

**TESIS**

**PERBEDAAN PROPORSI GEN TSST-1 ANTARA  
METHICILLIN-SENSITIVE DAN -RESISTANT  
*Staphylococcus aureus* DARI ISOLAT KLINIS DI RSUD  
DR.SOETOMO SURABAYA**



**Oleh:**

**MARINDA DWI PUSPITARINI  
NIM 011614153014**

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN DASAR  
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2020**

**TESIS**

**PERBEDAAN PROPORSI GEN TSST-1 ANTARA METHICILLIN-SENSITIVE DAN -RESISTANT *Staphylococcus aureus* DARI ISOLAT KLINIS DI RSUD DR.SOETOMO SURABAYA**

**MARINDA DWI PUSPITARINI  
NIM 011614153014**

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN DASAR  
JENJANG MAGISTER  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2020**

**TESIS**

**PERBEDAAN PROPORSI GEN TSST-1 ANTARA METHICILLIN-SENSITIVE DAN -RESISTANT *Staphylococcus aureus* DARI ISOLAT KLINIS DI RSUD DR.SOETOMO SURABAYA**

Untuk memperoleh gelar Magister  
dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar  
pada Jenjang Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga  
Surabaya

**Oleh:**

**MARINDA DWI PUSPITARINI  
NIM 011614153014**

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN DASAR  
JENJANG MAGISTER  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2020**

**Lembar Pengesahan**

**TESIS INI TELAH DISETUJUI  
TANGGAL 27 DESEMBER 2019**

Oleh :

Pembimbing Utama

Prof. Dr. Kuntaman dr., M.S., Sp. MK(K)  
NIP 19510707 197903 1 003

Pembimbing Kedua

Prof. Dr. H. Eddy Bagus Wasito, dr., MS., Sp.MK(K)  
NIP 19510221 197802 1 001

**Mengetahui**

Koordinator Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar  
Jenjang Magister Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya

Prof. Dr. Kuntaman dr., M.S., Sp. MK(K)  
NIP 19510707 197903 1 003

**PENETAPAN PANITIA PENGUJI TESIS**

Telah diuji pada  
Hari/Tanggal: Kamis, 02 JANUARI 2020  
PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Prof. dr. Usman Hadi Ph.D., Sp.PD-KPTI  
Anggota : 1. Prof. Dr. Kuntaman dr., MS., Sp.MK(K)  
2. Prof. Dr. H. Eddy Bagus Wasito dr., MS., Sp.MK(K)  
3. Dr. Eko Budi Koendhari dr., M.Kes., Sp.MK(K)  
4. Dr. Budi Utomo dr., M.Kes

### **Lembar Pernyataan Orisinalitas**

Yang bertanda tangan dibawah ini, saya:

Nama : Marinda Dwi Puspitarini  
NIM : 011614153014  
Program studi : Ilmu Kedokteran Dasar  
Judul Tesis : Perbedaan Proporsi Gen Tsst-1 Antara Methicillin-Sensitive Dan -Resistant *Staphylococcus Aureus* Dari Isolat Klinis Di Rsud Dr.Soetomo Surabaya

Dengan ini menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis saya ini adalah asli (hasil karya sendiri) bukan merupakan hasil peniruan (Plagiarism) dari karya orang lain. Tesis ini belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik. Dalam tesis ini tidak terdapat pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas tercantumkan sebagai acuan 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 dengan norma dan peraturan yang berlaku di Universitas Airlangga.



Surabaya, 27 Desember 2019

Marinda Dwi Puspitarini

NIM 011614153014

## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas karunia yang telah dilimpahkan serta sholawat salam kepada Nabi Muhammad SAW sehingga saya dapat menyelesaikan usulan tesis dengan judul **Perbedaan Proporsi Gen TSST-1 antara Methicillin-Sensitive dan -Resistant *Staphylococcus aureus* dari Isolat Klinis di RSUD Dr. Soetomo Surabaya**

Pada kesempatan ini saya ingin menyampaikan terimakasih kepada :

1. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Prof. Dr. Soetojo, dr., Sp.U., Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar Prof. Dr. Kuntaman dr., MS., Sp.MK(K) dan Ketua Minat Mikrobiologi Artur Pohan Kawilarang dr., M.Kes., Sp.MK(K) atas kesempatan mengikuti pendidikan di program studi S2 Ilmu Kedokteran Dasar Minat Studi Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
2. Prof. Dr. Kuntaman dr., MS., Sp.MK(K) selaku pembimbing pertama dan Prof. Dr. H. Eddy Bagus Wasito dr., MS., Sp.MK(K) selaku pembimbing kedua, atas saran dan bimbingannya.
3. Prof. dr. Usman Hadi Ph.D. selaku ketua penguji, Sp.PD-KPTI, dan Dr. Eko Budi Koendhari dr., M.Kes., Sp.MK(K) dan Dr. Budi Utomo dr., M.Kes selaku anggota penguji.
4. Seluruh staf pengajar dan rekan-rekan S2 mikrobiologi yang telah memberikan motivasi dan semangat.
5. Ayahanda Saiin, Ibunda Muljani (alm), Suami Rofiqul A'la, dan Ananda Naoki Adhyastha Altmann yang telah memberikan bantuan materiil, doa, dorongan serta semangat.

Surabaya, 27 Desember 2019

Penulis

## RINGKASAN

**Perbedaan Proporsi Gen TSST-1 antara Methicillin-Sensitive dan -Resistant *Staphylococcus aureus* dari Isolat Klinis di RSUD Dr. Soetomo Surabaya****Marinda Dwi Puspitarini**

*Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) merupakan patogen paling sering pada manusia yang menyebabkan berbagai macam infeksi mulai dari infeksi kulit superfisial dan jaringan lunak sampai infeksi yang menimbulkan kematian seperti endokarditis, infeksi osteoartikular, pneumonia dan bakteriemia. Variasi infeksi akibat *S. aureus* dihubungkan dengan adanya faktor virulensi seperti faktor adhesi dan eksoprotein yang terdiri dari eksotoksin dan enzim yaitu nuclease, protease, lipase, hyaluronidase, dan kolagenase.

Eksotoksin yang dihasilkan oleh *S. aureus* adalah  $\alpha$ -hemolysin,  $\beta$ -hemolysin,  $\gamma$ -hemolysin, leukocidin, Panton-Valentine leukocidin (PVL), Toxic Shock Syndrome Toxin-1 (TSST-1), Staphylococcal Enterotoxins (SE), dan Exfoliative Toxins (EF). Toxic Shock Syndrome Toxin-1 (TSST-1) merupakan salah satu faktor virulensi utama dan penyebab utama Toxic Shock Syndrome (TSS) dengan gejala demam tinggi, ruam kemerahan, deskuamasi, hipotensi, dan kegagalan multiorgan yang bersifat akut dan dapat mengancam jiwa.

Kemampuan bakteri menyebabkan infeksi tergantung pada banyaknya faktor virulensi dari kolonisasi bakteri tersebut. Karakteristik faktor virulensi dari masing-masing MSSA dan MRSA dapat bervariasi yang dapat berhubungan dengan lama perawatan dan kemungkinan mortalitas. Penelitian ini dilakukan bertujuan untuk mengetahui perbedaan proporsi gen TSST-1 antara MSSA dan MRSA dari isolat klinis pasien di RSUD Dr. Soetomo.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini sejumlah 53 isolat MSSA dan 53 isolat MRSA yang diperoleh berdasarkan hasil uji identifikasi otomatis *BD Phoenix<sup>TM</sup> Automated Microbiology System* atau *Vitek2 system*. Isolat MSSA dan MRSA kemudian dilakukan pemeriksaan PCR untuk mengetahui adanya gen TSST-1. Dari 106 isolat didapatkan gen TSST-1 positif sebanyak 5 (4,7%) isolat yang terdiri dari 3 (5,7%) isolat MSSA dan 2 (3,8%) isolat MRSA. Tidak didapatkan perbedaan yang bermakna antara gen tsst-1 dengan bakteri MSSA dan MRSA ( $p=0,648$ ).

Distribusi gen TSST-1 positif pada spesimen pus sebanyak 1 (4,5%) dari isolat MSSA dan spesimen darah 2 (10,5%) isolat akan tetapi tidak ditemukan pada spesimen sputum maupun urin sedangkan pada isolat MRSA hanya ditemukan pada spesimen darah sebanyak 2 (16,7%) isolat. Pada isolat MSSA didapatkan gen tsst-1 positif pada laki-laki sebanyak 1 isolat dan perempuan 2 isolat sedangkan MRSA jumlah sama masing-masing 1 pada laki-laki dan perempuan. Pada kelompok umur isolat MSSA didapatkan masing-masing 1 kelompok umur 0-10 tahun, 11-20 tahun dan 61-70 tahun dan juga pada isolat MRSA masing-masing 1 yaitu pada kelompok umur 11-20 tahun dan 51-60 tahun.

Hasil penelitian menunjukkan bakteri MSSA memiliki gen TSST-1 lebih banyak yaitu 3 (5,7%) isolat bakteri sedangkan bakteri MRSA sebanyak 2 (3,8%)



isolat bakteri meskipun tidak didapatkan perbedaan yang bermakna. Hasil tersebut serupa dengan penelitian yang dilakukan di Malaysia di tahun 2013 bahwa proporsi gen TSST-1 pada strain MSSA 13,3% lebih besar dibandingkan dengan strain MRSA, akan tetapi pada penelitian tersebut tidak ditemukan adanya strain bakteri MRSA yang memiliki gen TSST-1 selain itu tahun 2011 pada tempat yang sama didapatkan hasil gen TSST-1 positif sebesar 6,8% dari 518 strain MSSA (Sapri *et al.*, 2013). Dan juga di negara Lybia 7,5% (El-Ghodban *et al.*, 2016); Lebanon 5% (Tokajian *et al.*, 2011) dan Iran 23% (Sabouni *et al.*, 2014). Kemudian penelitian di negara Iran tahun 2015 menunjukkan hasil bahwa ditemukan gen TSST-1 positif pada MRSA 14,3% sedangkan MSSA 19,3% (Motamedifar *et al.*, 2015).

Penelitian lain menunjukkan hasil yang berbeda pada tahun 2013 dilakukan di Thailand tidak ditemukannya gen TSTT-1 positif baik pada strain bakteri MSSA maupun MRSA (N. indrawattana *et al.*, 2013). Penelitain di negara Iran tahun 2014 gen tsst-1 positif ditemukan pada 2 isolat MSSA sedangkan MRSA sebanyak 30 isolat (Teyhoo *et al.*, 2014); tahun 2015 MSSA 56% dan MRSA 69,8% (Koosha *et al.*, 2015); dan tahun 2018 gen tsst-1 positif sebagian besar ditemukan pada strain bakteri MRSA kecuali satu isolat saja yang berasal dari strain bakteri MSSA (Alni *et al.*, 2018). Penelitian yang dilakukan di negara Jepang menunjukkan hasil dengan angka proporsi gen tsst-1 yang cukup besar yaitu 75% dari 152 sampel isolat strain bakteri MRSA (Nagao *et al.*, 2009). Perbedaan adanya faktor virulensi pada bakteri MSSA dan MRSA masih menjadi perdebatan yang bergantung tidak hanya pada genotipe akan tetapi juga pada distribusi geografis.

Pus merupakan jenis spesimen yang menjadi sumber utama produksi gen tsst-1 dari *Staphylococcus aureus* (Teyhoo *et al.*, 2014). Hasil penelitian ini menunjukkan tiga spesimen dengan gen TSST-1 positif yaitu pus, darah, dan sputum. Hasil serupa juga didapatkan di negara Iran dan Austria bahwa darah dan pus yang paling banyak memiliki gen TSST-1 positif (Eftekhar *et al.*, 2017; Roetzer *et al.*, 2016). Spesimen yang beragam menunjukkan bahwa gen toksin tsst-1 dapat ditemukan pada semua bahan dari tubuh penderita. Penelitian ini menunjukkan adanya gen TSST-1 positif tidak sebanding dengan kejadian TSS. Hal tersebut dapat disimpulkan bahwa ekspresi gen TSST-1 dipengaruhi oleh berbagai faktor regulasi.

Dapat disimpulkan bahwa Proporsi gen TSST-1 pada (MSSA) dari isolat klinis di RSUD Dr. Soetomo Surabaya sebesar 5,7% sedangkan MRSA sebesar 3,8%. Berdasarkan hasil phylogenetic tree didapatkan gen TSST-1 dari Surabaya dalam satu clade dengan negara Jepang, Iran, India, Irak, Inggris dan Mesir. Hasil dari Indonesia menunjukkan keberagaman ditandai dengan adanya perubahan susunan protein yang dapat mempengaruhi perbedaan ekspresi gen tsst-1 akan tetapi hal tersebut memerlukan penelitian tentang mutagenesis lebih lanjut.

## SUMMARY

### **Differences Proportion of TSST-1 Genes between Methicillin-Sensitive and -Resistant *Staphylococcus aureus* from Clinical Isolates at RSUD Dr. Soetomo Surabaya**

**Marinda Dwi Puspitarini**

*Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) is the most common pathogen in humans that causes a variety of infections ranging from superficial skin and soft tissue infections to causing death such as endocarditis, osteoarticular infections, pneumonia and bacteremia. Variations infection due to *S. aureus* are associated with virulence factors such as adhesion and exoprotein factors which consist of exotoxins and enzymes nuclease, protease, lipase, hyaluronidase, and collagenase.

Exotoxins produced by *S. aureus* are  $\alpha$ -hemolysin,  $\beta$ -hemolysin,  $\gamma$ -hemolysin, leukocidin, Panton-Valentine leukocidin (PVL), Toxic Shock Syndrome Toxin-1 (TSST-1), Staphylococcal Enterotoxins (SE), and Exfoliative Toxins (EF). Toxic Shock Syndrome Toxin-1 (TSST-1) is one of the main virulence factors and the main cause of Toxic Shock Syndrome (TSS) with symptoms of high fever, rash, desquamation, hypotension, and multiorgan failure, acute, and causes life-threatening.

The ability bacteria to cause infection depends on the number of virulence factors from bacterial colonization. The characteristics of the virulence factors of each MSSA and MRSA can vary which can be related to the length of treatment and mortality. The purpose of the current study was to determine differences the proportion of TSST-1 genes between MSSA and MRSA from clinical isolates at RSUD Dr. Soetomo Surabaya.

The samples in this study were 53 MSSA isolates and 53 MRSA isolates obtained based on the results of the *automatic identification test of BD Phoenix TM Automated Microbiology System or Vitek2 system*. MSSA and MRSA isolates then examined by PCR to determine the presence of TSST-1 gene. From 106 isolates, 5 (4.7%) tsst-1 isolates positive consisted of 3 (5.7%) MSSA isolates and 2 (3.8%) MRSA isolates. No significant difference was found between the TSST-1 gene with MSSA and MRSA bacteria ( $p = 0.648$ ).

The distribution of the tsst-1 gene positive from MSSA isolates wound specimens was 1 (4.5%) isolates and blood specimens 2 (10.5%) isolates but were not found in sputum or urine specimens while in MRSA isolates it was only found in blood specimens 2 (16.7%) isolates. In MSSA isolates, TSST-1 genes positive were found from males 1 isolate and females 2 isolates while MRSA was equal in number 1 in males and females respectively. In the MSSA isolates was obtained for each respectively 1 isolates in the age group 0-10 years, 11-20 years and 61-70 years and also in MRSA isolates respectively 1 isolates in the age group 11-20 years and 51-60 years.

The results showed that MSSA bacteria had more TSST-1 genes, 3 (5.7%) bacterial isolates while MRSA bacteria were 2 (3.8%) bacterial isolates although no significant difference was found. These results are similar to a study in Malaysia in 2013 that the proportion of the TSST-1 gene in the MSSA strain (13,3%) was greater than the MRSA strain, but in that study there were no MRSA bacterial strains that had the TSST-1 gene and In 2011, the TSST-1 gene was positive at 6.8% from 518 MSSA strains (Sapri et al., 2013). Lybia 7.5% (El-Ghodban et al., 2016); Lebanon 5% (Tokajian et al., 2011) and Iran 23% (Sabouni et al., 2014). Then a study in Iran at 2015 showed that positive *tsst-1* was found in MRSA of 14.3% while MSSA was 19.3% (Motamedifar et al., 2015).

Other studies have shown different results in Thailand found no positive TSTT-1 genes in both the MSSA and MRSA bacterial strains (N. indrawattana et al., 2013). Iran at 2014 *tsst-1* gene positive was found in 2 MSSA isolates while MRSA was 30 isolates (Teyhoo et al., 2014); in 2015 MSSA 56% and MRSA 69.8% (Koosha et al., 2015); and in 2018 the positive *tsst-1* gene was mostly found in the MRSA bacterial strain except for one isolate derived from the MSSA bacterial strain (Alni et al., 2018). Japan showed results with a fairly large proportion of the *tsst-1* gene positive 75% of 152 samples of MRSA bacterial strain isolates (Nagao et al., 2009). The difference between virulence factors in MSSA and MRSA bacteria is still being debated which depends not only on genotype but also on geographical distribution.

Wound is a type of specimen that is the main source of the production of the TSST-1 gene from *Staphylococcus aureus* (Teyhoo et al., 2014). The results of this study showed three specimens with TSST-1 genes positive are wound, blood, and sputum. Similar results were also obtained in Iran and Austria that the most blood and wound (Eftekhari et al., 2017; Roetzer et al., 2016). Many different source of specimens show that the TST-1 toxin gene can be found in all part from the patient's body. This study shows the presence of a TSST-1 gene positive is not comparable with the incidence of TSS. It can be concluded that TSST-1 gene expression is influenced by various regulatory factors.

Conclusion that the proportion of the TSST-1 gene from clinical isolates in Dr. Soetomo Surabaya was MSSA 5.7% while MRSA was 3.8%. Based on the phylogenetic tree results obtained TSST-1 gene from Surabaya in the same clade with Japan, Iran, India, Iraq, UK and Egypt. The results from Indonesia show that diversity is characterized by changes in protein composition that can affect differences in the expression of the TSST-1 gene, but this requires further research on mutagenesis.