

Karakterisasi dan Uji Kepekaan Antibiotik Beberapa Isolat *Staphylococcus aureus* dari Sumatera Utara

Dwi Suryanto¹, Irmayanti dan Sofyan Lubis²

¹Departemen Biologi, FMIPA, Universitas Sumatera Utara

²Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatera Utara



antibiotik sangat penting agar terapi yang rasional bisa dilakukan¹⁰.

BAHAN DAN METODE

Isolasi dan Karakterisasi Bakteri

Bakteri *S. aureus* diisolasi dari pasien yang terinfeksi yang berasal dari beberapa daerah di Sumatera Utara. Isolasi dilakukan dengan cara mengoles luka yang mengandung pus dengan *cotton swab* steril dan menyebarnya dalam media *nutrient agar* (NA). Bakteri yang telah diisolasi ditanam pada media *mannitol salt agar* (MSA) dengan cara goresan dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. *S. aureus* merubah warna media dari merah menjadi kuning.

Satu koloni yang terpisah dari media MSA ditanam pada media agar darah dengan cara goresan dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Salah satu ciri *S. aureus* berupa kemampuannya melisis sel darah merah, ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni.

Karakterisasi morfologi dilakukan dengan melihat sifat gram, bentuk, dan susunan sel. Sifat gram ditentukan dengan pewarnaan gram. Bentuk dan susunan sel diamati di bawah mikroskop.

Uji koagulasi dilakukan menggunakan media *tryptic soy broth* (TSB) yang diberi plasma darah kelinci. Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 24 jam. Koagulasi positif ditandai dengan terbentuknya gumpalan plasma. *S. aureus* patogen memproduksi koagulase. Produksi koagulase ini memiliki hubungan dengan patogenesis yang tinggi⁴.

Uji Kepekaan terhadap Antibiotik

Uji kepekaan dilakukan menggunakan media *Mueller Hinton agar* (MHA). Suspensi bakteri setara 10¹⁰ sel/ml diusap dengan *cotton bud* dalam media MHA dalam cawan petri. Media dibiarkan mengering selama 5 menit. Kertas cakram antibiotik (Oxoid, Inggris) yang berisi masing-masing 30 µg/ml kloramfenikol, 10 µg/ml penisilin, 25 µg/ml amoksisilin, 25 µg/ml sulfametoksazol trimetoprim, dan 5 µg/ml metisilin diletakkan dengan cara menekan di atas media berisi usapan bakteri. Media diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Zona hambat yang terbentuk diukur

dengan jangka sorong. Kerentanan dari organisme terhadap obat ditunjukkan dari ukuran zona yang nampak pada media¹¹.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan Karakterisasi Bakteri

Bakteri yang telah diisolasi dari pus ditumbuhkan di dalam media MSA untuk menyeleksi bakteri *S. aureus* dari anggota genus *Staphylococcus* lainnya. Hasilnya menunjukkan bahwa terjadi pertumbuhan *S. aureus* yang ditandai dengan adanya perubahan warna media dari merah menjadi kuning. Warna kuning timbul karena fermentasi mannitol yang dilakukan *S. aureus*.

Hasil pengamatan sel menunjukkan bahwa semua isolat berbentuk stafilocokus. Hasil pewarnaan gram semua isolat menunjukkan gram positif. Berdasarkan uji yang dilakukan di atas dipastikan bahwa isolat yang didapat merupakan bakteri *S. aureus* dan mempunyai potensi menjadi patogen invasif. Semua bakteri *S. aureus* merupakan bakteri yang positif koagulase. Produksi koagulase ini memiliki hubungan dengan patogenesis⁴.

Untuk melihat kemampuan *S. aureus* dalam melisis sel darah merah dilakukan uji dengan menggunakan media agar darah. Terbentuknya zona bening menunjukkan bahwa isolat mampu melisis darah. Proses lisis sempurna terlihat dari zona yang benar-benar jernih (β -hemolisis), proses hemolisis tidak sempurna memperlihatkan media berwarna kehijauan (α -hemolisis). Proses lisis yang tidak nyata menyebabkan tidak terjadi perubahan warna media (γ -hemolisis)¹².

Dari Tabel 1 dapat diketahui bahwa 14 isolat yang dikoleksi memiliki kemampuan hemolisis yang berbeda. Isolat asal Tapanuli Selatan, Tapanuli Utara, Langkat, Tobasa, dan Medan mampu melisis sel darah merah dengan tipe β -hemolisis. Isolat asal Simalungun, Madina, dan Nias melisis sel darah merah dengan tipe α -hemolisis. Isolat asal Tapanuli Tengah, Labuhan Batu, Asahan, Dairi, Deli Serdang, dan Karo melisis sel darah merah dengan tipe γ -hemolisis. Kemampuan hemolisis yang berbeda mungkin disebabkan kemampuan yang berbeda dalam menghasilkan enzim hemolisin.

Tabel 1.
Jenis hemolisis isolat *S. aureus* dari Sumatera Utara

No.	Asal Isolat	Jenis Hemolisis
1.	Asahan	γ -hemolisis
2.	Dairi	γ -hemolisis
3.	Deli Serdang	γ -hemolisis
4.	Medan	β -hemolisis
5.	Karo	γ -hemolisis
6.	Labuhan Batu	γ -hemolisis
7.	Langkat	β -hemolisis
8.	Madina	α -hemolisis
9.	Nias	α -hemolisis
10.	Simalungun	α -hemolisis
11.	Tapanuli Selatan	β -hemolisis
12.	Tapanuli Tengah	γ -hemolisis
13.	Tapanuli Utara	β -hemolisis
14.	Tobasa	β -hemolisis

Tabel 2.
Diameter zona hambat antibiotik terhadap isolat *S. aureus* dari Sumatera Utara

No.	Asal isolat	Zona Hambat				
		P	M	A	K	T
1.	Asahan	19.32 ^l	20.68 ^s	17.54 ^R	10.77 ^R	27.95 ^s
2.	Dairi	31.95 ^s	25.55 ^s	34.50 ^s	29.80 ^s	31.92 ^s
3.	Deli Serdang	35.12 ^s	20.06 ^s	16.62 ^R	27.50 ^s	30.62 ^s
4.	Medan	30.70 ^s	21.45 ^s	34.02 ^s	16.87 ^l	27.72 ^s
5.	Karo	43.87 ^s	35.62 ^s	42.87 ^s	29.20 ^s	43.42 ^s
6.	Labuhan Batu	24.40 ^s	28.80 ^s	25.95 ^s	10.67 ^R	18.05 ^s
7.	Langkat	39.85 ^s	22.95 ^s	40.30 ^s	13.30 ^l	24.27 ^s
8.	Madina	37.55 ^s	24.17 ^s	41.60 ^s	16.30 ^l	36.05 ^s
9.	Nias	30.02 ^s	23.20 ^s	31.30 ^s	17.62 ^l	32.49 ^s
10.	Simalungun	24.20 ^s	23.30 ^s	21.55 ^s	23.30 ^s	21.17 ^s
11.	Tapanuli Selatan	41.92 ^s	24.70 ^s	40.20 ^s	29.72 ^s	33.25 ^s
12.	Tapanuli Tengah	40.99 ^s	29.21 ^s	41.30 ^s	29.97 ^s	31.52 ^s
13.	Tapanuli Utara	33.45 ^s	22.17 ^s	32.70 ^s	24.65 ^s	27.85 ^s
14.	Tobasa	34.26 ^s	28.05 ^s	34.02 ^s	16.55 ^l	11.80 ^l

Keterangan: P: penisilin, M: metisilin, A: amoksisilin, K: kloramfenikol, T: sulfametoksazol trimetoprim. R: resisten, l: intermediet (sedang), s: sensitif.

Beberapa isolat menunjukkan resistensi intermediet pada antibiotik penisilin seperti isolat Asahan, resistensi intermediet pada kloramfenikol seperti isolat asal Medan, Langkat, Madina, Nias dan Tobasa, dan resistensi intermediet pada sulfametoksazol trimetoprim seperti pada isolat Tobasa. Resistensi terhadap kloramfenikol terjadi pada isolat asal Asahan dan Labuhan Batu. Resistensi terhadap amoksisilin terjadi pada isolat asal Asahan dan Deli Serdang. Sebagian besar mikroorganisme yang resisten terhadap obat muncul akibat perubahan genetik dan proses seleksi. Obat antimikroba berguna

sebagai mekanisme seleksi untuk menekan mikroorganisme yang peka dan membantu pertumbuhan mutan yang resisten terhadap obat. Selain itu gen dalam plasmid untuk resistensi antimikroba seringkali dapat mengendalikan pembentukan enzim-enzim yang sanggup merusak obat antimikroba. Plasmid dapat mengatur enzim yang merusak kloramfenikol (asetiltransferase), enzim yang mengasetilase, mengadenilase atau memfosforilase aminoglikosida¹³.

KESIMPULAN

Dari penelitian ini disimpulkan bahwa secara umum terdapat kemampuan melisis darah yang berbeda pada isolat asal Sumatera Utara. Isolat *S. aureus* asal Sumatera Utara masih sensitif terhadap antibiotik yang diujikan (penisilin, metisilin, amoksisilin, kloramfenikol, dan sulfametoksazol trimetoprim). Resistensi terhadap kloramfenikol terjadi pada isolat asal Asahan dan Labuhan Batu, sedang resistensi terhadap amoksisilin terjadi pada isolat asal Asahan dan Deli Serdang.

DAFTAR PUSTAKA

- Jarraud, S., Mougél, C., Thioulouse, J., Lina, G., Meugnier, H., Forey, F., Nesme, X., Etienne, J. & Vandenesch, F. 2002. Relationships Between *Staphylococcus aureus* Genetic Background, Virulence Factors, Agr Group (Alleles), and Human Disease. *Infect. Immun.* 67: 5001-5006.
- Zadoks, R., Van Leeuwen, W.B., Barkema, H., Sampimon, O., Verbrugh, H., Schukken, Y.H. & Van Belkum, A. 2000. Application of Pulsed-Field Gel Electrophoresis and binary Typing as Tools in Veterinary Clinical Microbiology and Molecular Epidemiologic analysis of Bovine and Human *Staphylococcus aureus* Isolates. *J. Clin. Microbiol.* 38: 1931-1939.
- Zadoks, R.N, Van Leeuwen, W.B., Kreft, D., Fox, L.K., Barkema, H.W., Schukken, Y.H. & Van Belkum, A. 2002. Comparison of *Staphylococcus aureus* Isolates from Bovine and Human Skin, Milking Equipment, and Bovine Milk by Phage Typing, Pulsed-Field Gel Electrophoresis, and Binary Typing. *J.Clin. Microbiol.* 40: 3894-3902.
- Beisher, L. 1991. *Microbiology In Practice: A Self - Instructional Laboratory Course*. 5thEd. Harper Collins Publishers, New York. hlm. 224-227; 449-450.
- Kiser, K.B., Cantey-Kiser, J.M. & Lee, J.C. 1999. Development and Characterization of *Staphylococcus aureus* Nasal Colonization Model in Mice. *Infect. Immun.* 67: 5001-5006.
- Carricajo, A., Treny, A., Fonsale, N., Bes, M., Reverdy, M.E., Gille, Y., Aubert, G., & Freydiere, A.M. 2001. Performance Of The Chromogenic medium CHROMagar Staph. aureus and the Staphychrom Coagulase test in the Detection and Identification of *Staphylococcus aureus* In Clinical Specimens. *J.Clin.Microbiol.* 39: 2581-2583.
- Van Leeuwen, W.B., Van der Velden, J., Van Leeuwen, N., Heck, M. & Van Belkum, A. 1999. Validation of Binary Typing for *Staphylococcus aureus* strain. *J. Clin. Microbiol.* 37: 664-674.
- Tortora G.J., Funke, B.R., & Case, C.L. 2001. *Microbiology an Introduction*. 7th Ed. Benjamins cummings Imprint of Addison-Wesley Longman.Inc, New York. hlm.19: 323-324.
- Sudarmono, P. 1993. *Genetika dan Resistensi: Buku Ajar Mikrobiologi Umum*. Edisi Revisi oleh Staff Pengajar FKUI. Binarupa Aksara, Jakarta. hlm.33-38.
- Martineau, F., Picard, F.J., Roy, P.H., Ouellette, M. & Bergeron, M.G. 1998. Species-specific and Ubiquitous-DNA-Based Assays for Rapid Identification of *Staphylococcus aureus*. *J. Clin. Microbiol.* 36: 618-623.
- Cappucino, J.G. & Sherman, N.1996. *Microbiology: A Laboratory Manual*. 4thEd. Addison-Wesley Publishing Company. hlm. 263-266; 373-374.
- Lay, B. W. 1998. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. PT Raja Grafindo Persada, Jakarta. hlm. 111.
- Jawetz, E., Melnick, J., & Adelberg, E. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran*. Diterjemahkan oleh Edi Nugroho & Maulany, R.F. Edisi 20. EGC, Jakarta. hlm. 153-158; 211-217.