

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Staphylococcus aureus*

2.1.1 Klasifikasi *S. aureus*

Staphylococci merupakan salah satu flora normal pada kulit, lubang hidung dan membran mukosa manusia (Gorwitz *et al.*, 2008; Aung *et al.*, 2016). Bakteri ini pertama kali diamati dan dibiakkan oleh Pasteur dan Koch, kemudian diteliti lebih lanjut oleh Ogston dan Rosenbach pada tahun 1880-an. Nama genus *Staphylococcus* diberikan Ogston karena jika diamati dengan mikroskop bakteri ini terlihat seperti setangkai buah anggur. Nama spesies *aureus* diberikan oleh Rosenbach karena pada biakan murni, koloni bakteri ini terlihat berwarna kuning-keemasan (Yuwono, 2012).

Genus *Staphylococcus* memiliki sedikitnya 30 spesies, tetapi terdapat 3 yang paling penting di kedokteran salah satunya *S. aureus*. Berikut klasifikasi *Staphylococcus aureus* dari yaitu :

Tabel 2. Klasifikasi dari *S. aureus*

Domain	: <i>Bacteria</i>
Kingdom	: <i>Eubacteria</i>
Phylum	: <i>Firmicutes</i>
Class	: <i>Bacilli</i>
Ordo	: <i>Bacillales</i>
Family	: <i>Staphylococcaceae</i>
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Species	: <i>S. aureus</i>

Sumber : Lowy 2014)

2.1.2 Morfologi

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat berdiameter 0,7-1,2 μm , tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan tidak berflagel (non motil). Bakteri ini tumbuh pada suhu optimum 37 °C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25 °C). Koloni pada perbenihan padat berwarna abu-abu sampai kuning keemasan, berbentuk bundar, halus, menonjol, dan berkilau (Jawetz *et al.*, 2008).

Dinding *S. aureus* merupakan pelindung yang kuat, tampak tidak terbentuk, dengan tebal 20-40 nm. Di bawah dinding sel terdapat sitoplasma yang diliputi oleh membran plasma. Lebih dari 90% isolat klinik menghasilkan *S. aureus* yang mempunyai kapsul polisakarida atau selaput tipis yang berperan dalam virulensi bakteri. Polisakarida ini merupakan salah satu cara untuk mengurangi fagositosis *In Vitro* (Thakker, 1998; Sulaiman, 2012).

2.1.3 Patogenitas

Staphylococcus aureus dapat menyebabkan infeksi baik pada manusia maupun pada hewan. Bakteri ini tumbuh baik pada suhu tubuh manusia dan juga pada pangan yang disimpan pada suhu kamar serta menghasilkan toksin pada suhu tersebut. Dosis infeksi toksin kurang dari 1,0 μg pada pangan tercemar dapat menimbulkan gejala intoksikasi stafilokokal (BSN, 2009). Ketika memasuki sel dari inang, *S. aureus* akan difagosit oleh imun, yang akan meningkatkan produksi enzim

proteolitik dan juga toksin bakteri. Sel endotel yang terinfeksi memproduksi TNF sebagai bagian dari respon imunitas terhadap infeksi, menyebabkan nekrosis dan abses (Timbury *et al.*, 2002; Sulaiman, 2012). Toksin lain yang umumnya dihasilkan oleh *S. aureus* dapat dilihat dalam tabel 2.2.

Tabel 3. Toksin *S. aureus*

Toksin	Efek
Hemolisin	Sitolitik, melisiskan eritrosit
Koagulase	Menumpalkan Plasma
Fibrinogen	Mencerna Fibrin
Leukosit	Merusak Leukosit
Hyaluronidase	Merusak asam hyaluronat
DNAse	Hidrolisis DNA
Protein A	Lipolitik
Kapsul	Antifagositik
Toksin Epidermolisis	Pengelupasan epidermidis
Enterotoksin	Diare dan muntah
Toksik syok sindrom toksin 1	Deskuamasi, syok dan rash

Sumber : Timbury *et al.* (2002)

Infeksi oleh *S. aureus* ditandai dengan kerusakan jaringan yang disertai abses.

Beberapa penyakit infeksi yang disebabkan oleh *S. aureus* adalah bisul, jerawat, impetigo, dan infeksi luka. Infeksi yang lebih berat diantaranya pneumonia, mastitis, plebitis, meningitis, infeksi saluran kemih, osteomyelitis, dan endokarditis. *S. aureus* juga merupakan penyebab utama infeksi nosokomial, keracunan makanan, dan sindroma syok toksik (Kusuma, 2009).

Sindroma syok toksik (SST) pada infeksi *S. aureus* timbul secara tiba-tiba dengan gejala demam tinggi, muntah, diare, mialgia, ruam, dan hipotensi, dengan gagal jantung dan ginjal pada kasus yang berat. SST sering terjadi dalam lima hari permulaan haid pada wanita muda yang menggunakan tampon, atau pada anak-anak dan pria dengan luka yang terinfeksi stafilokokus. *S. aureus* dapat diisolasi dari vagina, tampon, luka atau infeksi lokal lainnya, tetapi praktis tidak ditemukan dalam aliran darah (Jawetz *et al.*, 2008).

2.2 *Metichillin-resistant S. aureus* (MRSA)

Resistensi adalah ketidak mampuan antibiotika untuk menghambat pertumbuhan bakteri dengan pemberian pada kadar maksimum yang dapat ditolerir oleh penjamu. Beberapa strain bakteri mungkin saja resisten terhadap lebih dari satu antibiotik (Clark *et al.*, 2012). Resistensi mikroorganismenya terhadap antibiotik dapat terjadi dengan beberapa cara, yaitu (Drlica dan Perlin, 2011):

- a. Merusak antibiotik dengan enzim yang diproduksi bakteri.
- b. Mengubah reseptor titik tangkap antibiotik.
- c. Mengubah fisiko – kimiawi target sasaran antibiotik pada sel bakteri.
- d. Antibiotik tidak dapat menembus dinding sel, akibat perubahan sifat dinding sel bakteri.
- e. Antibiotik masuk ke dalam sel bakteri, namun segera dikeluarkan dari dalam sel melalui mekanisme transport aktif ke luar sel.

S. aureus pertama kali menjadi patogen penting rumah sakit pada tahun 1940-an. Pengobatan infeksi ini menggunakan penisilin G (benzil penisilin) merupakan antimikroba golongan β -lactam. Satu dekade kemudian muncul strain resisten penisilin. Strain ini menginaktivasi antimikroba yang memiliki cincin enzim β -lactam. Enzim ini menghidrolisis ikatan amida siklik yang berikatan dengan cincin β -lactam sehingga menimbulkan hilangnya aktivitas antibakterisidal antimikroba tersebut, oleh karena itu dikembangkanlah usaha untuk mendapatkan obat yang tahan terhadap β -lactamase (Salmenlina, 2002).

Metisilin merupakan penisilin modifikasi yang diperkenalkan pada tahun 1960-an. Antibiotik ini digunakan untuk mengobati infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap sebagian besar penisilin. Tahun 1961 strain *S. aureus* yang resisten terhadap metisilin ditemukan yang biasa disebut dengan MRSA (Juuti, 2004). Terdapat kekhawatiran baru pada tahun 1996 karena telah ditemukan penyebaran MRSA yang menurun kepekaannya terhadap vankomisin (Yuwono, 2010).

Kegagalan klinis vankomisin diduga dapat disebabkan antara lain karena jeleknya penetrasi vankomisin ke jaringan tertentu dan hilangnya aksesori fungsi gen-regulator di MRSA. Di samping itu terdapat laporan kasus mengenai *vankomycin-intermediet S. aureus* (VISA) dan *vankomycinresistant S. aureus* (VRSA). Berdasarkan kekhawatiran dan laporan kasus tersebut, munculnya alternatif

pengobatan terhadap MRSA yaitu salah satunya dengan menggunakan Linezolid (Micek, 2007).

Tabel 4. Kronologi Infeksi *S. aureus* dan Resistensinya

Tahun	Kejadian
1940	Penicillin diperkenalkan
1942	Muncul <i>S. aureus</i> resisten penicillin
1959	Metisilin diperkenalkan, sebagian besar strain <i>S. aureus</i> di rumah sakit dan masyarakat resisten penicillin
1961	Muncul MRSA
1963	Muncul wabah MRSA di rumah sakit yang pertama
1968	Ditemukan strain MRSA yang pertama di rumah sakit Amerika
1970-an	Penyebaran klonal MRSA secara global, kejadian MRSA yang sangat tinggi di Eropa Utara
1980-an	Penurunan kejadian MRSA yang dramatis dengan adanya program “ <i>search and destroy</i> ” di Eropa Utara
1996	VRSA dilaporkan di Jepang
1997	Muncul VISA, dilaporkan adanya infeksi CA-MRSA yang serius
2002	Terjadi infeksi VRSA yang pertama di Amerika
2003	Peningkatan kejadian MRSA hampir 60% di ICU, wabah CA-MRSA dilaporkan terjadi di banyak tempat dan berimplikasi pada wabah di rumah sakit
2006	>50% infeksi kulit stafilocokus muncul di bagian gawat darurat yang disebabkan CA-MRSA, peningkatan HA-MRSA, perbedaan keduanya secara epidemiologi semakin sulit
2007	“The Year of MRSA”

Sumber : Biantoro, 2008

Di India ditemukan *S. aureus* resisten terhadap *methicilin*, *vancomycin*, linezolid dan tigesiklin (Kumar, 2016). Sedangkan di Amassoma, Nigeria ditemukan *S. aureus* yang resisten terhadap ampisilin, doksisisiklin, cefoxitin, vankomisin, eritromisin, dan gentamisin. Hal tersebut menunjukkan *S. aureus* resisten tidak hanya pada golongan β -laktam saja (Onanuga dan Temedi, 2011).

Saat ini MRSA dibagi menjadi 2 kelompok yaitu *Healthcare Associated MRSA* (HA-MRSA) dan *Community Associated MRSA* (CA-MRSA). HA MRSA yang kemudian oleh CDC didefinisikan sebagai infeksi MRSA pada individu yang pernah dirawat di rumah sakit atau menjalani operasi dalam 1 tahun terakhir, memiliki alat bantu medis dan berada dalam perawatan jangka panjang. HA-MRSA memiliki resisten yang sangat tinggi dan merupakan penyakit Nosokomial. CA-MRSA adalah MRSA yang terjadi dalam suatu komunitas yang disebabkan adanya perpindahan bakteri dari suatu individu yang sudah terkena MRSA ke individu yang sehat (Lamont *et al.*, 2006).

Tabel 5. Perbedaan CA-MRSA dan HA-MRSA

	HA-MRSA	CA-MRSA
Faktor Resiko	Pasien di ruang perawatan dalam jangka waktu lama, Pasien dengan diabetes mellitus, pasien yang melakukan hemodialisis atau peritoneal dialisis, perawatan dengan waktu yang lama, penyebaran di ICU, pemasangan kateterisasi pada pasien	Anak-anak, atlet, Angkatan laut, suku tertentu (suku asli Amerika/ Suku asli Alaska, Pulau disekitar laut Pasifik), Penggunaan obat secara intravena, homoseksual
Tipe strain	USA 100 & 200	USA 300 & 400
Resistensi Antibiotik	<i>Multidrug</i> resisten	Hanya resisten β -Laktam
Toksin PVL	Jarang (5%)	Banyak (100 %)
Sindroma klinis	Pneumonia nosokomial, infeksi nosokomial terkait infeksi traktus urinarius dan pemasangan kateter, infeksi melalui darah, infeksi akibat pembedahan.	Infeksi kulit dan jaringan (furunkel, abses), post-influenza, pneumonia yang telah mengalami nekrosis jaringan.

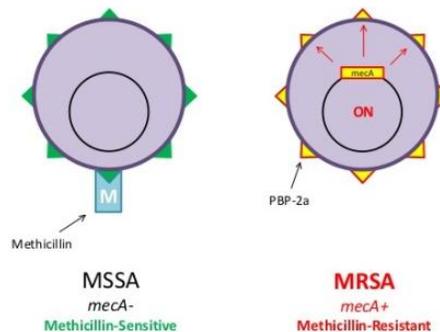
Sumber : Biantoro 2008

2.3 Gen *MecA*

Resistensi MRSA terhadap berbagai antimikroba diperankan oleh dua kelompok gen, yaitu kelompok gen utama yang berperan mendasari resistensi terhadap antimikroba β -laktam dan kelompok gen lainnya yang berperan mendasari resistensi terhadap antimikroba nonbetalaktam. Resistensi MRSA terhadap antimikroba nonbetalaktam terutama terjadi karena adanya perubahan pada molekul reseptor atau karena antimikroba dipompa secara aktif ke luar sel yang disebut mekanisme *efflux* (Yuwono, 2010).

Resistensi MRSA terhadap antimikrob β -laktam terjadi karena adanya duplikasi pada *penicillin binding protein* (PBP), yaitu PBP2 dan PBP2a. Fungsi PBP2 yang terhenti karena pemberian β -laktam akan dikompensasi oleh PBP2a sehingga sintesis dinding sel pada MRSA tetap berlangsung (Fuda *et al.*, 2004). Gen *mecA* mengkode 78-kDa penicillin pengikat protein 2a (PBP2a) yang memiliki afinitas yang kecil terhadap semua antibiotik β -laktam. Hal ini memudahkan *S. aureus* bertahan pada konsentrasi yang tinggi dari zat tersebut, resistensi terhadap metisilin menyebabkan resistensi terhadap semua agen β -laktam, termasuk sefalosporin (Sulistiyarningsih, 2010)

mecA-encoded Methicillin Resistance



Gambar 1. Gen *mecA* pada MRSA

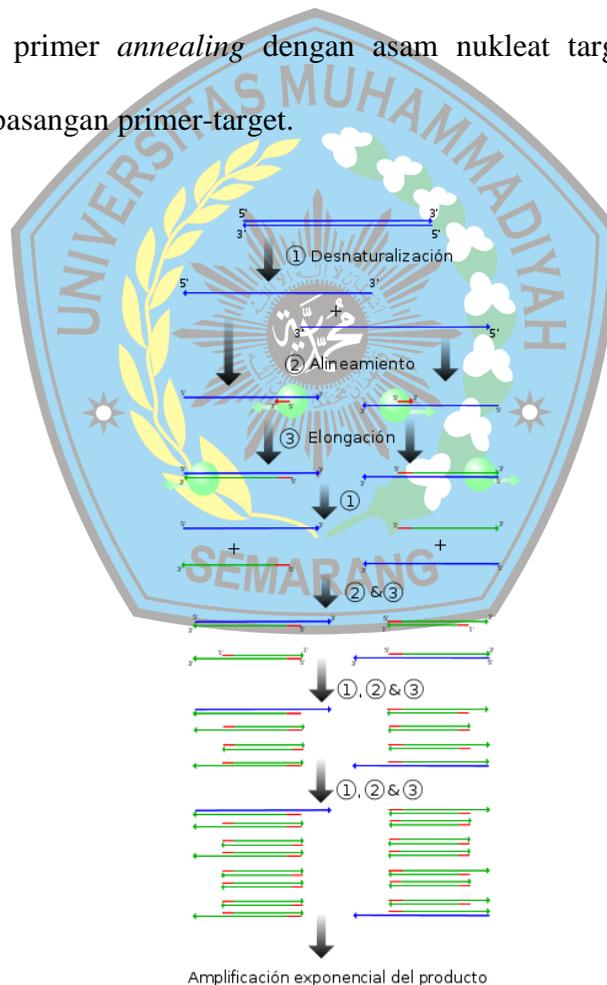
Sumber : <https://www.slideshare.net/ucsdavrc/aids-clinical-rounds062014ha>

Gen *mecA* dapat dideteksi menggunakan PCR dengan dua sekuen primer yaitu, *forward primer* : 5`AAA ATC GAT GGT AAA GGT TGG C-3` dan *revers primer* 5`-AGT TCT GCA GTA CCG GAT TTG C-3` Hasil amplifikasi dianalisis dengan elektroforesis sesuai metode Pournajaf *et al.* (2014). Gen *mecA* yang merupakan bagian *conserved* (terpelihara) dari elemen genetik yang disebut *mecDNA* atau *Staphylococcal cassette chromosome mec* (SCC*mec*). Gen *mecA* dan SCC*mec* tidak ditemukan pada *strain S. aureus* sensitif metisilin (Yuwono, 2011).

2.4 Polymerase Chain Reaction (PCR)

Mengetahui adanya MRSA terdiri dari dua metode, yaitu metode genotip dan metode fenotip. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk menilai penggunaan metode genotip secara langsung mendeteksi MRSA dengan menggunakan dasar gel dan *real-time* PCR, penyelidikan DNA, serta penyelidikan asam nukleat peptida (Biantoro, 2008).

PCR mengkombinasikan prinsip hibridisasi asam nukleat yang komplementer dengan replikasi asam nukleat yang diaplikasikan melalui sejumlah siklus. Dengan metode ini, *copy* tunggal dari asam nukleat target, yang sering tidak terdeteksi dengan metode hibridisasi standar, dilipatgaandakan menjadi 10^7 atau lebih *copy* di dalam periode yang relative pendek. PCR mempunyai 30-50 siklus berulang, di mana setiap siklus terdiri dari tiga reaksi yang berurutan, yaitu denaturasi asam nukleat target, primer *annealing* dengan asam nukleat target untai tunggal dan *extension* dari pasangan primer-target.



Gambar 2. Urutan Reaksi dari Siklus PCR

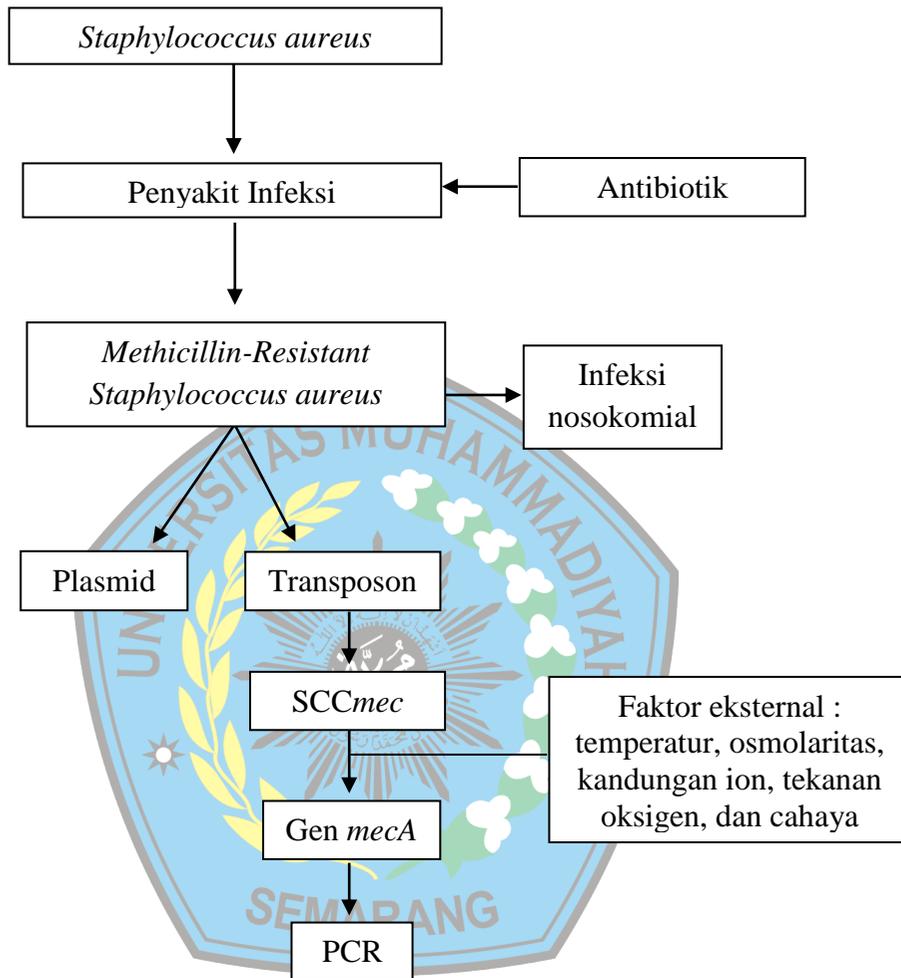
Sumber : https://commons.wikimedia.org/wiki/File:PCR_es.png

Produk amplifikasi spesifik dari PCR yang mengandung asam nukleat target yang diujikan disebut ampikon. Agar dapat terbaca ampikon harus divisualisasikan. Deteksi visualisasi ampikon dilakukan dengan menggunakan fase solid dan molekul penanda seperti radioaktif, kolorimetri, fluometri, atau sinyal *chemiluninescent*.

Analisis PCR dengan primer spesifik merupakan langkah terbaik untuk kepentingan deteksi bakteri patogen karena dapat menghasilkan penentuan secara cepat keberadaan gen target, cukup sensitif dan mudah digunakan dalam keadaan rutin (Aris, 2011). Seiring dengan kemajuan teknologi, saat ini diperlukn deteksi ampikon dalam berbagai macam ukuran, yaitu dilakukan dengan menempatkan campuran PCR sesudah proses amplifikasi ke dalam gel elektroforesis.

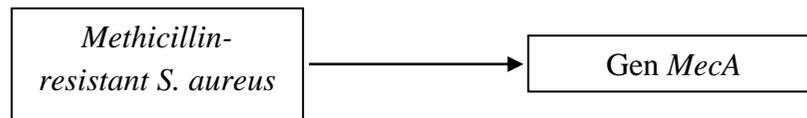
Elektroforesis gel dikenal dengan teknik untuk memisahkan dan mengidentifikasi makromolekul seperti DNA, RNA, dan protein berdasarkan berat, ukuran atau titik isoelektriknya. Pemisahan antara molekul dengan teknik elektroforesis ini berdasarkan muatan molekul yang bermigrasi melalui matriks gel (Giot, 2010). Gel diwarnai dengan ethidium bromida untuk memvisualisasikan ampikon dibawah sinar ultraviolet. Selanjutnya, ampikon dapat diinterpretasikan dalam berbagai macam ukuran dengan menggunakan marker berat atau ukuran molekul.

2.5 Kerangka Teori



Gambar 3. Kerangka Teori Identifikasi Gen *mecA* pada MRSA

2.6 Kerangka Konsep



Gambar 4. Kerangka Konsep Identifikasi Gen *mecA* pada MRSA

2.7 Hipotesis

Terdapat gen *mecA* pada isolat *S. aureus* yang resisten terhadap metisilin

