

Deteksi Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) Pada Pasien RSUD Dr. Moewardi Surakarta Menggunakan Metode Polymerase Chain Reaction (PCR)

Detection of Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) on the Patients of RSUD Dr. Moewardi Surakarta using Culture Method and Polymerase Chain Reaction (PCR)

Siti Nur Arsih, Nony Puspawati dan Rizal Maarif Rukmana*

Program Studi D4 Analisis Kesehatan

Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Setia Budi Surakarta,

Jl. Let. Jend. Sutoyo, Mojosongo, Surakarta, 57127, Jawa Tengah, Indonesia

*Corresponding Author: rizal.nerazuri@gmail.com

Received: Agustus 26, 2019; Revise: October 21., 2019; Accepted: November 8, 2019

DOI : <https://doi.org/10.31001/biomedika.v12i2.615>

ABSTRAK

Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) adalah jenis *Staphylococcus aureus* yang tahan terhadap antibiotik jenis beta-laktam, seperti metisilin, penisilin, ampicilin, dan amoksisilin. Persentase kejadian MRSA di Indonesia cukup tinggi yaitu sebanyak 23,5%. Deteksi MRSA dapat dilakukan menggunakan metode kultur dan *Polymerase Chain Reaction (PCR)*. Tujuan penelitian untuk mengetahui perbandingan kecepatan dan sensitivitas dari metode kultur dan PCR dalam mendeteksi *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* pada pasien RSUD Dr. Moewardi Surakarta. Metode penelitian yang digunakan adalah eksperimental dengan pendekatan komparatif (perbandingan). Sampel yang digunakan berupa 3 isolat *Staphylococcus aureus* suspek MRSA pasien RSUD Dr. Moewardi Surakarta. Deteksi MRSA menggunakan uji difusi cakram antibiotik penisilin, ampicilin, amoksisilin dan vankomisin serta menggunakan *Polymerase Chain Reaction (PCR)*. Hasil kultur menunjukkan bahwa 3 sampel suspek *S.aureus* pada pasien RSUD Dr. Moewardi adalah positif MRSA. Identifikasi sampel dengan PCR menunjukkan bahwa semua sampel positif MRSA. Metode PCR lebih cepat dan sensitif untuk mendeteksi MRSA dibandingkan dengan metode kultur.

Kata kunci: antibiotik; kultur; MRSA; PCR

ABSTRACT

Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) is type of *Staphylococcus aureus* resistant to beta-lactam antibiotics, such as methicillin, penicillin, ampicillin, and amoxicillin. The percentage of MRSA occurrence in Indonesia is quite high namely 23.5%. MRSA detection can be done using culture method and *Polymerase Chain Reaction (PCR)*. This research aims to find out the comparison of speed and sensitivity between the culture method and *Polymerase Chain Reaction (PCR)* in detecting *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* towards the patients of RSUD Dr. Moewardi Surakarta. This research used experimental analytic research design along with comparative research design. This experiment observed 3 samples of bacterial isolates *Staphylococcus aureus* MRSA suspect patients of RSUD Dr. Moewardi Surakarta. The detection of MRSA was conducted using disk diffusion test of penicillin, ampicillin, amoxicillin and vancomycin as well as using *Polymerase Chain Reaction (PCR)*. The results of the research indicate that *Polymerase Chain Reaction (PCR)* method was faster and more sensitive to detect *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* on the patients of RSUD Dr. Moewardi Surakarta.

Key word: antibiotics; culture; MRSA; PCR



PENDAHULUAN

Staphylococcus aureus merupakan anggota flora normal kulit pada manusia dan hewan. Bakteri ini memiliki reseptor untuk dapat melekat pada sel inang, memproduksi enzim lisozim ekstraseluler dalam menginvasi dan mengkatalisis fibrinogen untuk pertahanan tubuhnya (Gillespie dan Bamford, 2009). Pengobatan infeksi *Staphylococcus aureus* dapat diberikan antibiotik golongan penisilin, namun dalam infeksi yang berat bakteri ini menjadi resisten penisilin. Metisilin kemudian digunakan sebagai antibiotik untuk mengobati infeksi *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap penisilin. Seiring dengan perkembangannya, bakteri ini menjadi resisten terhadap metisilin yang disebut *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) (Noorhamdani, 2016). *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) adalah penyebab utama infeksi nosokomial, yaitu infeksi yang diperoleh di rumah sakit yang berupa infeksi pasca tindakan operasi, infeksi saluran urin sampai saluran pernafasan (Kemalapatni dkk., 2017). Resistensi MRSA terhadap antibiotik golongan beta-laktam dikarenakan bakteri ini

mempunyai penisilinase dan protein mutan *penicillin-binding protein 2a* (PBP2a) yang disandi oleh gen *mecA* (Yuwono, 2012).

Sebuah penelitian pada pasien rumah sakit Universitas Hasanudin menyatakan bahwa metode kultur dapat digunakan untuk mendeteksi MRSA dengan metode difusi (cakram). Difusi cakram antibiotik tunggal dengan standarisasi yang baik, dapat menentukan kepekaan dan resistensi bakteri dengan cara membandingkan zona hambatan standar bagi obat yang sama (Nismawati *et al.*, 2018). Identifikasi MRSA juga dapat dilakukan dengan pendekatan biologi molekular yaitu dengan cara mendeteksi keberadaan gen *mecA* dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) (Yuwono, 2010). Pada penelitian ini sampel yang digunakan adalah sampel dari pasien RSUD Dr. Moewardi Surakarta. Sejauh ini identifikasi dan deteksi secara molekuler suspek MRSA yang diperoleh dari sampel klinis pasien masih sangat jarang dilakukan. Deteksi molekuler pada sampel terduga MRSA diharapkan lebih cepat dan sensitif dibandingkan dengan metode yang lain.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan

kecepatan dan sensitifitas dari kedua jenis metode pemeriksaan yaitu metode kultur dan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dalam mendeteksi *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* pada pasien rumah sakit khususnya di RSUD Dr. Moewardi Surakarta.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan pendekatan komparatif (perbandingan).

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain *autoclave* (Bio-rad, USA), lemari es (Shrap, Japan), inkubator, oven, gelas objek, pembakar spirtus, rak pengecatan, rak tabung reaksi, mikroskop, *vortex*, *microcentrifuge*, *microcentrifuge tube*, *termomixer* (i-labware, Singapore), *micropipete*, *microtubes*, *spinner*, kuvet, *biophotometer*, *pcr selectcyler ii*, cetakan agarosa, wadah elektroforesis, *amplifier*, dan *bio-rad gel doc xr⁺* (Bio-rad, USA).

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain isolat pasien *Staphylococcus aureus* suspek MRSA pada media NA (*Nutrient Agar*) miring, Media *Nutrien Agar* (NA), media *Brain*

Heart Infusion (BHI), media *Vogel Johnson Agar* (VJA), media MHA (*Mueller Hinton Agar*) yang diperoleh dari Sigma/Aldrich, St. Louis, MO, USA. larutan H₂O₂, larutan NaCl fisiologis, larutan plasma sitrat, larutan kalium telurit, reagen Gram (A, B, C, D), minyak imersi, awuades, alcohol, cakram antibiotik penisilin, ampisilin, amoksisilin dan vankomisin, *PrestoTM Mini gDNA Bacteria Kit*, larutan *TE Buffer*, larutan primer *mecA forward*: 5'AAAATCGATGGTAAAGGTTGGC3', larutan primer *mecA reverse*:

5'AGTTCTGCAGTACCGGATTGTC3', larutan *Go Tac Green Promeg Polymerase Mix Reaction*, Agarosa bubuk, larutan *TAE Buffer*, larutan *TAE*, dan larutan *marker "Invitrogen" SYBR Safe DNA gel stain* (Merck®, Darmstadt, Germany).

Prosedur Penelitian

Isolasi *Staphylococcus aureus*

Penelitian ini dilakukan dengan pengambilan dan isolasi specimen yang dilanjutkan dengan kultur. Sebelumnya dilakukan sterilisasi alat dan pembuatan media *Nutrient Agar* (NA), *Brain Heart Infusion* (BHI), *Vogel Johnson Agar* (VJA), dan *Mueller-Hinton Agar* (MHA).

Sampel pasien yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi RSUD Dr. Moewardi digoreskan pada media *Nutrient Agar* (NA) miring kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil kultur kemudian diambil satu ose, lalu digoreskan pada media *Vogel Johnson Agar* (VJA). Media VJA yang telah digores sampel kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam di inkubator. Adanya koloni berwarna hitam dengan sekitar media berwarna kuning disekitar koloni menunjukkan hasil positif terdapat *Staphylococcus aureus*.

Identifikasi *Staphylococcus aureus*

1. Pengecatan Gram

Koloni yang dihasilkan dari media VJA selanjutnya dilakukan pewarnaan gram dengan mengambil satu ose koloni yang dicurigai *Staphylococcus aureus* dari media VJA dan diletakkan pada tetesan NaCl fisiologis di gelas objek. Kemudian dilakukan pengecatan Gram A, Gram B, Gram C dan Gram D secara berturut-turut. Preparat dikeringkan pada suhu ruang dan diamati di mikroskop dengan perbesaran 100x menggunakan minyak imersi. Morfologi bakteri gram positif *Staphylococcus*

aureus terlihat bulat dengan susunan berkelompok seperti buah anggur berwarna ungu.

2. Uji Katalase

Uji katalase dilakukan dengan penambahan hidrogen peroksida pada isolat. Katalase dapat menguraikan H₂O₂ menjadi hidrogen dan oksigen sehingga terbentuknya gelembung udara menunjukkan hasil positif yang menandakan bahwa bakteri tersebut adalah *Staphylococcus aureus*.

3. Uji Koagulase

Uji koagulase dilakukan dengan penambahan plasma sitrat pada isolat. Koagulase dapat menggumpalkan plasma sehingga terbentuknya gumpalan antara suspensi bakteri dengan plasma sitrat menunjukkan hasil positif.

Deteksi MRSA dengan metode kultur

Deteksi dilakukan dengan uji sensitivitas antibiotik menggunakan metode difusi cakram disk. Kultur positif *Staphylococcus aureus* dibuat suspensi dengan standar kekeruhan Mc Farland 0.5 pada media *Brain Heart Infusion* (BHI). Kemudian bakteri tersebut diambil dengan mencelupkan kapas lidi steril ke dalam medium, lalu diperas dengan menekan ke dinding

lalu disebar merata pada media *Mueller-Hinton Agar* (MHA).

Disk antibiotik penisilin, ampicilin, amoksisilin dan vancomisin diletakkan pada permukaan *Mueller-Hinton Agar* (MHA) menggunakan pinset, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Zona jernih atau bersih disekeliling kertas disk diukur menggunakan penggaris.

Deteksi MRSA dengan metode PCR

1. Isolasi dan Konsentrasi DNA bakteri

Isolasi DNA dilakukan dengan *Presto™ Mini gDNA Bacteria Kit*. Putar 1 ml suspensi bakteri sampel dalam *microcentrifuge tube* dengan kecepatan 11000 rpm selama 1 menit menggunakan sentrifus. Buang filtrat dan supernatan kemudian ditambah larutan campuran *Gram⁺ Buffer* dan Lisosim sebanyak 200 µl, lalu *vortex* dan inkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit di *termomixer*. Selama inkubasi, bolak-balikan *microcentrifuge tube* setiap 10 menit sekali. Putar kembali *microcentrifuge tube* 8500 rpm selama 20 detik kemudian divortex. Masukkan 20 µl Proteinase K kemudian *vortex* dan inkubasi pada suhu 60°C 10 menit

di *termomixer*. Selama inkubasi, bolak-balikan *microcentrifuge* setiap 3 menit sekali. Putar *microcentrifuge tube* 8500 rpm selama 20 detik. Masukkan 200 µl *GB Buffer* dan inkubasi pada suhu 70°C selama 10 menit di *termomixer*. Selama inkubasi bolak-balikan *microcentrifuge tube* setiap 3 menit sekali. Kemudian masukkan 200 µl etanol absolut lalu *vortex*. Setelah itu masukkan 700 µl suspensi campuran ke dalam kolom spin pada *collection cube*, putar dengan kecepatan 11000 rpm selama 20 detik. Kemudian pindahkan kolom spin pada *collection cube* yang baru, tambahkan 400 µl *W1 Buffer* dalam kolom GD. Putar dengan kecepatan 11000 rpm selama 30 detik. Buang filtrat pada *collection cube*, dipindahkan kolom GD pada *collection cube* yang baru. Masukkan 400 µl *Wash Buffer* ke dalam kolom GD lalu putar dengan kecepatan 11000 rpm selama 30 detik. Buang filtrat pada *collection cube*, dipindahkan kolom GD pada *collection cube* yang baru. Kemudian putar 11000 rpm selama 30 menit. Buang filtrat pada *collection cube*, dipindahkan kolom GD pada *collection cube* yang baru. Lalu tambahkan 50 µl *Elution Buffer* ke dalam kolom GD, inkubasi pada suhu ruang

selama 3 menit. Kemudian putar 11000 rpm selama 30 detik. Buang kolom GD, *collection cube* disimpan di freezer untuk proses PCR.

Pengukuran konsentrasi DNA dilakukan dengan *Biophotometer* Campurkan 50 µl sampel isolasi DNA dan 45 µl ke dalam kuvet. Kemudian masukkan kuvet ke dalam alat lalu tekan "Sampel". Hasil konsentrasi DNA yang muncul pada layar dibaca pada panjang gelombang 260 dan 230.

2. Amplifikasi dengan PCR

Polymerase Chain Reaction (PCR) dilakukan dengan *Go Tac Green Promeg Polymerase Mix Reaction*. Masukkan 30 µl *TE Buffer* dan 100 µl primer gen *mecA* ke dalam tube PCR. Kemudian tambahkan 50 µl Polimerase campuran dan 1000 µl sampel DNA yang telah diisolasi lalu *spinner*. Masukkan tube PCR dalam alat PCR *SelectCycler II*. Mesin PCR diprogram dengan suhu Denaturasi 95°C selama 1 menit, Anneling 62°C selama 1 menit dan Elongasi 72°C selama 1 menit, serta Elongasi akhir 72°C selama 5 menit. Proses PCR dilakukan sebanyak 35 siklus. Tekan "Start", tunggu hingga proses PCR selesai dijalankan.

3. Elektroforesis

Gel agarosa 2% dibuat terlebih dahulu dengan mencampurkan 2 gram agarosa dan 200 ml *TAE Buffer* dalam erlenmeyer. Kemudian oven selama 2 menit untuk melarutkan. Selanjutnya *vortex* sampai larut dan dingin. Tuang agar ke cetakan agarosa dan dibiarkan hingga padat. Masukkan 800 ml larutan *TAE* ke dalam wadah elektroforesis. Lalu letakkan agar pada tengah wadah elektroforesis berisi larutan *TAE*. Masukkan 500 µl sampel isolasi DNA dan 500 µl marker pada lubang cetakan agar yang sama. Tutup wadah elektroforesis. Amplifier diatur pada tegangan 100 volt 400 mA selama 30 menit dan tunggu sampai proses berjalan selesai. Dibuka penutup wadah elektroforesis, ambil agar agarosa dan letakkan pada alat *BIORAD* tepat di atas sinar UV. Klik "Gel Doc" pada komputer, lalu klik "Auto Expore" dan klik "Trans UV". Hasil elektroforesis dilihat pada layar computer.

Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian adalah ukuran zona hambat bakteri dari uji sensitivitas antibiotik penisilin, ampicilin, amoksisilin dan vankomisin dari

metode kultur dan data gen resisten *mecA* isolat bakteri MRSA dengan melihat adanya pita-pita pada gel elektroforesis. Data deskriptif yang diperoleh akan ditampilkan dalam bentuk tabel dan gambar lalu diberikan pembahasan dan kesimpulan berdasarkan data yang terkumpul.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi *Staphylococcus aureus*



Sampel A Sampel B Sampel C

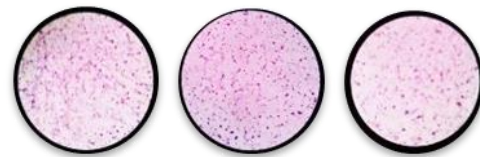
Gambar 1. Hasil Isolasi *Staphylococcus aureus* pada Media VJA. Keterangan: sampel A, B dan C: sampel suspek *S.aureus* dari pasien RSUD Dr. Moewardi.

Isolasi sampel A, B dan C pada media *Vogel Johnson Agar* (VJA) ketiganya masing-masing menunjukkan koloni hitam dengan keliling media yang berwarna kuning (Gambar 1). Koloni hitam yang terbentuk pada media VJA ini disebabkan karena *Staphylococcus aureus* mampu mereduksi telurit (yang ditambahkan pada media) menjadi logam tellurium sehingga mengakibatkan koloni berwarna hitam. Sedangkan warna kuning di

sekitar koloni dikarenakan *Staphylococcus aureus* dapat memfermentasi manitol (Primatika, et al., 2015).

Identifikasi *Staphylococcus aureus*

1. Pengecatan Gram

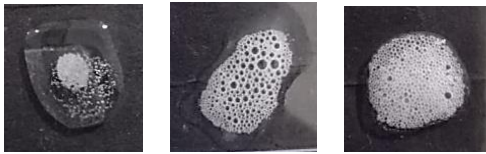


Sampel A Sampel B Sampel C

Gambar 2. Hasil Identifikasi *Staphylococcus aureus* pada Pengecatan Gram. Keterangan: sampel A, B dan C: sampel suspek *S.aureus* dari pasien RSUD Dr. Moewardi.

Pengamatan morfologi secara mikroskopis (Gambar 2) menunjukkan bahwa *Staphylococcus aureus* pada masing-masing sampel (A, B dan C) berbentuk *coccus*, bergerombol dan berwarna ungu yang merupakan ciri bakteri gram positif. Pewarna ungu (*crystal violet*) dan iodine menyatu di dalam sitoplasma bakteri sehingga memberikan warna ungu pada bakteri. Kandungan peptidoglikan yang lebih tebal dibandingkan dengan dinding sel gram negatif sehingga tidak terpengaruh dengan pewarna pembanding (safranin) (Murwani, 2015).

2. Uji Katalase

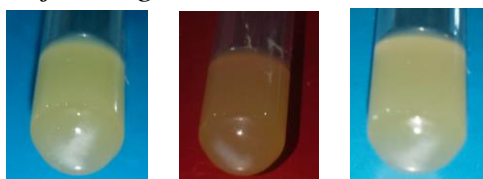


Sampel A Sampel B Sampel C

Gambar 3. Hasil Uji Katalase Sampel A, B, dan C. Keterangan: sampel A, B dan C: sampel suspek *S.aureus* dari pasien RSUD Dr. Moewardi.

Pengamatan pada uji katalase untuk sampel A, B dan C (Gambar 3), ketiganya menunjukkan hasil reaksi yang positif yaitu ditandai dengan terbentuknya gelembung gas pada gelas objek dengan latar belakang hitam. Adanya gelembung gas yang terbentuk disebabkan karena *Staphylococcus aureus* memiliki enzim katalase yang dapat menguraikan hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi air (H_2O) dan gas (O_2) (Dewi, 2013).

3. Uji Koagulase



Sampel A Sampel B Sampel C

Gambar 4. Hasil Uji Koagulase Sampel A, B dan C. Keterangan: sampel A, B dan C: sampel suspek *S.aureus* dari pasien RSUD Dr. Moewardi.

Identifikasi sampel A, B dan C pada uji koagulase, ketiganya menunjukkan hasil koagulase positif yaitu terbentuknya gumpalan berwarna putih di dasar tabung. Uji koagulase digunakan untuk mengetahui ada tidaknya enzim koagulase yang dihasilkan oleh *Staphylococcus aureus*. Koagulase positif umumnya dihasilkan oleh *Staphylococcus aureus* (Toelle dan Lenda, 2014).

Deteksi MRSA Metode Kultur

Deteksi MRSA dengan metode kultur dilakukan dengan uji sensitivitas antibiotik metode difusi terhadap *Staphylococcus aureus* menggunakan media MHA dapat dilihat hasil zona hambat disekeliling kertas disk antibiotik pada Gambar 5 dan Tabel 1.



Sampel A Sampel B Sampel C

Gambar 5. Hasil Uji Difusi Agar Beberapa Antibiotik terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Keterangan: sampel A, B dan C: sampel suspek *S.aureus* dari pasien RSUD Dr. Moewardi.

Tabel 1. Hasil Pengamatan Uji Difusi Antibiotik Penisilin, Ampisilin, Amoksisilin dan Vankomisin terhadap Sampel A, B & C

Sampel	Antibiotik	Diameter Zona Hambatan (mm)			Rata-rata Diameter Zona Hambatan (mm)
		Cawan 1	Cawan 2	Cawan 3	
A	Penisilin	1	0,9	-	0,7
	Ampisilin	-	-	-	-
	Amoksisilin	-	-	-	-
	Vankomisin	17	16	12	15
B	Penisilin	0,9	0,9	-	0,6
	Ampisilin	-	-	-	-
	Amoksisilin	-	-	-	-
	Vankomisin	17	19	12	19,3
C	Penisilin	-	-	-	-
	Ampisilin	-	-	-	-
	Amoksisilin	-	-	-	-
	Vankomisin	18	19	22	19,6

Uji sensitivitas antibiotik menggunakan metode kultur difusi menunjukkan bahwa daya penghambatan antibiotik penisilin terhadap sampel A, B dan C dengan rata-rata diameter hambatan 0,65 mm, penisilin tergolong resistan karena memiliki diameter zona hambat kurang dari 20 mm. Antibiotik ampisilin dan amoksisilin tidak memiliki daya hambatan terhadap ketiga sampel. Vankomisin menunjukkan daya penghambatan yang tergolong sensitif dengan rata-rata diameter zona hambatan 17,9 mm.

Resistensi bakteri terhadap penisilin bisa terjadi karena bakteri membentuk enzim β -laktamase melalui kendali genetik oleh plasmid sehingga cincin β -laktam akan terbuka dan khasiat antibiotik

akan hilang (Sunaryo, 2014). Resistensi terhadap ampisilin dapat terjadi karena plasmid yang disebabkan oleh beta-laktamase yang memecah cincin beta-laktam (Nguyen, 2018). Sedangkan amoksisilin relatif rentan terhadap hidrolisis oleh β -laktamase (Katzung *et al.*, 2012). Lain halnya dengan vankomisin yang masih sensitif karena dapat menghambat dinding sel dengan menghambat pembentukan enzim transpeptidase yang berfungsi dalam mensintesis peptidoglikan dan menghentikan proses transpeptidasi tetapi mekanisme kerjanya berbeda dengan obat β -laktam (Levinson, 2006).

Metode kultur dapat digunakan untuk mendeteksi MRSA dengan kelebihan yaitu murah,

mudah dilakukan, dan bahan yang digunakan mudah didapatkan. Namun, metode ini memerlukan waktu yang lama, jumlah bakteri yang banyak serta membutuhkan keterampilan dalam mengidentifikasi bakteri (Bakri *et al.*, 2015).

Deteksi MRSA Metode PCR

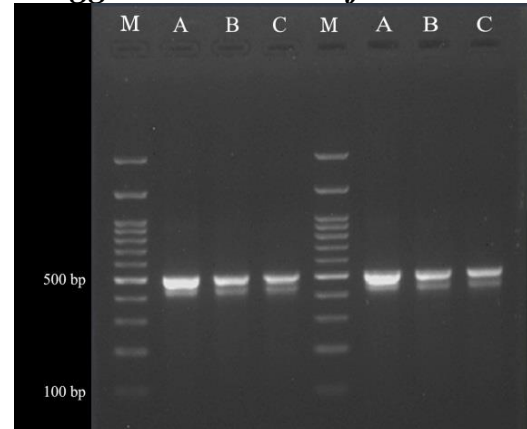
Isolasi dan Konsentrasi DNA

Tabel 2. Hasil Pengukuran Konsentrasi DNA dengan *Biophotometer*

Isolat DNA	Konsentrasi DNA	Kemurnian
Sampel A	0,78	1,95
Sampel B	0,76	1,90
Sampel C	0,70	1,75

Dari ketiga sampel yang diuji, seluruhnya menunjukkan angka sekitar 1,75-1,95. kemurnian DNA dikatakan kualitasnya baik apabila nilai absorbansi 260 terhadap nilai absorbansi 230 berkisar 1,8-2. Jika rasio kurang dari 1,75 maka DNA masih mengandung protein, sedangkan jika lebih dari 2,0 DNA dikatakan masih mengandung RNA (Sambrook *et al.*, 2001). Hal ini dapat diartikan bahwa masing-masing sampel dalam penelitian ini memiliki kemurnian DNA tanpa kontaminasi protein maupun RNA.

Visualisasi Amplifikasi DNA Menggunakan Elektroforesis Gel



Gambar 6. Hasil elektroforesis Sampel A, B dan C

Ket: M=DNA marker 100 bp; A,B,C=sampel; pita DNA sampel=500bp

Deteksi MRSA dengan metode PCR dilihat dari keberadaan gen *mecA* ditandai dengan kemunculan pita pola DNA yang teramplifikasi dengan panjang pita ampikom 500 bp. Hal ini sesuai dengan penelitian Kuntaman *et al* (2016) dan Nasution (2017) yang menyatakan bahwa gen *mecA* dapat teramplifikasi pada panjang pita sekitar 500 bp.

Pita DNA yang relatif tebal pada seluruh sampel pasien menunjukkan bahwa primer berhasil menempel dengan spesifik pada DNA cetakan dan berhasil memurnikan fragmen DNA gen dari pengotor seperti komponen PCR, protein dan garam pada proses purifikasi. Gen resistensi antibiotik dari *Staphylococcus aureus*, gen *mecA*, berperan untuk sebagian besar antibiotik beta-laktam.

Staphylococcus aureus berubah menjadi resisten metisilin (MRSA) karena mendapat sisipan elemen DNA yang berukuran besar dari *Staphylococcal Cassete Chromosome* (SCC*mec*) sebagai penyandi *penicillin-binding* protein (PBP). PBP merupakan protein mutan berisi sekelompok enzim pada membran sel *Staphylococcus aureus* yang dapat mengkatalisis reaksi transpeptidasi dalam pembentukan peptidoglikan. (Nasution, 2017).

Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) juga terbukti spesifik mendeteksi *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), dilihat dengan adanya pita DNA yang berukuran 500 bp. PCR memiliki tingkat sensitivitas yang lebih besar dari pemeriksaan kultur, karena hanya membutuhkan jumlah bakteri sebanyak 1 ml dengan konsentrasi 1.10^3 CFU/ml. Hal ini sesuai dengan penelitian Prajawaty dan Fatmawati (2018) yang melaporkan bahwa deteksi *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) menggunakan metode PCR memiliki sensitivitas yang cukup tinggi, tanpa menurunkan tingkat spesifitasnya. Deteksi MRSA dengan menggunakan PCR juga lebih cepat dibandingkan dengan deteksi secara kultur. Deteksi

MRSA dengan menggunakan PCR hanya membutuhkan waktu 9 jam, namun deteksi dengan menggunakan kultur membutuhkan waktu 3x24 jam. Metode PCR yang cepat dapat menjadi *gold standart* pemeriksaan karena dapat mendeteksi secara cepat dan akurat. Dengan deteksi yang cepat dan akurat akan memudahkan tenaga kesehatan dalam pemberian obat atau treatment pada pasien. *Polymerase Chain Reaction* (PCR) memiliki beberapa kelemahan, antara lain biaya peralatan dan reagen yang mahal dan terbatas, primer tidak tersedia untuk semua penyakit, sangat mudah terkontaminasi, dan teknik prosedur yang kompleks dan bertahap sehingga membutuhkan keahlian khusus.

KESIMPULAN

Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) pada pasien RSUD Dr. Moewardi Surakarta dapat dideteksi menggunakan metode kultur dan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) lebih cepat dan sensitif untuk mendeteksi *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* pada pasien RSUD Dr. Moewardi Surakarta.

DAFTAR PUSTAKA

- Bakri, Zakia., Hatta, Mohammad., dan Massi, Muh.Nasrum. 2015. Deteksi Keberadaan Bakteri *Escherichia coli* O157:H7 pada Feses Penderita Diare Dengan Metode Kultur dan PCR. *JST Kesehatan*, 5(2), 184-192.
- Dewi, Amalia Krishna. 2013. "Isolasi, Identifikasi dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap Amoxicillin dari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa (PE) Penderita Mastitis di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta". *Jurnal Sain Veteriner*. 31(2): 138-150.
- Gillespie, S.H dan Bamford, K.B. 2007. *Medical Microbiology and Infection at a Glance Third Edition*. Diterjemahkan oleh Stella Tinia H. 2009. Jakarta. Erlangga.
- Katzung, B.G., Masters, S.B., dan Trevor, A.J. 2012. *Farmakologi Dasar dan Klinik Edisi 12 Vol.2*. Diterjemahkan oleh Brahm U.P. 2013. Jakarta. EGC.
- Kemalaputri, D.W., Jannah, S.N., dan Budiharjo, A. 2017. Deteksi MRSA (*Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*) Pada Pasien Rumah Sakit dengan Metode Maldi-TOF MS dan Multiplex PCR. *Jurnal Biologi*, 6(4), 51-61.
- Kuntaman, K., Hadi, U., Setiawan, F., Koendori, E.B., Rusli, M., Santosaningsih., Severin, Juliette., dan Verburgh, H.A. 2016. Prevalence of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* From Nose and Throat of Patients on Admission in Medical Wards of Dr Soetomo Hospital, Surabaya, Indonesia. *Southeast Asian J Trop Public Health*. 47(1), 66-70.
- Levinson, Warren. 2006. *Review of Medical Microbiology and Immunology 13th Edition*. San Fransisco. McGraw-Hill.
- Murwani, Sri. 2015. *Dasar-dasar Mikrobiologi Veterinaria*. Universitas Brawijaya Press.
- Nasution, G.S. 2017. *Deteksi Gen Resistensi mecA Pada Isolat Bakteri Staphylococcus aureus yang Tergolong MRSA Dari Hasil Pemeriksaan Vitek 2 Compact*. Tesis. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Univeristas Sumatera Utara.
- Nguyen, Nam H. 2018. *Penting 18000 Kata Medical Dictionary di Indonesia:Essensial 18000 Medical Words Dictionary in Indonesia*.
- Nismawati., Sjayhril, R., dan Agus, R. 2018. *Deteksi Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) Pada Pasien Rumah Sakit Universitas Hasanudin dengan Metode Kultur*. Seminar Nasional Megabiodeversitas Indonesia. Gowa, 09 April 2018. Hal 15-21.
- Noorhamdani, AS. 2016. Infeksi Bakteri MRSA Pada Kulit. *Skin Infection: Its Must Know Disease*, 228-234.
- Prajawaty, P.A.U., dan Fatmawati, N.N.D. 2018. Deteksi Molekuler *Meca* Pada Isolat Klinis *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) Dengan Menggunakan Tenik Polymerase Chain Protein (PCR) DI Rsuo Sanglah Denpasar. *Intisari Sains Medis*, 9(3), 74-77.
- Primatika, R.A., Nugroho, W.S., dan Abdai, R.D. 2015. Analisis Cemaran *Staphylococcus aureus* pada Gelas, Darah Segar dan Jamu Drogenan Ramuan Darah Ular Kobra Jawa (*Naja sputatrix*). *Jurnal Sain Veteriner*, 33(2), 190-194.
- Sambrook, Joseph dan Russell, David William. 2001. *Molecular Cloning: A Alaboratory Manual. Vol. 3*. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Sunaryo. 2014. *Kimia Farmasi*. Jakarta. EGC.Toelle, Novianti Neliyanti., dan Lenda Viktor. 2014. Identifikasi dan Karakteristik *Staphylococcus Sp* dan *Streptococcus Sp*. dari Infeksi Ovarium Pada Ayam Petelur Komersial. *Jurnal Ilmu Ternak*, 1(7), 32-37.
- Yuwono, H. 2010. Pandemi Resistensi Antimikroba: Belajar dari MRSA. *JKK*, 1, 2837-2850.
- Yuwono, H. 2012. *Staphylococcus aureus dan Methicillin Resistant Staphylococcus aures* (MRSA). Palembang. Departemen Mikrobiologi FK Unsri.