UJI SENSITIVITAS ISOLAT *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* PATOGEN PADA ANJING TERHADAP BEBERAPA ANTIBIOTIK

Reina Puspita Rahmaniar
Laboratorium Mikrobiologi Fakultas kedokteran Hewan,
Universitas Wijaya Kusuma Surabaya

ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi *Staphylococcus aureus* pada anjing dan untuk mengetahui perkembangan resistensi antibiotik terhadap *Staphylococcus aureus* pada anjing. Sampel diambil dari 20 penyeka hidung anjing. Sampel pertama kali dilapisi pada Mannitol Salt Agar (MSA), ada zona kuning yang diduga sebagai *Staphylococcus aureus*. Sampel diidentifikasi sebagai *Staphylococcus aureus* oleh morfologi koloni, pewarnaan Gram, beta hemolise dalam larutan Darah, uji katalase, uji koagulase dan uji VP. Isolat ini diidentifikasi sebagai *Staphylococcus aureus* yang diuji untuk sensitivitas antibiotik dengan metode difusi cakram Kirby-Bauer. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa 13 dari 20 sampel (65%) diduga sebagai *Staphylococcus aureus*. Persentase resistensi isolat *Staphylococcus aureus* patogen adalah sebagai berikut: Oxacillin 61,5%, Amoksisilin 23%, Clindamicin 23%, Vancomicin 7,7% dan Cefotaxime 0%.

Kata Kunci: *Staphylococcus aureus*, Resistensi antibiotik, Anjing, Uji sensitivitas

Pendahuluan

Permasalahan resistensi *Staphylococcus aureus* terhadap antibiotik menjadi ancaman yang serius bagi masyarakat karena infeksi yang ditimbulkan lebih sulit untuk diobati daripada infeksi *Staphylococcus* pada umumnya dan bakteri tersebut tidak merespon dengan baik banyak antibiotik yang umum digunakan untuk membunuh bakteri sehingga pengobatan menjadi sulit dilakukan (Batabyal *et al.*, 2012). Penularan dari manusia ke hewan ataupun sebaliknya dapat terjadi mengingat pada saat ini hewan peliharaan sering dianggap dan diperlakukan sebagai anggota keluarga, sehingga memungkinkan terjadinya kontak fisik antara manusia dan hewan peliharaan yang dapat mengakibatkan terjadinya transmisi bakteri (Faires *et al.,* 2009).

Hal tersebut tentu menjadi masalah kesehatan masyarakat potensial karena hewan peliharaan dapat menjadi sumber infeksi bakteri *staphylococcus aureus* pada manusia (zoonosis), dengan kata lain hewan peliharaan dapat bertindak sebagai reservoir dalam menyebarkan infeksi pada manusia apabila kontak dengan hewan tersebut (*Institute for International Cooperation in Animal Biology*, 2011).

Infeksi bakteri tersebut dapat menyebabkan komplikasi serius dan menjadi bahaya baru bagi manusia karena dapat menyebabkan berbagai infeksi, mulai dari infeksi kulit ringan, infeksi pembuluh darah, pneumonia,

pericarditis hingga infeksi sistem saraf pusat (Doyle *et al.*, 2011).

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka perlu dilakukan penelitian mengenai *Staphylococcus aureus* yang resisten pada hewan sehingga pengobatan dapat dilakukan secara tepat dan penyebarannya juga dapat dicegah.

Metode Penelitian

Pengambilan sampel dilakukan pada anjing sakit dengan kriteria secara pemeriksaan fisik tidak normal dan menunjukkan gejala sakit seperti diare, muntah, tremor maupun anjing sehat. Sampel diambil menggunakan *cotton swab* steril, setelah itu sampel swab mukosa hidung tersebut segera dimasukkan ke media pepton water kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37^{o}C. Setelah itu dilakukan isolasi bakteri pada media *Mannitol Salt Agar* (MSA).

Isolat yang berasal media MSA dilakukan pewarnaan gram, uji katalase, koagulase, dan penanaman bakteri pada media *Blood agar* (BA) untuk melihat adanya hemolisa. Selain itu dilakukan juga uji *Voges Proskauer* (VP) untuk membedakan *Staphylococcus aureus* dengan VP positif dan *Staphylococcus intermedius* dengan VP negatif (Hendrix dan Sirois, 2007). Selanjutnya dilakukan uji kepekaan terhadap antibiotika menggunakan metode difusi agar *Kirby Bauer*. Biakan kuman ditanam pada tabung reaksi yang berisi 5 ml *Nacl fisiologis*, dilakukan homogenisasi sampai didapatkan kekeruhan yang sama dengan standart *Mc.Farland* 0,5 selanjutnya dengan menggunakan *cotton swab,* suspensi diusapkan pelan-pelan pada seluruh permukaan media *Mueller Hinton Agar* (MHA) dan cakram antibiotik *Oxacillin* 0,1 µg, *Amoxicillin* 25 µg, *Vancomycin* 30 µg, *Clindamicin* 2 µg dan *Cefotaxim* 30 µg di letakkan pada media tersebut. Biakan bakteri diinkubasi 37^{o}C selama 24 jam dan diukur zona hambatannya menggunakan penggaris.

Hasil dan Pembahasan

Hasil dari isolasi dan identifikasi didapatkan 13 sampel positif *Staphilococcus aureus* dilanjutkan uji sensitivitas antibiotik.

Tabel 1. Hasil Uji Sensitivitas Antibiotik.

No	Sampel	Antibiotik (Oxoid)				
		Oxacillin 0,1 µg (mm)	Amoxicillin 25 µg (mm)	Clindamycin 2 µg (mm)	Vancomicin 30 µg (mm)	Cefotaxime 30 µg (mm)
1.	Staph 1	25 (S)	35 (S)	30 (S)	25 (S)	32 (S)
2.	Staph 2	6 (R)	37 (S)	34 (S)	24 (S)	35 (S)
3.	Staph 3	6 (R)	2 (R)	6 (R)	30 (S)	30 (S)
4.	Staph 4	20 (S)	33 (S)	23 (S)	21 (S)	30 (S)
5.	Staph 5	6 (R)	6 (R)	20 (I)	25 (S)	40 (S)
6.	Staph 6	20 (S)	20 (S)	26 (S)	20 (S)	30 (S)
7.	Staph 7	6 (R)	30 (S)	25 (S)	27 (S)	30 (S)
8.	Staph 8	20 (S)	33 (S)	26 (S)	21 (S)	31 (S)
9.	Staph 9	6 (R)	33 (S)	26 (S)	23 (S)	29 (S)
10.	Staph 10	6 (R)	32 (S)	25 (S)	22 (S)	30 (S)
11.	Staph 11	20 (S)	33 (S)	25 (S)	25 (S)	34 (S)
12.	Staph 12	6 (R)	40 (S)	6 (R)	6 (R)	32 (S)
13.	Staph 13	9 (R)	13 (R)	13 (R)	14 (S)	17 (I)

Ket: S adalah *Sensitive*, I adalah *Intermediate*, R adalah *Resistance*,dan Staph adalah Staphylococcus aureus. Diameter zona hambat pada Tabel diatas dalam satuan millimeter (mm) disesuaikan berdasarkan NCCLS (National Comitte for Clinical Laboratory Standarts)

Tabel 2. Hasil Uji Kepekaan (%) Antibiotika Terhadap *Staphylococcus aureus*

	Oxacillin	*Amoxicillin*	*Clindamicin*	*Vancomicin*	*Cefotaxime*
Sensitive	38,5 %	77 %	69,3 %	92,3 %	92,3 %
Intermediate	-	-	7,7 %	-	7,7 %
Resisten	61, 5 %	23%	23 %	7,7 %	-

Penelitian ini telah berhasil mengisolasi 13 bakteri *Staphylococcus aureus* dengan karakteristik memfermentasi mannitol ditunjukkan dengan adanya zona kuning pada media MSA (*Mannitol Salt Agar)*, menghemolisa darah pada media BA (*Blood Agar)*, bentuk *coccus,* bergerombol, gram positif, katalase, koagulase dan uji VP positif. *Staphylococcus aureus* tersebut sangat potensial untuk menyebabkan penyakit meskipun sebagai flora normal, hal tersebut dikarenakan bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki faktor virulensi yang lebih banyak dibandingkan genus *Staphylococcus lainnya* (Novick, 2003).

Infeksi yang disebabkan oleh *Staphyloccus aureus* tersebut sangat bervariasi, hal ini tergantung pada faktor virulensi, situs dan waktu infeksi. Infeksi kulit paling sering dijumpai akibat dari infeksi *Staphylococcus aureus*. Apabila *Staphylococcus aureus* menembus penghalang kulit dan berhasil menghindar dari sistem kekebalan tubuh host maka dapat mengakibatkan infeksi serius, termasuk sepsis, septic arthritis, osteomyelitis, dan endokarditis (Morell *et al.,* 2010).

Uji Resistensi yang digunakan adalah metode *agar diffusion* (difusi agar) dimana metode ini didasarkan pada difusi antibiotik dari *paper disk* yang dipasang horizontal pada lapisan agar padat dalam cawan petri sehingga mikroba yang ditumbuhkan dihambat pertumbuhannya pada daerah berupa lingkaran atau zona yang disekeliling *paper disk* yang mengandung larutan antibiotik. metode ini menghasilkan kategori kualitatif dengan penilaian *sensitif, intermediete dan resistent* (Anand *et al.,* 2009).

Metode ini dipengaruhi banyak faktor fisik dan kimiawi di samping interaksi antara obat dengan organisme, misalnya pembenihan dan daya difusi, ukuran molekul dan stabilitas obat. Kesulitan terbesar adalah laju pertumbuhan yang beragam diantara berbagai mikroorganisme (Lopez-Lazaro *et al*., 2000).

Perkembangan resistensi antibiotik pada bakteri disebabkan dua hal penting yaitu penggunaan antibiotik yang berlebihan dan adanya gen resisten. Ada hubungan yang sangat erat antara perkembangan resistensi antibiotik dengan jumlah penggunaan antibiotik (Lopez-Lazaro *et al*., 2000). Saat bakteri mengalami resistensi maka pengobatan akan sulit dilakukan, membutuhkan biaya yang besar dan hasilnya belum tentu berhasil.

Pada dasarnya terdapat tiga mekanisme kerja antibiotik (Sawant, 2005); yaitu penghambatan sintesa dinding sel, penghambatan sintesa protein dan penghambatan sintesa asam nukleat. Dinding sel bakteri mengandung peptidoglikan, merupakan rantai peptida dan glikan secara kovalen *cross linked.* Hubungan tersebut memerlukan enzim transpeptidase untuk merapatkannya (Katayama *et al.,* 2003). Antibiotik betalaktam (*Penicillin, ampicillin*, *sefalosporin*) mengikat enzim *transpeptidase* dan menghambat sintesis dinding sel. Enzim *transpeptidase* disebut juga *penicillin binding proteins* (Walsh, 2000).

Resistensi terhadap antibiotik dapat terjadi melalui empat mekanisme utama: pemindahan tempat target antibiotik (seperti perubahan dalam *penicillin binding proteins)*, pemecahan obat dan inaktivasi enzimatik dari antibiotik (*penicillinase),* perubahan permeabilitas dinding sel yang mencegah masuknya antibiotik dan peningkatan aktifitas tekanan dalam sel yang mencegah akumulasi antibiotik didalam sel (Wise, 1999).

Penelitian ini berhasil mengisolasi *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap beberapa antibiotika. Sebanyak tiga sampel resisten terhadap *Amoxicillin* 25 µg dengan ukuran zona hambat ≤ 19, sebanyak tiga sampel resisten terhadap antibiotik *Clindamicin* 2 µg, dengan ukuran zona hambat ≤ 14 dan satu sampel resisten terhadap antibiotik *Vancomycin* 30 µg, dengan ukuran zona hambat ≤ 9, sedangkan pada pengujian dengan antibiotik *Cefotaxime* 30 µg, semua sampel tidak ada yang mengalami resistensi.

Hal tersebut dapat terjadi karena bakteri yang resisten terhadap salah satu anggota dari kelas antibiotik umumnya resisten juga pada berbagai tingkat untuk kelas antibiotik lainnya. Fenomena ini dikenal sebagai resistansi silang dan terjadi karena obat-obatan yang termasuk dalam kelas yang sama secara kimiawi memiliki target yang sama dalam sel bakteri. Akibatnya, pembatasan jenis penggunaan antibiotik yang diberikan dapat mempengaruhi resistensi terhadap anggota lain dari kelas antibiotik (Wistreich, 2006).

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan

bahwa Sebanyak 13 dari 20 sampel swab mukosa hidung anjing terdapat bakteri *Staphylococcus aureus* pada hewan sehat dan hewan yang menunjukkan gejala sakit. Sebanyak delapan sampel resisten terhadap antibiotik *Oxacillin* 0,1 µg, tiga sampel resisten terhadap *Amoxicillin* 25 µg, tiga sampel resisten terhadap antibiotik *Clindamicin* 2 µg, dan satu sampel resisten terhadap antibiotik *Vancomycin* 30 µg, sedangkan pada pengujian dengan antibiotik *Cefotaxime* 30 µg, semua sampel tidak ada yang mengalami resistensi.

Daftar Pustaka

Anand K.B., Agrawal P., Kumar S., and Kapila K. 2009. Comparison Of Cefoxitin Disc Diffusion Test, Oxacillin Screen Agar, And PCR For *MecA* Gene For Detection Of MRSA. Indian Journal of Medical Microbiology, 27(1): 27-9.

Batabyal, Kundus B., Gautam K.R., and Biswas S. 2012. Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus: A Brief Review. *International Research Journal of Biological Sciences* 1(7), 65-71.

Doyle M.E., Harmann A.F., and Lee Wong A.C. 2011. White Paper on Sources of *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) and Other *Methicillin-Resistant Staphylococci*: Implications for Our Food Supply. Food Research Institute, University of Wisconsin–Madison. http://fri.wisc.edu/docs/pdf/FRI_Brief_MRSA_Food Supply_Feb2011.pdf.

Faires C.M., Tater K.C., and Weese J. Scott. 2009. An investigation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in people and pets in the same household with an infected person or infected pet. In: Scientific Reports JAVMA, Vol 235, No. 5 September 1, 2009.

Hendrix, C. M. and Sirois. M. 2007. Laboratory Procedures for Veterinary Technicians. Fifth Edition. Mosby Elsevier. Canada. Page: 114-140.

Institute for International Cooperation in Animal Biology. 2011. *Methicilin Resistant Staphylococcus aureus.* Iowa State University College of Veterinary Medicine.//http.www.cfsph.iastate.edu/IICAB

Katayama Y., Zhang H.Z., and Chambers H.F. 2003. Effect of disruption of *Staphylococcus aureus* pbp4 Gene on Resistance to β-Lactam Antibiotics. Micro. Drug Resistant. 9:329-336.

Lopez-Lozaro, Monnet L., Yagüe D., Burgos A., Gonzalo A., Campillos N., and Saez M. 2000. Modelling and forecasting antimicrobial resistance and its dynamic

relationship to antimicrobial use: a time series analysis. International Journal of Antimicrobial Agents 14 (1): 21-31.

Morell E.A and Baikin D.M. 2010. Methicillin-resistant *Staphylococcus Aureus*: A Pervasive Pathogen Highlights the need for New Antimicrobial developm ent. Journal of biology and medicine 83, pp.223-233.

Novick R.P. 2003. Autoinduction and signal transduction in the regulation of staphylococcal virulence. Journal of molecular microbiology. 48(6):1429-49

Sawant A.A. 2005. Descriptive and molecular Epidemiology of Antibiotic Resistant Gram Negative Enteric Bacteria from Dairy Cattle. Thesis, the Pennsilvanis State University, USA.

Walsh C. 2000. Molecular mechanisms that confer Antibacterial Drug Resistance. Nature 404:775-781.

Wise R. 1999. A Review of the mechanisms of action and resistance of antimicrobial agent can. Resp. J. 6 Suppl: 20A

Wistreich G.A. 2006. Staphylococcus aureus, antibiotic Resistance mechanisms, mrsa and others. RC Educational Consulting Services, Inc.