

Resistensi Staphylococcus Koagulase Positif terhadap Antibiotik Non Beta Laktam Isolat dari Kasus Pyoderma pada Anjing**Non Beta Lactam Antibiotics Resistance in Coagulase Positive Staphylococcus Isolated from Canine Pyoderma****¹Muhammad Helmi Effendi, ²Dhara Pieshesa, ²Djoko Galiono**¹Fakultas Kedokteran Hewan Unair²PPDH Fakultas Kedokteran Hewan Unair

Kampus C Unair, Jl. Mulyorejo Surabaya – 60115

Telp. 031-5992785, Fax. 031-5993014

Email : vetunair@telkom.net

Abstract

This experiment was designed to show the resistance of coagulase-positive Staphylococcus from canine pyoderma by sensitivity test by using non beta lactam antibiotics. This research was an exploratory laboratory study using non probability purposive sampling type. Preparation of pure culture were confirmed by MSA, catalase and coagulase test. Sample was taken from 1 dog which has lesions of canine pyoderma. Swab sample of pus was cultured in MSA and observed the growing colony which did not ferment mannitol, and the result of catalase and coagulase test were positive. The isolate was suspect as Staphylococcus intermedius. Isolate was tested by non beta-lactam antibiotics using disc diffusion method by Kirby-Bauer. The result of this study showed that isolate of coagulase-positive Staphylococcus resistant to non beta-lactam antibiotics.

Keywords : Pyoderma, coagulase-positive Staphylococcus, non beta-lactam**Pendahuluan**

Staphylococcus merupakan flora normal kulit yang dapat menyebabkan infeksi. Khususnya spesies Staphylococcus koagulase positif yang bersifat patogen. Pada anjing, *Staphylococcus intermedius* adalah penyebab dari sebagian besar kasus pyoderma (Keith, 2006). Golongan [Staphylococcus](#), memiliki enzim [betalaktamase](#) yang dapat memecah cincin beta-laktam pada antibiotik tersebut dan membuatnya menjadi tidak aktif (Fontana *et al*, 1990). Penggunaan berbagai macam antibiotik untuk mengobati infeksi staphylococcus pada anjing menyebabkan munculnya strain resisten (Watson dan Rosin, 2000; Prescott., *et al* 2002).

Antibiotika adalah zat kimia yang dihasilkan mikroba (bakteri, jamur, actinomices) dan mampu menekan atau membasmi pertumbuhan mikroba lain (Entjang, 2003). Antibiotik non beta laktam dapat diklasifikasikan menjadi 5 golongan, yaitu golongan Aminoglikosida, Quinolon, Sulfonamida, Makrolida, Tetrasiklin. Masing-

masing mempunyai struktur dan aktivitas yang berbeda dalam menghadapi bakteri patogen (Bruce dan Kenneth., 1999). Antibiotik non beta laktam yang dipakai dalam penelitian ini adalah golongan Tetrasiklin, Aminoglikosida dan Makrolida.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui resistensi isolat bakteri Staphylococcus koagulase positif dari kasus pyoderma pada anjing terhadap antibiotik non beta laktam.

Materi dan Metode Penelitian**Bahan dan Alat Penelitian**

Penelitian ini menggunakan 1 sampel yang diambil dari anjing yang mengalami lesi – lesi dalam pada kulit dan mengalami pernanahan, dimana pemilihannya menggunakan teknik sampling *non probability sampling* dan sifatnya purposif. Kriteria pemilihan anjing adalah terdapat pyoderma (lesi, nanah pada kulit).

Isolasi dan identifikasi sampel

Isolat Staphylococcus yang diperoleh dengan cara swab berasal dari nanah pada anjing yang mengalami pyoderma. Swab pada kulit menggunakan *cotton butt* steril. Sampel ditumbuhkan dan dimurnikan pada *Manitol Salt Agar* (MSA), inkubasi dalam suhu 37° C selama 24 jam. Setelah terlihat pertumbuhan koloni pada MSA, kemudian dilakukan pewarnaan gram, uji katalase, uji fermentasi mannitol dan uji koagulase pada koloni yang tumbuh. Pengujian katalase merupakan cara identifikasi bakteri dengan cara meneteskan cairan H₂O₂ 3 % pada sampel. Tes katalase positif bila terjadi gelembung udara (gas O₂). Uji fermentasi mannitol dilakukan dengan menanam koloni staphylococcus pada MSA, kemudian diinkubasi 37° C selama 24 jam, apabila bakteri dapat tumbuh dan hasil positif terjadi fermentasi mannitol adanya perubahan warna media dari merah menjadi kuning. Fermentasi mannitol merupakan ciri *Staphylococcus aureus* (Cappucino dan Sherman, 2005). Uji koagulase dilakukan dengan menginokulasikan koloni yang tumbuh pada media MSA ke media BHI (Brain Heart Infusion), setelah itu inkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam. Kemudian ditambah plasma kelinci, setelah itu diinkubasi kembali pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil positif bila terjadi aglutinasi atau gumpalan.

Uji Resistensi

Pemeriksaan uji resistensi kuman terhadap antibiotik dilakukan dengan Uji Sensitivitas. Penelitian ini menggunakan Metode diffuse disk, bakteri yang digunakan

dalam metode ini adalah mempunyai kekeruhan sesuai dengan standart Mac Farland no. 0,5 – 1. Setelah sesuai dengan standart kekeruhan, inokulasikan 0,2 ml suspensi sampel pada MHA, kemudian letakkan *paper disk* antibiotik non beta laktam, Tetrasiklin 30 µg, Kanamisin 30 µg dan Eritromisin 15 µg, di atasnya. Inkubasi 37° C selama 24 jam. Hasil pengujian metode ini, ditunjukkan dengan adanya daerah bening/jernih di sekeliling paper disk (cakram), sebagai daerah hambatan (zona inhibisi) pertumbuhan kuman. Zona inhibisi hasil penelitian dianalisa dengan interpretasi zona inhibisi standart Kirby Beuer.

Hasil dan Pembahasan

Hasil uji katalase mengkonfirmasi bahwa koloni bakteri hasil isolasi menunjukkan hasil positif. Sehingga sampel penelitian adalah positif bakteri *Staphylococcus*. Hasil pengamatan mikroskopis menunjukkan bahwa bakteri adalah bakteri Gram positif, bentuk coccus (bulat) dan bergerombol. Uji koagulase yang dilakukan pada sample menunjukkan bahwa sample mengkoagulase plasma kelinci. Koagulase positif merupakan tanda klinis untuk bakteri staphylococcus yang bersifat pathogen (Bannerman, 2003). Uji fermentasi mannitol pada sample menunjukkan bahwa sample dapat tumbuh pada MSA namun tidak memfermentasi mannitol karena warna media tetap merah sehingga bakteri yang diperoleh dari sampel diduga sebagai bakteri *Staphylococcus intermedius*.



Gambar 1. Koloni Staphylococcus yang ditumbuhkan pada media MSA

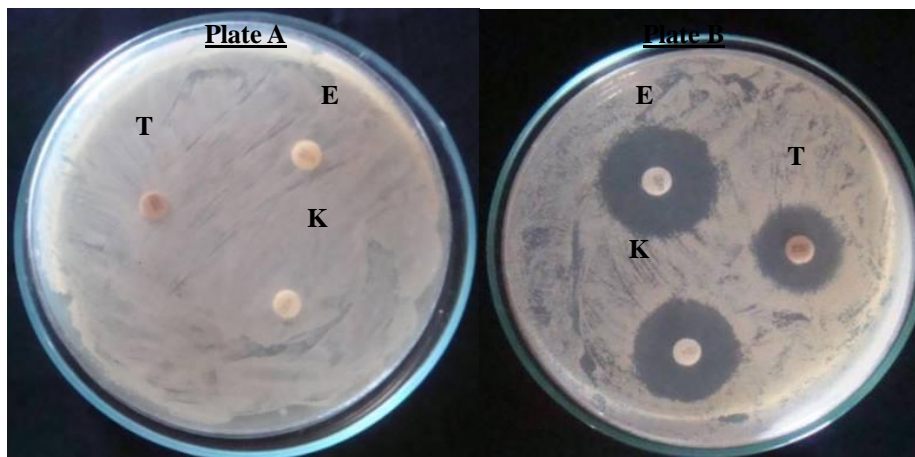
Uji resistensi antibiotik dilakukan dengan menggunakan metode difusi test Kirby Beuer. Cakram antibiotik non beta laktam yang digunakan adalah Tetrasiklin 30 µg , Kanamisin 30 µg dan Eritromisin 15 µg. Dilakukan pembuatan kontrol sebagai

komparasi terhadap uji resistensi yang dilakukan terhadap sampel. Kontrol menggunakan bakteri standart ATCC *Staphylococcus aureus* (25923). Hasil pengukuran dapat dilihat pada tabel berikut ini:

Tabel 1. Hasil Pengukuran Zona Inhibisi pada uji resistensi antibiotik terhadap sampel, dan kontrol dengan media MHA dan inkubasi 37° C selama 24 jam.

Antibiotik	Sampel (A)	Kontrol (B)
Tetrasiklin 30 Ug	R	20 mm (S)
Kanamisin 30 Ug	R	23 mm (S)
Eritromisin 15 Ug	R	26 mm (S)

Keterangan : (R) : Resisten ; (S) : Sensitif



Gambar 2. Hasil Uji Resistensi Antibiotik.

Keterangan :

1. **Plate (A)** : Sampel
2. **Plate (B)** : Kontrol : menggunakan bakteri standart ATCC *Staphylococcus aureus* (25923)
3. **E** : Eritromisin
4. **T** : Tetrasiklin
5. **K** : Kanamisin

Hasil uji resistensi pada kontrol menunjukkan tingkat sensitivitas yang berbeda, pada tetrasiklin membentuk zona inhibisi sebesar 20 mm, pada kanamisin membentuk zona inhibisi sebesar 23 mm, dan pada eritromisin membentuk zona inhibisi sebesar 26 mm. Hasil uji resistensi antibiotik pada sampel menunjukkan resistensi yang sama terhadap 3 jenis antibiotik non beta laktam penelitian. Pengukuran zona inhibisi tidak dapat dilakukan karena ketiganya tidak membentuk

zona inhibisi. Hal ini menunjukkan bahwa resistensi telah terjadi pada tetrasiklin, eritromisin dan kanamisin terhadap bakteri isolat.

Hasil penelitian ini didukung dengan hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Ganiere *et al.*, (2005) yang menyatakan bahwa isolat *Staphylococcus intermedius* dari kasus pyoderma pada anjing yang resisten terhadap eritromisin, juga resisten terhadap kanamisin, dan Arabi *et al.*, (2006) yang

menyatakan bahwa tetrasiklin tidak dianjurkan untuk pengobatan infeksi kulit pada anjing yang disebabkan oleh Staphylococcus.

Resistensi Staphylococcus untuk makrolida terutama disebabkan methylases eritromisin-resistensi (*erm*), yang menyebabkan modifikasi situs target. Pengaktifan efflux dan inaktivasi enzim juga telah dilaporkan oleh Schwarz dan Noble (1999). Modifikasi target adalah mekanisme yang paling umum dan melibatkan dimetilasi residu adenin dalam rRNA 23S (Werckenthin et al., 2001). Empat gen rRNA methylase (*erm*) yaitu, *erm* (A), *erm* (B), *erm* (C) dan *erm* (F) telah diidentifikasi dalam staphylococcus yang berasal dari hewan (Werckenthin dan Schwarz 2000). Penyebaran gen – gen ini sangat spesifik di antara genus staphylococcus yang berasal dari hewan, dengan *erm* (B) yang paling mendominasi gen isolat Staphylococcus intermedius pada anjing (Boerlin et al., 2001).

Resistensi tetrasiklin terjadi bila membran sel mengalami impermeable terhadap obat atau terdapat peningkatan efflux (Neal, 2006). Empat gen, tet (L), tet (K), tet (M) dan tet (O) penyandi resistensi tetrasiklin telah diidentifikasi dalam spesies Staphylococcus (Schwarz et al., 1998a; Werckenthin et al., 2001; Kim et al., 2005). Keempat gen ini berperan penting dalam mekanisme resistensi seperti aktivasi efflux pump dan perlindungan pada ribosom (Roberts 1996). Gen tet (M) telah terdeteksi terutama pada *S. intermedius* resisten tetrasiklin isolat asal anjing (Schwarz et al., 1998b).

Pemakaian antibiotik golongan Aminoglikosida pada hewan telah meluas dan resistensi terhadap streptomisin, neomisin dan kanamisin merupakan fenomena umum pada hewan (Prescott et al., 2000). Khusus terhadap aminoglikosida, resistensi bakteri dapat terjadi melalui mekanisme intrinsik (kegagalan antibiotika masuk ke dalam sel), perubahan permeabilitas membran sel, perubahan pada ribosom maupun pembentukan enzim yang menginaktifkan antibiotika (Sjahrurachman, 1996). Gen penyandi yang berperan dalam resistensi Staphylococcus terhadap aminoglikosida adalah acetyltransferases (ACT), nucleotidyltransferases (ANT) dan phosphotransferases (APH) (Shaw et al., 1993).

Antibiotika non beta laktam dalam penelitian ini tidak efektif untuk mengobati infeksi yang disebabkan oleh bakteri Staphylococcus. Hal ini telah ditunjukkan oleh isolat, yang menunjukkan hasil resisten terhadap antibiotik non beta laktam pada uji sensitivitas.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ditemukan resistensi isolat Staphylococcus koagulase positif dari kasus pyoderma pada anjing terhadap antibiotik non beta laktam, tetrasiklin, eritromisin, dan kanamisin sehingga antibiotika non beta laktam tidak dapat dijadikan sebagai pilihan utama dalam pengobatan infeksi Staphylococcus.

Daftar Pustaka

- Arabi, O.H., Mutalib, A., Abdul Aziz. S., Sheikh Omer, A., and Son Radu., 2006., Isolation Identification, Antibiotic Susceptibility and Plasmid Profiles of Staphylococcus intermedius Isolated from Dogs and Cats. The Sudan J Vet Res 21.
- Bannerman, T. L. 2003. *Staphylococcus, Micrococcus*, and other catalase-positive cocci that grow aerobically, p. 384-404. In P. R. Murray, E. J. Baron, M. A. Pfaller, J. H. Jorgensen, and R. H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Boerlin, P., Burnens, A.P., Frey, J., Kuhnert, P. and Nicolet, J., 2001, Molecular epidemiology and genetic linkage of macrolide and aminoglycoside resistance in Staphylococcus intermedius of canine origin. Vet Microbiol 79, 155–169.
- Bruce, H, Woolley., and Kenneth Hunt, 1999., The Evolution of Antibiotics. Collegium Aesculapium.
- Cappuccino, J. G. and N. Sherman. 2005. Microbiology: A Laboratory Manual. 7th ed. Pearson Education Inc. USA. 101 - 102, 117, 164, 166, 189, 204, 409 - 416, 509 - 512.
- Entjang, I., 2003, Mikrobiologi dan Parasitologi. Citra Aditya Bakti. Bandung

- Fontana., P. Canepari, M. M. Lledò, G. Satta, 1990. "Mechanisms of resistance of enterococci to beta-lactam antibiotics". *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 9 (2): 103-105.
- Ganiere JP, Medaille C, Mangion C. 2005., Antimicrobial drug susceptibility of *Staphylococcus intermedius* clinical isolates from canine pyoderma *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health*. Feb;52(1):25-31.
- Keith A. Hnilica, 2006., *Staphylococcus Pyoderma.*, The University of Tennessee
- Kim, T.J., Na, Y.R. and Lee, J.I. 2005., Investigations into the basis of chloramphenicol and tetracycline resistance in *Staphylococcus intermedius* isolates from cases of pyoderma in dogs. *J Vet Med B* 52, 119–124.
- Neal, J. Michael. 2006., *At a Glance Farmakologis Medis edisi 5.* Penerbit: Erlangga
- Prescott, J.F., Hanna, W.J., Reid-Smith, R. and Drost, K. (2002) Antimicrobial drug use and resistance in dogs. *Can Vet J* 43, 107–116.
- Prescott, J.F., Baggot, J.D. and Walker, D.R. (2000) *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine*, 3rd edn. pp. 1–771. Ames: Iowa State University Press.
- Roberts, M.C., 1996., Tetracycline resistance determinants: mechanisms of action, regulation of expression, genetic mobility and distribution. *FEMS Microbiol Rev* 19, 1–24.
- Schwarz, S., Lange, C. and Werckenthin, C. 1998a., Molecular analysis of the macrolide-lincosamide resistance gene region of a novel plasmid from *Staphylococcus hyicus*. *J Med Microbiol* 47, 63–70.
- Schwarz, S., Roberts, M.C., Werckenthin, C., Pang, Y. and Lange, C. 1998b., Tetracycline resistance in *Staphylococcus* spp. from domestic animals. *Vet Microbiol* 63, 217–227.
- Schwarz, S. and Noble, C.W. 1999., Aspects of bacterial resistance to antimicrobials used in veterinary dermatological practice. *Vet Dermatol* 10, 163–176.
- Shaw, K.J., Rather, P.N., Hare, R.S. and Miller, G.H. 1993., Molecular genetics of aminoglycosides resistance genes and familial relationships of aminoglycosides-modifying enzymes. *Microbiol Rev* 57, 138–163.
- Sjahrurachman, Agus, 1996., *Resistensi Bakteri terhadap Aminoglikosida. Cermin Dunia Kedokteran No. 108.* Pusat Penelitian dan Pengembangan P.T. Kalbe Farma, Jakarta., Hal : 49 – 53.
- Watson, A.D.J. and Rosin, E. 2000, Antimicrobial drug use in dogs and cats. In *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine*, 3rd edn
- Werckenthin, C., Cardoso, M., Martel, J.L. and Schwarz, S. 2001., Antimicrobial resistance in staphylococci from animals with particular reference to bovine *Staphylococcus aureus*, porcine *Staphylococcus hyicus*, and canine *Staphylococcus intermedius*. *Vet Res* 32, 341–362.
- Werckenthin, C. and Schwarz, S. (2000) Molecular analysis of the translational attenuator of a constitutively expressed *erm(A)* gene from *Staphylococcus intermedius*. *J Antimicrob Chemother* 46, 785–788.

