



**Profil Plasmid pada *Staphylococcus aureus*
*Methicillin-Resistant***

Manuscript



**Disusun oleh :
Novi Ardiana
G1C014051**

**PROGRAM STUDI D IV ANALIS KESEHATAN
FAKULTAS ILMU KEPERAWATAN DAN KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SEMARANG
2018**

HALAMAN PERSETUJUAN

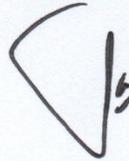
Manuscript dengan judul

**Profil Plasmid pada *Staphylococcus aureus*
Methicillin-Resistant**

Telah diperiksa dan disetujui untuk dipublikasikan

Semarang, September 2018

Pembimbing I



Dr. Sri Darmawati, M.Si
NIK. 28.6.1026.040

Pembimbing II



Aprilia Indra Kartika, S.Pd., M.Biotech
NIK. 28.6.1026.354

**SURAT PERNYATAAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Novi Ardiana
NIM : G1C014051
Fakultas/Jurusan : Ilmu Keperawatan dan Kesehatan/Program Studi DIV Analisis Kesehatan
Jenis Penelitian : Skripsi
Judul : Profil Plasmid pada *Staphylococcus aureus Methicillin-Resistant*
Email : noviardiana70@gmail.com

Dengan ini menyatakan bahwa saya menyetujui untuk :

1. Memberikan hak bebas *royalty* kepada Perpustakaan Unimus atas penulisan skripsi saya, demi pengembangan ilmu pengetahuan.
2. Memberikan hak menyimpan, mengalih mediakan/mengalih formatkan, mengelola dalam bentuk pangakalan data (database), mendistribusikannya, serta menampilkannya dalam bentuk *softcopy* untuk kepentingan akademis kepada Perpustakaan Unimus, tanpa perlu meminta izin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta.
3. Bersedia dalam menjamin untuk menanggung secara pribadi tanpa melibatkan pihak Perpustakaan Unimus, dari semua bentuk tuntutan hukum yang timbul atas pelanggaran hak cipta dalam karya ilmiah ini.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan semoga dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Semarang, September 2018

Yang Menyatakan



Novi Ardiana

Profil Plasmid pada *Staphylococcus aureus* *Methicillin-Resistant*

Novi Ardiana¹, Sri Darmawati^{2,3}, Aprilia Indra Kartika³

¹Program Studi DIV Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang.

²Laboratorium Bakteriologi, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang.

³Laboratorium Biologi Molekuler, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang.

Info Artikel	Abstrak
Keywords <i>Staphylococcus aureus</i> , MRSA, Resistensi, Profil Plasmid.	Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> merupakan salah satu penyebab infeksi nosokomial yang memiliki kemampuan <i>antimicroba resistance</i> . Mekanisme resistensi dapat dilihat dari aktifnya gen penyandi resisten yang dominan terdapat di dalam plasmid. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui profil plasmid pada <i>S.aureus Methicillin-Resistant</i> dengan menggunakan metode elektroforesis DNA. Hasil uji kepekaan antibiotik 3 strain <i>S.aureus</i> sampel <i>S.aureus</i> Pus MRSA 1, <i>S.aureus</i> Pus MRSA 2 dan <i>S.aureus</i> Pus MRSA 3 menunjukkan resisten terhadap antibiotik <i>oxacillin</i> dan <i>gentamicin</i> . Hasil isolasi plasmid setelah di elektroforesis menunjukkan pita tunggal pada ukuran tinggi mendekati 24000 bp. Hal ini dapat disimpulkan pita DNA tunggal yang tervisualisasi bukan merupakan plasmid namun genom. Semua sampel dalam penelitian tidak memiliki plasmid tetapi hanya terlihat genom, namun memiliki sifat resistensi antibiotik.
Pendahuluan Penyakit infeksi merupakan jenis penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme salah satunya bakteri. Penyakit infeksi banyak diderita oleh penduduk di negara berkembang, termasuk Indonesia (Gibson, 1996). <i>Staphylococcus aureus</i> (<i>S.aureus</i>) merupakan bakteri yang bersifat patogen oportunistik yang menjadi salah satu penyebab infeksi di rumah sakit. Beberapa penyakit yang disebabkan oleh infeksi <i>S.aureus</i> , diantaranya pneumonia, meningitis, endocarditis dan ostoemyelitis hematogen akut. <i>S.aureus</i> juga dapat mengakibatkan kontaminasi langsung padaluka, seperti infeksi luka pasca operasi (Jawetz et al, 2007). Infeksi <i>S.aureus</i> di Indonesia menjadi semakin meningkat empat kali lipat dari tahun 1986 – 1993 sebesar 2,5% menjadi 9,4% (Nasrin, 2010). <i>S.aureus</i> pada luka pasca operasi ditemukan 23 kasus di Rumah Sakit Dr.Kariadi Semarang	(Nurkusuma, 2015). Munculnya bakteri – bakteri patogen yang resisten terhadap antibiotik tertentu sangat menyulitkan proses pengobatan (Utami, 2012). Jenis antibiotik seperti penisilin, oksasilin, dan golongan β -laktam yang banyak dipergunakan di rumah sakit termasuk dalam antimicroba resisten. Upaya pengobatan infeksi <i>S.aureus</i> rentan terhadap penisilin membuahkan hasil padatahun 1959 ditemukan antimikroba semisintetik yang dapat menyebabkan <i>S.aureus</i> rentan metisilin (<i>methicillin</i>). Keberhasilan tersebut tidak bertahan lama karena dua tahun kemudian ditemukan <i>S.aureus</i> resisten terhadap <i>methicillin resistant Staphylococcus aureus</i> (MRSA) (Yuwono, 2011). Persentase galur <i>S.aureus</i> yang rentan terhadap metisilin di Indonesia pada tahun 2006 prevelensinya berada pada angka 23,5% (Sulistyaningsih, 2010). Mekanisme resistensi dapat dilihat dari aktifnya gen

*Corresponding Author :

Novi Ardiana

Pendidikan Diploma IV Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang Indonesia 50273

E-mail: noviardiana70@gmail.com

penyandi resisten yang dominan terdapat di dalam plasmid. Sehingga pada penelitian ini akan dilakukan profil plasmid pada *Staphylococcus aureus Methicillin-Resistant* sehingga akan ditemukan pola penganalan pita DNA yang mengacu pada MRSA.

Bahan dan Metode

Penelitian dilakukan dengan 4 tahap, yaitu: kultivasi bakteri dengan media BHI cair, uji sensitivitas, isolasi *S.aureus*, dan elektroforesis DNA.

1. Kultivasi Bakteri

Kultivasi bakteri menggunakan media BHI cair. Satu koloni pada media BAP ditanam pada 10 mL BHI cair, kemudian diinkubasi kedalam media HIA lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam sehingga didapat strain *S.aureus*.

2. Uji Sensitivitas

S. aureus disuspensikan dalam 3 mL larutan NaCl fisiologis, lalu dibandingkan kekeruhannya dengan standar Mc Farland 0,5. Suspensi biakan murni diambil 100 µl dan disebarkan ke permukaan Mueller Hinton Agar (MHA) dalam cawan petri. Medium uji tersebut didiamkan pada suhu kamar selama 5 menit untuk adaptasi bakteri dalam medium. Setelah itu pada medium diletakkan disk antibiotik uji metisilin, vankomisin, ciprofloksasin. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Zona hambat yang terbentuk disekitar koloni diukur dengan menggunakan cangkang sorong. Data zona bening dibandingkan dengan data pada pustaka *Clinical and Laboratory Standart Institute (CLSI)*.

3. Isolasi *S.aureus*.

Prosedur isolasi plasmid *S.aureus* mengacu pada Kit FavorPrep Plasmid DNA Extraction Mini Kit dengan Cat. No: FAPDE001 dan Lot. No: BG406116420 sentrifugasi dengan kecepatan 18000 rpm selama 1 menit, simpan sebagai plasmid DNA.

4. Elektroforesis DNA

Ditimbang sebanyak 1,5 gram Agarosa dan dilarutkan dalam TAE 150 ml (dipanaskan), kemudian ditambahkan 4 µl *Sybersafe* dan dituang dalam cetakan, dipasang sisiran

pada cetakan, setelah Agarosa memadat, sisiran dilepaskan, dimasukkan larutan Tris-TBE pH 8,0 sebagai larutan penyangga. Sumuran diisi dengan 10 µl sampel (4 µl loading buffer + 6 µl sampel). Setelah semua sumuran terisi, kemudian dihubungkan dengan *power supply* dan di elektroforesis pada tegangan 110 volt selama 60 menit. Setelah elektroforesis selesai, band DNA plasmid dapat diamati dengan menggunakan *UV Transilluminator*.

Hasil

Hasil uji sensitivitas 3 strain *S.aureus* setelah dilakukan uji kepekaan terhadap berbagai macam antibiotik disajikan dalam gambar 1 dan tabel 1.

Hasil uji sensitivitas 3 strain *S.aureus* menunjukkan SP1, SP2 dan SP3 sensitif terhadap antibiotik *Sulphamethaxazole*, *Fosfomycin*, *Vancomicin* dan resisten terhadap antibiotik *Oxacillin* dan *Gentamicin*. Hasil uji sensitivitas dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Uji sensitivitas strain *S.aureus* MRSA terhadap 5 macam

Bakteri yang telah di uji kepekaan terhadap berbagai antibiotik selanjutnya dilakukan isolasi DNA plasmid. Hasil dari isolasi plasmid tersebut selanjutnya dilakukan elektroforesis pada gel agarosa 1%. Hasil elektroforesis profil plasmid terhadap 3 strain *S.aureus* dapat dilihat pada gambar 2.

Diskusi

Berdasarkan data hasil uji sensitifitas 3 strain *S.aureus* menunjukkan bahwa bakteri tersebut memiliki sifat kepekaan terhadap antibiotik yang berbeda – beda. SP1, SP2 dan SP3 menunjukkan resisten terhadap oxacillin dan gentamicin.

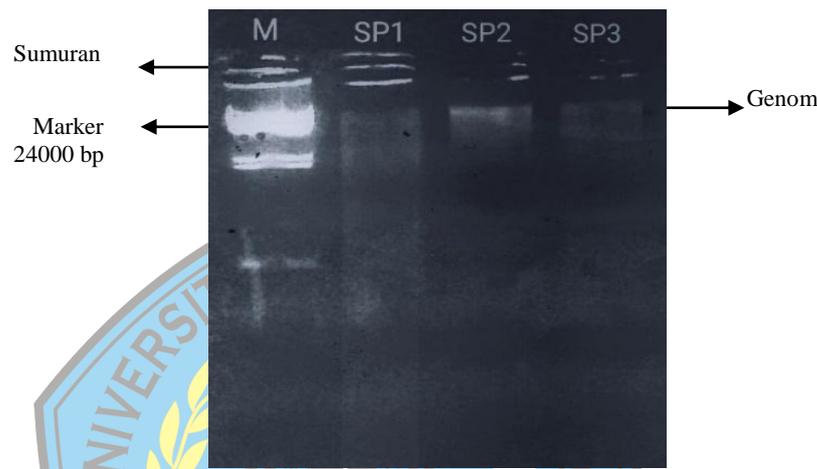
Resistensi terhadap antibiotik gentamicin merupakan antibiotik golongan aminoglikosida yang dikode oleh gen

S.aureus dan gen ini juga mengkode transpeptidase spesifik yang dapat menyebabkan bakteri resisten terhadap

Tabel 1. Uji sensitivitas 3 strain *S.aureus* MRSA terhadap 5 macam antibiotik

No.	Sampel	Sulphamethoxazole	Fosfomycin	Vancomicin	Oxacillin	gentamicin
1.	SP1	S	S	S	R	R
2.	SP2	S	S	S	R	R
3.	SP3	S	S	S	R	R

*S : Sensitif, R : Resisten



Gambar 2. Hasil elektroforesis DNA genom *S.aureus* dengan gel agarosa 1%. M = merupakan marker 24000 bp. Keterangan sumur : sumur 1 SP1 (*S.aureus* Pus MRSA), sumur 2 SP2 (*S.aureus* Pus MRSA), sumur 3 SP3 (*S.aureus* Pus MRSA).

aacA-D. Mekanisme kerja antibiotik gentamicin yaitu menghambat sintesis protein yang dimulai dari perlekatan aminoglikosida pada reseptor protein spesifik subunit 30S pada ribosom bakteri (Setiabudy dkk, 2007). Resistensi terhadap antibiotik oxacillin, merupakan antibiotik yang digunakan untuk menghambat sintesis dinding sel bakteri. Penggunaan oxacillin biasanya untuk bakteri gram positif yang telah membentuk resistensi (kekebalan) terhadap antibiotik golongan β -laktam seperti methicillin (Rossolini, 2014). Resistensi terhadap antibiotik oxacillin dan methicillin pada bakteri *S.aureus* terjadi karena dikode oleh gen *mecA* (Laurent *et al*, 2012). Resistensi terhadap antibiotik tersebut terjadi adanya gen yang terletak di bagian *Mobile Genetic Element* (MGEs) seperti plasmid dan transposon, untuk lebih spesifiknya gen resistensi terletak pada bagian kaset kromosom *mec* (Prasetio, 2016). Gen *mecA* berada pada *SCCmec* kromosom

oxacillin dan methicillin. Gen ini menyandi *Penicillin Binding Protein* (PBP) 2a. Bakteri yang menghasilkan protein ini memiliki afinitas yang rendah terhadap antibiotik golongan β -laktam sehingga bakteri tidak dapat diinaktivasi dan memiliki kemampuan untuk resisten terhadap semua jenis dari golongan obat tersebut (Wielders *et al*, 2002).

Mekanisme gen *mecA* mengekspresikan PBP2a adalah penisilin bekerja dengan berikatan pada PBP dan membunuh bakteri dengan mengaktifasi enzim autolitiknya (Salmenlina, 2002). PBP2a dikode oleh gen *mecA* yang berada dalam transposon. Hal tersebut bisa juga disebut dengan resistensi dengan perantaraan transposon. Transposon merupakan struktur DNA yang dapat bermigrasi melalui genom suatu organisme. Struktur ini merupakan bagian dari plasmid tapi dapat juga berasal dari kromosom bakteri. Jika transposon mengandung gen resisten

mengadakan insersi pada plasmid maka akan berpindah ke sel yang lain. Dengan demikian jika plasmid mampu bereplikasi sendiri pada inang baru atau jika transposon berpindah ke plasmid lain yang mampu mengadakan replikasi atau mengadakan insersi pada kromosom maka sel tersebut menjadi resisten terhadap antibiotik (Sudigdoadi, 2015).

Berdasarkan hasil yang diperoleh dari penelitian tersebut menunjukkan tidak terdapat plasmid pada 3 strain MRSA tetapi hanya didapatkan genom. Hal ini dilihat dari terbentuknya pita – pita DNA yang sangat tipis karena plasmid memiliki ukuran yang pendek jika divisualisasi dengan elektroforesis harusnya berada dibawah. Selain itu juga menunjukkan bahwa tidak semua bakteri yang resisten terhadap antibiotik terdapat di plasmid melainkan terdapat di kromosom.

Kesimpulan dan saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan mengenai profil plasmid MRSA didapatkan hasil yang resisten terhadap berbagai macam antibiotik dan tidak terdapat plasmid pada bakteri S.aureus. Identifikasi resistensi bakteri tidak bisa dilakukan melalui plasmid, karena tidak semua gen resistensi di sandi oleh plasmid, dan terdapat kemungkinan mutasi atau perpindahan gen. Berdasarkan hasil penelitian disarankan perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang isolasi DNA dan RNA dari bakteri S.aureus MRSA atau isolasi plasmid dan pemotongan plasmid dengan enzim restriksi.

Ucapan Terimakasih

Peneliti mengucapkan terimakasih sebesar-besarnya kepada Dr. Sri Darmawati, M.Si selaku pembimbing pertama yang telah bersedia menjadi pembimbing dan meluangkan waktu untuk berbagi ilmu, arahan, saran dan memotivasi selama penyusunan skripsi ini. Aprilia Indra Kartika, S.Pd., M.Biotech selaku pembimbing kedua yang telah bersedia menjadi pembimbing dan memberikan bimbingan, arahan, saran, dan memberi motivasi selama penyusunan skripsi ini. Andri Sukeksi, SKM., M.Si selaku ketua program studi DIV Analisis Kesehatan, yang telah memberikan motivasi dan arahan dalam

penyusunan skripsi ini. Dr. Ana Hidayati Mukaromah, M.Si selaku penguji yang telah membantu dan membimbing dalam penyusunan tugas akhir ini. Kepada keluarga yang telah memberi dukungan moral serta materil untuk menyelesaikan skripsi ini. Teman – teman seperjuangan serta semua pihak yang telah memberikan bantuan selama penyelesaian skripsi ini.

Referensi

- Frederic Laurent, Hubert Chardon Marisa Haenni, Michele Bes, Marie-Elisabeth Reyerdy, Jean-Yves Madec Eyelyne Lagier, Francois Vandenesch and Anne Tristan. *MRSA Harboring mecA Variant Gene mecC. France Emerging Infectious Diseases*. Vol.18, No.9, September 2012.
- Gibson, J. M., 1996. *Mikrobiologi dan Patologi Modern untuk Perawat*. Jakarta: EGC.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. *Mikrobiologi Kedokteran (terjemahan)*. Edisi ke-24. Jakarta: EGC; 2007.
- Kodim, Nasrin. 2010. *Resistensi Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus pada Luka Pasca Operasi: Kecelakaan yang Memprihatinkan*. Jurnal Medika: edisi 05 vol 36.
- Nurkusuma, Dudy R, Heyder, F., Wahjono, H. 2010. *Faktor yang Berpengaruh terhadap Kejadian Meyhicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) pada Kasus Infeksi Luka Pasca-operasi di Ruang Perawatan Bedah Rumah Sakit Dokter Kariadi, Semarang*. Medika Journal. Vol. 36. No. 05.p. 300-305.
- Prasetio, M, Barliana, Melisa. I. 2016. *Gen mecA sebagai faktor munculnya Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA)*. Medika Jurnal. Vol 14 n0 3. P. 55-59.
- Rossolini GM, Arena F, Pecile P, Pollini S. *Update on the antibiotic resistance crisis*. *Clin Opin Pharmacol*. 2014;18:56-60.
- Sudigdoadi, sunarjati. 2015. *Mekanisme Timbulnya Resistensi Antibiotik Pada*

- Infeksi Bakteri: Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran.*
- Sulistyaningsih. 2010. *Uji kepekaan beberapa sediaan antiseptic terhadap bakteri Staphylococcus aureus resisten metisilin (MRSA).* (Tesis). Universitas Padjadjaran. Bandung. 2pp.
- Utami, E. R. 2012, *Antibiotika, Resistensi, dan Rasionalitas Terapi*, hal 191-198, Saintist Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maliki, Malang.
- Yuwono, et al. Identitas *Staphylococcus Cassete Chromosome Mec Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* dengan *Polymerase Chain Reaction*. Palembang : Universita Sriwijaya/Rumah Sakit Moch.Hoesin; 2011

