu paparan *continous* 24 jam vs intermiten 6 jam per hari selama 3 hari berturut-turut. Dilakukan pengukuran *optical density* dari biofilm untuk mengetahui persentase eradikasi biofilm. Spesimen biofilm setelah paparan disubkultur ke media selektif BHIA-VC untuk mengisolasi isolat hVISA/VISA.

**Hasil:** Efek eradikasi biofilm tertinggi ditemukan pada isolat yang dipapar vankomisin konsentrasi 10.000 kali MIC, namun efek eradikasi biofilm total tetap belum tercapai. Pemberian vankomisin konsentrasi 1 kali MIC tidak menimbulkan efek eradikasi biofilm. Paparan secara *continous* maupun intermiten tidak menimbulkan perbedaan eradikasi biofilm yang signifikan. Paparan vankomisin

berkorelasi terhadap kemunculan isolat hVISA/VISA, isolat dengan penurunan susceptibilitas terhadap vankomisin muncul terutama setelah paparan vankomisin dengan konsentrasi yang rendah.

**Kesimpulan:** Konsentrasi paparan vankomisin diatas seribu kali MIC dibutuhkan untuk eradikasi optimal biofilm MRSA. Paparan vankomisin dalam konsentrasi 1 kali MIC tidak menimbulkan efek eradikasi biofilm dan berkorelasi terhadap kemunculan isolat MRSA dengan penurunan susceptibilitas terhadap vankomisin.

**Kata Kunci:** MRSA, biofilm, eradikasi, vankomisin, hVISA/VISA

**EFFECT OF VANCOMYCIN IN *METHICILLIN-RESISTANT STAPHYLOCOCCUS AUREUS* (MRSA) BIOFILM ERADICATION AND ISOLATION OF *HETEROGENOUS VANCOMYCIN INTERMEDIATE STAPHYLOCOCCUS AUREUS/VANCOMYCIN INTERMEDIATE STAPHYLOCOCCUS AUREUS* (hVISA/VISA)**

**Erizka Rivani**<sup>1</sup>, Agung Dwi Wahyu Widodo<sup>1</sup>, Muhammad Vitanata Arfijanto<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Clinical Microbiology Department, Faculty of Medicine, Airlangga University/Dr. Soetomo General Academic Hospital, Surabaya, Indonesia

<sup>2</sup>Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Airlangga University/Dr. Soetomo General Academic Hospital, Surabaya, Indonesia

**ABSTRACT**

**Background:** Vancomycin is the first-line therapy for *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) infection, but the standard dose is not optimal for biofilm eradication. The administration of vancomycin with increased concentration and duration of exposure has the potential to eradicate biofilms, but it is feared that it will lead to the selection or induction of isolates with decreased susceptibility to vancomycin.

**Methods:** This laboratory experimental study used ten clinical isolates of MRSA as well as isolates of ATCC MRSA 43300 and ATCC *S.aureus* 25923. The biofilm formed by the isolates was exposed to vancomycin concentrations of 1 times the MIC, 1,000 times the MIC, and 10,000 times the MIC (2 g/ml, 2 mg/ml, 20 mg/ml); exposed continuously for 24 hours vs. intermittent 6 hours per day for 3 consecutive days. Measurement of the optical density of the biofilm was carried out to determine the percentage of biofilm eradication. Biofilm specimens after exposure were subcultured onto BHIA-VC selective media to isolate hVISA/VISA.

**Results:** The highest biofilm eradication effect was found in isolates exposed to vancomycin at a concentration of 10,000 times the MIC, but the total biofilm eradication effect was not achieved. Administration of vancomycin concentration of 1 times the MIC did not have biofilm eradication effect. Continuous or intermittent exposure did not cause significant differences in biofilm eradication. Vancomycin exposure correlated with the emergence of hVISA/VISA isolates,

isolates with decreased susceptibility to vancomycin appeared especially after exposure to low concentrations of vancomycin.

**Conclusion:** Vancomycin exposure concentrations above a thousand times the MIC are required for optimal eradication of MRSA biofilms. Vancomycin exposure in a concentration of 1 times the MIC did not cause biofilm eradication effect and correlated with the emergence of MRSA isolates with a decrease in susceptibility to vancomycin.

**Keywords:** MRSA, biofilm, eradication, vancomycin, hVISA/VISA

## DAFTAR ISI

|                                                                     | Halaman      |
|---------------------------------------------------------------------|--------------|
| SAMPUL LUAR .....                                                   | i            |
| SAMPUL DALAM .....                                                  | ii           |
| LEMBAR PERSETUJUAN .....                                            | iii          |
| HALAMAN PENGESAHAN .....                                            | iv           |
| HALAMAN PENETAPAN PANITIA PENGUJI TESIS .....                       | v            |
| HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS .....                               | vi           |
| KATA PENGANTAR .....                                                | vii          |
| UCAPAN TERIMA KASIH .....                                           | viii         |
| HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN .....                                | xii          |
| RINGKASAN .....                                                     | xiii         |
| <i>SUMMARY</i> .....                                                | xv           |
| ABSTRAK .....                                                       | xvii         |
| <i>ABSTRACT</i> .....                                               | xix          |
| DAFTAR ISI .....                                                    | xxi          |
| DAFTAR TABEL .....                                                  | xxiv         |
| DAFTAR GAMBAR .....                                                 | xxv          |
| DAFTAR LAMPIRAN .....                                               | xxvi         |
| DAFTAR SINGKATAN .....                                              | xxvii        |
| <br><b>BAB 1 PENDAHULUAN</b> .....                                  | <br><b>1</b> |
| 1.1 Latar Belakang .....                                            | 1            |
| 1.2 Rumusan Masalah .....                                           | 5            |
| 1.3 Tujuan Penelitian .....                                         | 5            |
| 1.3.1 Tujuan umum .....                                             | 5            |
| 1.3.2 Tujuan khusus .....                                           | 5            |
| 1.4 Manfaat Penelitian .....                                        | 6            |
| 1.4.1 Manfaat teoritis .....                                        | 6            |
| 1.4.2 Manfaat praktis .....                                         | 6            |
| <br><b>BAB 2 TINJAUAN KEPUSTAKAAN</b> .....                         | <br><b>7</b> |
| 2.1 <i>Methicillin-resistant Staphylococcus aureus</i> (MRSA) ..... | 7            |
| 2.1.1 Faktor virulensi MRSA .....                                   | 8            |
| 2.1.2 Epidemiologi MRSA .....                                       | 11           |
| 2.1.3 Terapi antibiotik pada MRSA .....                             | 14           |
| 2.2 Biofilm .....                                                   | 16           |
| 2.2.1 Biofilm pada MRSA .....                                       | 16           |
| 2.3 Vankomisin .....                                                | 21           |
| 2.3.1 Resistensi vankomisin .....                                   | 23           |

|                                                           |                                                                                                                                                   |           |
|-----------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.3.2                                                     | <i>Heteroresistant vancomycin-intermediate Staphylococcus aureus</i> (hVISA) dan <i>vancomycin intermediate Staphylococcus aureus</i> (VISA)..... | 26        |
| 2.3.3                                                     | Deteksi isolat dengan penurunan susceptibilitas terhadap vankomisin.....                                                                          | 28        |
| <b>BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN</b> |                                                                                                                                                   | <b>30</b> |
| 3.1                                                       | Kerangka Konseptual Penelitian .....                                                                                                              | 30        |
| 3.2                                                       | Penjelasan Kerangka Konseptual .....                                                                                                              | 31        |
| 3.3                                                       | Hipotesis Penelitian .....                                                                                                                        | 33        |
| <b>BAB 4 METODE PENELITIAN</b>                            |                                                                                                                                                   | <b>34</b> |
| 4.1                                                       | Jenis dan Rancangan Penelitian .....                                                                                                              | 34        |
| 4.1.1                                                     | Jenis penelitian .....                                                                                                                            | 34        |
| 4.1.2                                                     | Rancangan penelitian .....                                                                                                                        | 34        |
| 4.2                                                       | Populasi, Besar Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel .....                                                                                        | 35        |
| 4.2.1                                                     | Populasi penelitian .....                                                                                                                         | 35        |
| 4.2.2                                                     | Sampel penelitian .....                                                                                                                           | 35        |
| 4.2.3                                                     | Kriteria penerimaan sampel penelitian .....                                                                                                       | 35        |
| 4.2.4                                                     | Besar sampel .....                                                                                                                                | 36        |
| 4.2.5                                                     | Teknik pengambilan sampel .....                                                                                                                   | 36        |
| 4.3                                                       | Variabel Penelitian dan Definisi Operasional .....                                                                                                | 36        |
| 4.3.1                                                     | Variabel penelitian .....                                                                                                                         | 36        |
| 4.3.2                                                     | Definisi operasional .....                                                                                                                        | 37        |
| 4.4                                                       | Bahan Penelitian dan Instrumen Penelitian .....                                                                                                   | 39        |
| 4.4.1                                                     | Bahan penelitian .....                                                                                                                            | 39        |
| 4.4.2                                                     | Instrumen penelitian .....                                                                                                                        | 39        |
| 4.5                                                       | Lokasi dan Waktu Penelitian .....                                                                                                                 | 40        |
| 4.5.1                                                     | Lokasi penelitian .....                                                                                                                           | 40        |
| 4.5.2                                                     | Waktu penelitian .....                                                                                                                            | 40        |
| 4.6                                                       | Prosedur Penelitian .....                                                                                                                         | 40        |
| 4.6.1                                                     | Identifikasi isolat MRSA yang memproduksi biofilm .....                                                                                           | 41        |
| 4.6.2                                                     | <i>Microtiter Plate Biofilm Eradication Assay</i> .....                                                                                           | 41        |
| 4.6.3                                                     | Pembacaan dengan spektrofotometer .....                                                                                                           | 42        |
| 4.6.4                                                     | Deteksi isolat hVISA/VISA .....                                                                                                                   | 42        |
| 4.7                                                       | Alur Penelitian .....                                                                                                                             | 44        |
| 4.8                                                       | Analisis Data .....                                                                                                                               | 46        |
| 4.8.1                                                     | Penyajian .....                                                                                                                                   | 46        |
| 4.8.2                                                     | Analisis data .....                                                                                                                               | 46        |
| <b>BAB 5 ANALISIS HASIL PENELITIAN.....</b>               |                                                                                                                                                   | <b>47</b> |
| 5.1                                                       | Karakteristik Data Penelitian .....                                                                                                               | 47        |

|                                        |                                               |           |
|----------------------------------------|-----------------------------------------------|-----------|
| 5.2                                    | Hasil dan Analisis Data Penelitian .....      | 48        |
| 5.2.1                                  | Hasil pengukuran <i>optical density</i> ..... | 50        |
| 5.2.2                                  | Analisis Data .....                           | 52        |
| <b>BAB 6 PEMBAHASAN.....</b>           |                                               | <b>55</b> |
| <b>BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN.....</b> |                                               | <b>60</b> |
| 7.1                                    | Kesimpulan .....                              | 60        |
| 7.2                                    | Saran .....                                   | 61        |
| <b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>            |                                               | <b>62</b> |
| <b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>           |                                               | <b>73</b> |

## DAFTAR TABEL

|                                                                 | Halaman |
|-----------------------------------------------------------------|---------|
| Tabel 2.1 Faktor virulensi MRSA .....                           | 9       |
| Tabel 2.2 Antibiotik yang memiliki aktivitas terhadap MRSA..... | 15      |
| Tabel 4.1 Definisi operasional.....                             | 37      |
| Tabel 4.2 Rencana jadwal penelitian.....                        | 40      |
| Tabel 5.1 Karakteristik isolat penelitian.....                  | 48      |
| Tabel 5.2 Skema <i>microtiter plate</i> ... ..                  | 49      |
| Tabel 5.3 <i>Optical density</i> ... ..                         | 50      |
| Tabel 5.4 Persentase ketebalan biofilm .....                    | 50      |
| Tabel 5.5 Eradikasi biofilm .....                               | 51      |
| Tabel 5.6 Pertumbuhan di media BHIA-VC.....                     | 51      |
| Tabel 5.7 Uji Kruskal-Wallis.....                               | 52      |
| Tabel 5.8 Uji Mann-Whitney.....                                 | 53      |
| Tabel 5.9 <i>Post-hoc</i> dengan Mann-Whitney.....              | 53      |
| Tabel 5.10 <i>Cross tabulasi</i> ... ..                         | 53      |

## DAFTAR GAMBAR

|                                                                         | Halaman |
|-------------------------------------------------------------------------|---------|
| Gambar 2.1 Sistem regulasi ekspresi PBP2a dan $\beta$ -laktamase .....  | 11      |
| Gambar 2.2 Biofilm yang dibentuk oleh <i>S.aureus</i> .....             | 20      |
| Gambar 2.3 Diagram skematik sintesis biofilm oleh <i>S.aureus</i> ..... | 21      |
| Gambar 3.1 Kerangka konseptual penelitian.....                          | 30      |
| Gambar 4.1 Rancangan penelitian.....                                    | 34      |
| Gambar 4.2 Skema Alur Penelitian.....                                   | 44      |
| Gambar 5.1 Persentase ketebalan biofilm setelah paparan .....           | 51      |

## DAFTAR LAMPIRAN

|                                              | Halaman |
|----------------------------------------------|---------|
| Lampiran 1 Surat Keterangan Layak Etik ..... | 73      |
| Lampiran 2 Analisis Data dengan SPSS.....    | 74      |

## DAFTAR SINGKATAN

|         |                                                                            |
|---------|----------------------------------------------------------------------------|
| Agr-qs  | : <i>accessory gene regulator quorum-sensing</i>                           |
| BHIA-VC | : <i>blood heart infusion agar with vancomycin and casein</i>              |
| CA-MRSA | : <i>community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus</i>  |
| CLSI    | : <i>clinical and laboratory standards institute</i>                       |
| EPS     | : <i>eksopolisakarida</i>                                                  |
| ICA     | : <i>intercellular adhesion</i>                                            |
| HA-MRSA | : <i>healthcare-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus</i> |
| hVISA   | : <i>heterogenous vancomycin-intermediate Staphylococcus aureus</i>        |
| LA-MRSA | : <i>livestock-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus</i>  |
| MAMP    | : <i>microorganism-associated molecular pattern</i>                        |
| MBC     | : <i>minimum bactericidal concentration</i>                                |
| MGE     | : <i>mobile genetic element</i>                                            |
| MIC     | : <i>minimum inhibitory concentration</i>                                  |
| MRSA    | : <i>Methicillin-resistant Staphylococcus aureus</i>                       |
| MSSA    | : <i>Methicillin-susceptible Staphylococcus aureus</i>                     |
| OD      | : <i>optical density</i>                                                   |
| PBP     | : <i>penicillin-binding protein</i>                                        |
| PIA     | : <i>polysaccharide intercellular adhesion</i>                             |
| PNAG    | : <i>poly-<math>\beta</math>-1,6-N-acetylglucosamine</i>                   |
| PVL     | : <i>Panton-Valentine leukocidine</i>                                      |
| sarA    | : <i>staphylococcal accessory regulator</i>                                |
| SCC     | : <i>staphylococcal cassette chromosome</i>                                |
| VISA    | : <i>vancomycin-intermediate Staphylococcus aureus</i>                     |
| VRSA    | : <i>vancomycin-resistant Staphylococcus aureus</i>                        |