



**Profil Plasmid pada *Staphylococcus aureus*
Multidrug Resistant**

Manuscript

Disusun oleh :
Devi Mufti Khoirunnisa
G1C014030

**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* Multidrug 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 : Devi Mufti Khoirunnisa
NIM : G1C014030
Fakultas/Jurusan : Ilmu Keperawatan dan Kesehatan/Program Studi DIV Analisis Kesehatan
Jenis Penelitian : Skripsi
Judul : Profil Plasmid pada *Staphylococcus aureus Multidrug Resistant*
Email : dmkhoirunnisa@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 pangkalan 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



Devi Mufti Khoirunnisa

Profil Plasmid pada *Staphylococcus aureus* Multidrug Resistant

Devi Mufti Khoirunnisa¹, Sri Darmawati², Aprilia Indra Kartika²

1. Program Studi DIV Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang.
2. Laboratorium Biomolekuler, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang.
3. Laboratorium Bakteriologi, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang.

Info Artikel	Abstrak
	<i>Staphylococcus aureus</i> merupakan salah satu bakteri yang dapat menyebabkan infeksi pada kulit, serta dapat berinvasi pada jaringan sehingga menyebabkan penyakit seperti pneumonia. Pengobatan infeksi <i>S. aureus</i> dapat dengan pemberian antibiotik. Penggunaan antibiotik yang tidak tepat dapat mengakibatkan timbulnya resistensi mikroorganisme terhadap berbagai antibiotik (<i>multidrug resistant</i>). Mekanisme resistensi dapat dilihat dari aktifnya gen resistensi yang terdapat didalam plasmid. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui profil plasmid pada <i>S. aureus multidrug resistant</i>. Metode penelitian ini merupakan studi deskriptif. Penelitian ini akan dilakukan uji pola kerentanan terhadap antibiotik pada isolat <i>S. aureus</i> dan profil plasmidnya dengan metode elektroforesis DNA. Hasil uji kepekaan antibiotik 2 strain <i>S. aureus</i> yaitu pada SP4 dan SP5 resisten terhadap antibiotik Amoxicillin, tetracycline, benzylpenisillin, ticarcillin, dan gentamicin. Hasil dari isolasi plasmid setelah dielektroforesis menunjukan pita DNA tunggal mendekati 24000 bp hal ini dapat disimpulkan bahwa pita tunggal yang tervisualisasi bukan merupakan plasmid melainkan genom. Sehingga dapat disimpulkan bahwa gen resistensi pada <i>S. aureus</i> SP4 dan SP5 terdapat didalam genom.
Keywords :	
<i>Staphylococcus aureus</i> , Resistensi, Profil Plasmid	MDR,

Pendahuluan

Infeksi adalah masuknya bakteri atau mikroorganisme patogen ke dalam tubuh yang mampu menyebabkan sakit. Salah satu bakteri yang dapat menyebabkan infeksi yaitu *Staphylococcus aureus*. *Staphylococcus*

aureus dapat menyebabkan infeksi pada kulit dan dapat berinvasi pada jaringan sehingga menyebabkan penyakit seperti pneumonia, osteomielitis, dan endocarditis (Warsa , 1994 dalam Akbar, 2015).

*Corresponding Author :

Devi Mufti Khoirunnisa

Laboratorium Biologi Molekuler, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang Indonesia 50273

Email : dmkhoirunnisa@gmail.com

Pengobatan infeksi *S. aureus* dapat dilakukan dengan pemberian antibiotik berupa penisilin G atau derivat penisilin yang lainnya. Berbagai penelitian yang telah dilakukan memperoleh hasil sekitar 40-62% antibiotik yang digunakan tidak tepat untuk penyakit-penyakit yang sebenarnya tidak membutuhkan antibiotik (Kemenkes RI, 2011). Sehingga muncul *multidrug resisten* yang sudah tidak sensitif terhadap beberapa golongan antibiotik untuk melawan infeksi (Jawetz, 2004 dalam Abdul *et al.*, 2013).

Sebagian besar bakteri MDR dikode oleh gen resistensi yang terdapat didalam plasmid. Plasmid terdapat di dalam sitoplasma organisme prokaryot dan eukaryot sederhana uniseluler. Gen yang terdapat di dalam plasmid antara lain yaitu plasmid F, plasmid R, plasmid yang mengandung gen toksin dan bakteriosin, plasmid degradatif, dan plasmid virulensi. Mekanisme resistensi dapat dilihat dari aktifnya gen resisten yang terdapat di dalam plasmid. Gen resistensi akan aktif apabila dosis dan pemberian antibiotik tidak tepat, sehingga bakteri target akan langsung beradaptasi dan mengembangkan resistensi.

Bakteri dapat melakukan pertukaran plasmid sehingga gen resistensi didalam plasmid dapat disebarkan ke bakteri yang sensitif antibiotik. Berdasarkan permasalahan tingginya angka bakteri yang MDR dan diperkirakan gen resistensi terdapat di plasmid, maka akan dilakukan penelitian untuk melihat profil plasmid pada *S. aureus* MDR, sehingga dapat mengidentifikasi karakteristik pola profiling plasmid (Farnsworth *et al.*, 1991 dalam Zirak *et al.*, 2016). Pada penelitian ini akan dilakukan uji pola kerentanan terhadap antibiotik pada isolat *S. aureus* dan profil plasmidnya dengan metode elektroforesis DNA.

Bahan dan Metode

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian deskriptif. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biologi

Molekuler Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang. Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan April sampai Agustus 2018. Spesimen penelitian ini adalah bakteri *S. aureus*. Bakteri *S. aureus* di uji sensitivitas kemudian dilakukan isolasi plasmid dan elektroforesis DNA.

1. Kultivasi Bakteri

Kultivasi bakteri menggunakan media BHI cair. Satu koloni 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, dibandingkan kekeruhannya dengan standar Mc Farland 0,5. Suspensi biakan murni diambil 100µl 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. Kemudian diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam. Zona hambat yang terbentuk disekitar koloni diukur dengan menggunakan jangka sorong. Data zona bening dibandingkan dengan data pada pustaka Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI).

3. Isolasi *S. aureus*

Prosedur isolasi plasmid *S. aureus* mengacu pada Kit FavorPrep Plasmid DNA Extraction Mini Kit (100 preps) Favorgen.

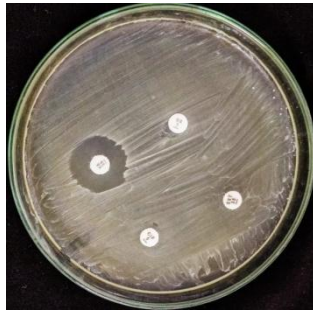
4. Elektroforesis DNA

Ditimbang sebanyak 1,5 ml gram agarosa dan dilarutkan dalam TAE 150ml (dipanaskan), kemudian ditambahkan 4µl cybersafe 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 10µl sampel (4µl loading buffer + 6µl sampel). Setelah semua sumuran terisi, kemudian dihubungkan dengan *power supply*

dan dielektroforesis pada tegangan 110 volt selama 60 menit. Setelah dielektroforesis,

Hasil

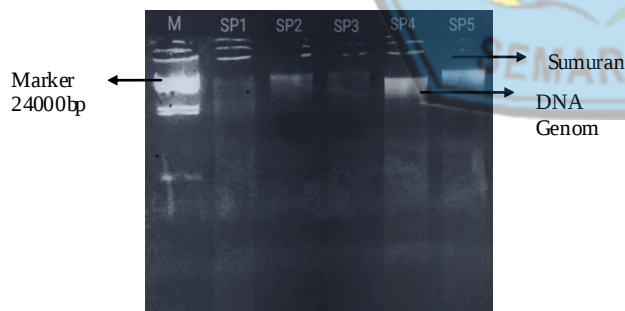
Hasil uji sensitivitas 2 strain *S. aureus* setelah dilakukan uji sensitivitas terhadap berbagai macam antibiotik disajikan dalam gambar 1.



Gambar 1. Hasil uji sensitivitas

Hasil uji sensitivitas 2 sampel terhadap antibiotik *Amoxicillin*, *Tetracycline*, *Benzylpenicillin*, *Ticarcillin*, dan *Gentamicin* menunjukkan bahwa ke 2 sampel *S. aureus* resisten terhadap berbagai macam antibiotik.

Bakteri yang telah diuji kepekaan terhadap berbagai macam antibiotik selanjutnya dilakukan elektroforesis pada gel agarose 1%. Hasil elektroforesis profil plasmid terhadap 2 sampel *S. aureus* dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Hasil elektroforesis DNA genom *S. aureus* MDR dengan gel agarose 1% (M = Marker, Sumur 2 *S. aureus* MRSA 1, Sumur 3 *S. aureus* MRSA 2, Sumur 4 *S. aureus* MRSA 3, Sumur 5 *S. aureus* MDR 4, Sumur 6 *S. aureus* MDR 5)

Hasil dari isolasi plasmid setelah dielektroforesis menunjukkan pita tunggal

band plasmid dapat diamati dengan menggunakan UV *Transilluminator*.

mendekati 24000 bp hal ini dapat disimpulkan bahwa pita tunggal yang tervisualisasi bukan merupakan plasmid melainkan genom. Plasmid berukuran pendek sehingga jika tervisualisasi letaknya terdapat dibawah genom, plasmid merupakan DNA ekstrakromosomal, dan satu bakteri bisa memiliki lebih dari satu plasmid atau tidak memiliki plasmid. Sampel SP1 sampai SP5 bukan merupakan plasmid, yang terlihat hanya genom karena termasuk bakteri dalam kategori tidak terdapat plasmid.

Diskusi

Bakteri *S. aureus* pada penelitian ini resisten terhadap antibiotik *gentamisin*, *amoxicillin*, *tetracycline*. *Gentamisin* merupakan antibiotik golongan dari aminoglikosida yang dikode oleh gen *aacA-D*. Mekanisme kerja *gentamisin* yaitu menghambat sintesis protein yang dimulai dari perlekatan aminoglikosida pada reseptor protein spesifik subunit 30S pada ribosom bakteri (Setiabudy dkk, 2007). *Amoxicillin* merupakan antibiotik *penicillin* golongan beta laktamase yang disandi oleh gen *blaZ*. Mekanisme resistensi amoxicillin dapat diperantai oleh penurunan jumlah *Penicilline Binding Protein (PBB-1A)* yang dihasilkan oleh bakteri atau penurunan afinitas *amoxicillin* pada *Penicilline Binding Protein*. Resistensi adaptif bakteri dapat disebabkan oleh aktivasi jalur molekuler tertentu dalam sel bakteri (Opal, 2005). Mekanisme terjadinya resistensi terhadap *tetracycline* yaitu berkurangnya akumulasi intrasel *tetracycline* karena meningkatnya efluks oleh transport aktif pompa protein, Salah satu enzim yang menghambat kerja *tetracycline* dikode oleh gen *ter K* yang berhubungan dengan gen *terM F* yang mengkode rRNA metilase (Yetty, 2011).

Hasil isolasi plasmid pada 2 strain bakteri *S. aureus* MDR tidak ditemukan adanya plasmid. Hanya di dapatkan genom pada 2 strain *S. aureus*. Hal ini menunjukkan bahwa tidak semua bakteri resistensi terhadap

antibiotik disandi oleh plasmid. Pada 2 strain bakteri *S. aureus* MDR faktor penentu resistensi didapatkan didalam kromosom. Resistensi bakteri dapat terjadi secara intrinsik maupun didapat. Resistensi intrinsik terjadi secara kromosomal dan berlangsung melalui multiplikasi sel yang akan diturunkan pada turunan berikutnya. Resistensi yang didapat dapat terjadi akibat mutasi kromosomal atau akibat transfer DNA. (Neu dan Goots, 2001). Bakteri dapat melakukan pertukaran gen tanpa melalui plasmid, tetapi melalui segmen DNA yang bersifat mobile yang disebut transposon. Transposon dapat bergerak ke berbagai posisi di genom suatu sel, transposon mampu berpindah dari DNA plasmid atau DNA kromosom ke sel host lain sehingga menyebabkan penyebaran resistensi terhadap suatu antibiotik secara cepat (Nurtami, 2002).

Kesimpulan dan Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan mengenai profil plasmid *S. aureus* MDR 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 disandi 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* MDR atau isolasi plasmid dan pemotongan plasmid dengan enzim restriksi.

Ucapan Terimakasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Kepada kedua orang tua saya Ayahanda Rintoko, Ibunda Taryami atas doa dan bimbingan secara material dan moril,
2. 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,

3. 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,
4. Andri Sukeksi, SKM. M.Si selaku ketua program studi D IV Analis Kesehatan, yang telah memberikan motivasi dan arahan dalam penyusunan skripsi ini,
5. Arin Purwo Triarista, Yuliza Hera Tri Augraeni yang selalu menjadi motivasi,
6. Teman-teman seperjuangan serta semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu yang turut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini.

Referensi

- Akbar, M. Rizki, F., Budiarti, L. Y., Edyson.(2016). Perbandingan Efektivitas Antibakteri antara Ekstra Metanol Kulit Batang Kasturi dengan Ampisilin terhadap *Staphylococcus aureus* In Vitro
- Erviani, A. E. (2013). Analisis multidrug resistensi terhadap antibiotik pada *Salmonella typhi* dengan teknik multiplex PCR. *Biogenesis*, 1(1).
- Nonong, Y. H., & Mieke Hemiawati, S. (2011). Tetrasiklin Sebagai Salah Satu Antibiotik Yang Dapat Menghambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Resisten-Metisilin (MRSA). *Abstrak*.
- Nurmala, N., Virgiandhy, I. G. N., Andriani, A., & Liana, D. F. (2015). Resistensi dan sensitivitas bakteri terhadap antibiotik di RSUD dr. Soedarso Pontianak tahun 2011-2013. *eJournal Kedokteran Indonesia*.
- Obajuluwa, A. F., Olayinka, B. O., Adeshina, G. O., Onaolapo, J. A., & Afolabi-Balogun, N. B. (2015). Plasmid profile of *Staphylococcus aureus* from orthopaedic patients in Ahmadu Bello University Teaching Hospital Zaria, Nigeria. *African Journal of Microbiology Research*, 9(33), 1941-1946.
- Razak, A., Djamal, A., & Revilla, G. (2013). Uji Daya Hambat air perasan buah

jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* s.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus Aureus* secara in vitro. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 2(1), 05-08.

Setiabudy R, Gan Gunawan Sulistia. (2007). *Farmakologi dan Terapi*. Edisi ke 5. Departemen Farmakologi dan Terapi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta



