

IDENTIFIKASI BAKTERI *OXACILLIN RESISTANT STAPHYLOCOCCUS AUREUS* (ORSA) PADA ULKUS PENDERITA DIABETES MELLITUS DI RUANG PERAWATAN BEDAH RUMAH SAKIT UMUM DAERAH (RSUD) TASIKMALAYA

R. Suhartati ,Elyza Nur Faidah
Program Studi DIII Analis Kesehatan
STIKes Bakti Tunas Husada Tasikmalaya

ABSTRAK

Staphylococcus aureus adalah bakteri kokus Gram positif yang menimbulkan penyakit infeksi pada manusia. Pasien *diabetes mellitus* yang mempunyai luka terbuka akan lebih mudah mengalami infeksi *Staphylococcus aureus*. Saat ini telah ditemukan strain *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap *methicillin* yang disebut *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). MRSA disebut juga ORSA (*Oxacillin Resistant Staphylococcus aureus*). ORSA/MRSA bersifat kebal terhadap beberapa jenis antibiotik sehingga pengobatannya menjadi sulit. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi keberadaan bakteri ORSA pada ulkus penderita diabetes yang dirawat di ruang perawatan bedah RSUD Tasikmalaya.

Metode penelitian ini bersifat deskriptif, dilaksanakan bulan meiterhadap 4 pasien ulkus penderita *diabetes melitus* yang dirawat di RSUD Tasikmalaya.

Dari hasil penelitian didapat dari 4 sampel diperoleh satu sampel resisten terhadap antibiotik oxacillin dengan rata-rata diameter zona hambat 8,5 mm, sedangkan 2 sampel lainnya sensitif dengan rata-rata diameter zona hambat 23.5 mm dan 25,5mm.

Kesimpulan dari hasil penelitian yang dilakukan pada ulkus penderita *diabetes mellitus* yang dirawat di ruang perawatan bedah RSUD Tasikmalaya didapat hasil ditemukannya bakteri MRSA/ORSA dari 4 sampel yang diisolasi terdapat 1 sampel positif ORSA (*Oxacillin Resistant Staphylococcus aureus*) dengan presentasi sebesar 25 %.

BAB IPENDAHULUAN

Dalam beberapa tahun terakhir, angka kejadian penyakit infeksi semakin meningkat, termasuk angka kejadian infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*. Orang – orang yang paling rentan terhadap infeksi *Staphylococcus aureus* adalah mereka yang mempunyai sistem pertahanan tubuh yang lemah, anak yang baru dilahirkan, pasien bedah dan luka bakar (Volk.A.W & Wheeler F.M, 1990 : 151).

Staphylococcus aureus, adalah bakteri kokus Gram positif yang

susunannya bergerombol seperti buah anggur. Bakteri ini menimbulkan penyakit pada manusia. Tubuh yang terinfeksi oleh *Staphylococcus aureus* mempunyai tanda-tanda yang khas, yaitu peradangan, nekrosis, dan pembentukan abses (Warsa, U.C, 1994 : 103).

Sampai sekarang, antibiotik golongan betalaktam seperti penisilin masih dipergunakan untuk pengobatan terhadap infeksi penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus*. Namun saat ini telah ditemukan strain dari *Staphylococcus aureus* yang resisten

terhadap penisilin. Resistensi terhadap penisilin disebabkan karena *Staphylococcus aureus* menghasilkan enzim β -Laktamase yang merusak cincin β -Laktam. β -Laktamase membuka cincin β -Laktam penisilin dan menghilangkan aktivitas antimikrobanya. Oleh karena itu selanjutnya digunakan antibiotik methicillin untuk pengobatan infeksi oleh *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap penisilin (Jawetz, Melnick & Adelberg's, 2005 : 110).

Dewasa ini, ditemukan pula adanya strain *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap methicillin dan disebut *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) (Schaeffler, 1989 : 132 – 134). MRSA disebut juga ORSA (*Oxacillin Resistant Staphylococcus aureus*). MRSA dan ORSA adalah nama yang berbeda untuk satu jenis bakteri yang sama. Efektifitas oksasilin dan methisilin terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* adalah sama (Sutedjo AY, 2008 : 74).

Sebagai akibat dari infeksi ORSA/MRSA yang multiresisten ini maka pemilihan antibiotik untuk terapi menjadi semakin sulit (Chambers HF, 1997 : 10). Bakteri menjadi resisten terhadap oksasilin dan methisilin karena terjadi produksi protein alami pengikat penisilin PBP 2a (*Penicillin Binding Proteins*) yang memiliki afinitas rendah pada pengikatan oksasilin dan methicillin. Selain itu ORSA mengalami resistensi karena perubahan genetik yang disebabkan paparan

antibiotik yang tidak rasional (Pratiwi T.S, 2008 : 168).

ORSA merupakan salah satu bakteri pencetus infeksi nosokomial, yaitu infeksi yang didapat di rumah sakit oleh seorang penderita selama perawatan. ORSA dapat bertahan hidup dengan baik pada lingkungan yang kering seperti debu, udara dan spreng (Karnadihardja, 1989 : 131).

Penyebab infeksi ORSA yang terjadi di Rumah Sakit dikarenakan penggunaan antibiotik yang tidak terkontrol, penularan dari pasien ke pasien atau kontak dengan penderita, dari udara dalam ruangan yang tercemar bakteri ORSA, dari fasilitas ruangan misalnya selimut atau kain tempat tidur, kurangnya kebersihan para petugas kesehatan dalam melakukan perawatan kepada pasien dan tidak adanya ruang isolasi bagi pasien yang sudah terinfeksi ORSA. Akibat adanya infeksi ORSA sebagai infeksi nosokomial inilah yang dapat memperpanjang masa perawatan pasien di Rumah Sakit dan kondisi yang semakin memburuk. Apalagi antibiotik untuk infeksi ORSA sangat sulit diperoleh dan mahal sehingga menjadi beban berat pasien (Nurkusuma D.D, 2009 : 4).

Pasien *diabetes mellitus* yang mempunyai luka terbuka akan lebih mudah mengalami infeksi, karena mempunyai daya tahan tubuh yang lemah dan adanya gula darah yang tinggi menjadi tempat yang strategis untuk pertumbuhan bakteri (Hastuti T.R, 2008 :

11). Berdasarkan latar belakang diatas, penulis tertarik untuk melakukan penelitian identifikasi bakteri ORSA pada ulkus penderita *Diabetes Mellitus* yang dirawat di ruang perawatan bedah Rumah Sakit Umum Daerah (RSUD) Tasikmalaya.

METODE PENELITIAN

Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian adalah Inkubator *memert*, Sterilisator kering, autoklaf, turbidimeter, tabung reaksi, cawan petri, swab steril, objek glass, jangka sorong.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Pewarnaan Gram, media Agar darah, media Manitol Salt Agar, Mueller Hinton Agar, kertas cakram oxacillin 1 ug, larutan garam fisiologis steril, larutan asam sulfat 1%, larutan barium klorida 1 %.

PROSEDUR PENELITIAN

1. Sterilisasi

Sterilisasi Alat

Sebelum melakukan penelitian alat-alat yang terbuat dari gelas seperti cawan petri, tabung, erlenmeyer, batang pengaduk, dan lain-lain dibungkus rapi dengan kertas payung, kemudian dimasukkan ke dalam oven untuk sterilisasi selama 2 jam pada suhu 160⁰C. sedangkan sterilisasi media

Media yang telah dilarutkan dalam erlenmeyer diautoclave pada tekanan 1-2 atm, dengan suhu mencapai 110-120⁰C, selama 15-20 menit, supaya mikroorganisme dan spora dimatikan.

2. Pembuatan Media

a. Media MSA

Bacto ekstrak daging sapi 0,2 gram, Proteosa pepton 2 gram, NaCl 15 gram, manitol 2 gram, merah fenol 0.05 gram, aquadest 200 ml ditimbang dan dilarutkan dalam erlenmeyer (sambil dipanaskan) ditutup dengan kasa kemudian disterilkan.

b. Muller Hinton Agar (Difco)

7,6 gram dalam 200 ml aquadest dilarutkan (sambil dipanaskan) di dalam erlenmeyer, ditutup dengan kasa kemudian disterilkan.

c. Media Agar Nutrient

Timbang 3 gram bacto ekstrak daging, 10 gram bacto pepton, 15 gram bacto agar, 5 gram NaCl, masukan ke dalam erlenmeyer, kemudian dilarutkan dalam 1 liter aquadest. Panaskan sambil di aduk sampai tercampur dengan sempurna. Kemudian angkat dan lubang erlenmeyer ditutup dengan penutup kasa, erlenmeyer ditutup dengan kertas payung dan diikat dengan tali, kemudian disterilkan. Biarkan agak dingin sekitar suhu 40-45⁰C, kemudian masukkan ke dalam cawan petri.

3. Isolasi dan Identifikasi Bakteri

Alur kerja isolasi bakteri dari spesimen

a. Hari 1 (Pengambilan Sampel)

- Luka terlebih dahulu dibersihkan dengan NaCl fisiologis, kemudian dilakukan swab dengan kapas lidi steril, kemudian dimasukkan pada media TSB steril. Inkubasi 24 jam 37°C secara aerob.
- b. Hari 2 (Penanaman pada media MSA dan pewarnaan gram)
- Sampel swab pada media TSB di amati pertumbuhannya. Hasil positif ditandai dengan adanya kekeruhan. Jika positif terdapat pertumbuhan bakteri lakukan pewarnaan gram. Setelah dilakukan pewarnaan gram, diambil 1 ose bulat steril kemudian ditanam pada media MSA. Inkubasi 24 jam pada suhu 37°C secara aerob.
- c. Hari 3 (identifikasi)
- Alur kerja identifikasi bakteri hasil isolasi dari spesimen
- a. Pengamatan Koloni
- Setelah inkubasi selama 48 jam dilakukan pengamatan terhadap koloni-koloni bakteri yang tumbuh pada Media Salt Agar *Staphylococcus aureus* pada manitol Salt Agar bila bersifat memfermentasikan manitol menjadi asam sehingga media di sekitar koloni terlihat berwarna kuning, bulat, elevasi cembung.
- b. Uji Koagulase Plasma
- Tes koagulase plasma dilakukan dengan cara membuat suspensi bakteri di atas kaca objek dengan larutan plasma sitrat, lalu digoyang-goyang dan setelah 10 detik diperiksa ada tidaknya koagulasi. Hasil positif ditandai terbentuknya gumpalan putih pada kaca objek. Untuk kontrol negatif dipakai suspensi tanpa diberi plasma sitrat.
- c. Kultur
- Kultur bertujuan untuk memperbanyak koloni yang sama. Kultur dilakukan dengan cara mengambil koloni tersangka *Staphylococcus aureus* dari media MSA, kemudian tanamkan pada media Agar Nutrien dan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.
4. Uji Kepekaan (Sensitifity)
- Uji kepekaan terhadap antibiotik oxocillin untuk menentukan *staphylococcus aureus* resisten metisilin dengan menggunakan cara difusi cakram Kirby – Baurer pada agar Mueller Hinton, adapun langkah-langkahnya sebagai berikut :
- a. Pembuatan standar Brown I
- Pembuatan Standar Brown I (Gerard Bonang dan Enggar S.K, 1997 : 190-191).
- Sebanyak 1 ml BaSO₄ dalam Natrium Citrat 1 % (larutan b) dipipet, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ke dalam tabung reaksi ditambahkan 9 ml natrium citrat 1%. Kedua jenis larutan tersebut dicampurkan.
- b. Pembuatan Suspensi Kuman
- Inokulum dibuat dengan cara mengambil tiga sampai lima koloni yang sama dari kuman yang akan diuji pada cawan petri dengan menggunakan ose. Koloni yang diambil tadi lalu

dimasukkan pada sebuah tabung reaksi yang berisi 10 ml NaCl fisiologis steril sehingga terbentuk suspensi bakteri yang akan diuji. Suspensi tersebut lalu dibandingkan dengan standar Brown 1, kalau terlalu keruh ditambah NaCl fisiologis steril, sebaliknya kalau terlalu encer ditambah koloni kuman, sampai dicapai kekeruhan yang sama dengan standar.

c. Uji sensitifity Antibiotik Oxacillin
 Metode Kirby-Bauer

- 1) Dimasukkan kedalam media Muller Hinton suspensi bakteri sebanyak 1 ml.
- 2) Dengan menggunakan lidi kapas steril lalu digoreskan pada semua permukaan media sebanyak 3 kali, cawan petri diputar dengan sudut 60°.
- 3) inokulum dibiarkan mengering selama 3-5 menit pada suhu kamar.
- 4) Cakram antibiotik diletakkan pada inokulum diatas permukaan agar dengan pinset steril.

5) Diinkubasikan dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24-28 jam.

Sesudah diinkubasi, diameter dari masing-masing zona (termasuk diameter cakram) diukur dan dicatat dalam mm. Hasil kemudian diinterpretasikan menurut diameter kritik. Pengukuran dapat dilakukan dengan menggunakan jangka sorong atau penggaris (NCCLS, 1997 : 7-8 dan 11-12).

Diameter zona hambat = diameter zona keseluruhan – diameter kertas cakram.

Hasil dikatakan resisten apabila diameter zona < 10 mm, dikatakan sensitif apabila diameter zona ≥ 13 mm dan dikatakan intermediet apabila diameter zona 11 – 12 mm (Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI), 2007).

HASIL ANALISIS DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil pengamatan isolasi dan identifikasi bakteri MRSA/ORSA dapat dilihat pada table dibawah ini :

Tabel 1. Hasil Pengamatan pada Media Manitol Salt Agar

Sampel	Warna koloni	Diameter	Warna media sekitar koloni	Tersangka
1	Kuning emas	2mm	Kuning	<i>Staphylococcus aureus</i>
2	-	-	-	-
3	Kuning emas	2mm	Kuning	<i>Staphylococcus aureus</i>
4	Kuning emas	2mm	Kuning	<i>Staphylococcus aureus</i>

Tabel 2. Hasil uji plasma koagulase

Nomor sampel	Hasil
1	(+) aglutinasi
3	(+) aglutinasi
4	(+) aglutinasi

Pada tabel 2. diperoleh hasil isolasi bakteri yaitu *Staphylococcus aureus* memberikan hasil positif pada uji plasma koagulase. Hasil positif ditandai dengan adanya aglutinasi hal ini menunjukkan

bahwa bakteri tersebut merupakan bakteri *Staphylococcus* patogen yang memiliki enzim koagulase mampu menggumpalkan plasma citrat pada permukaan bakteri.

Tabel 3. Hasil uji resistensi pada media MH Muller Hinton

Sampel	Zona hambat		Rata-rata	Keterangan
	Diameter 1	Diameter 2		
1	23 mm	24 mm	23,5 mm	Sensitif
3	25 mm	26 mm	25,5 mm	Sensitif
4	8 mm	9 mm	8,5 mm	Resisten

Pada table 3. diperoleh hasil satu sampel dari 4 isolat menunjukkan resisten terhadap antibiotik oxacillin yang ditandai dengan zona hambatan sekitar antibiotik dengan luas ≤ 10 mm. Sedangkan 2 sampel lainnya menunjukkan hasil sensitif dengan ukuran luas zona hambat terhadap antibiotik ≥ 13 mm. Sehingga keberadaan bakteri ORSA dapat ditemukan dari ulkus penderita sebesar 25 %.

Penyebab terdapatnya ORSA pada ulkus penderita *diabetes mellitus* yang dirawat di ruang perawatan bedah RSUD Tasikmalaya diprediksiberasal dari penularan dari pasien ke pasien, dari udara dalam ruangan yang tercemar bakteri ORSA, dari fasilitas ruangan misalnya selimut atau kain tempat tidur, tidak optimalnya sterilisasi ruang yang dilakukan di ruang perawatan, dan tidak tersedianya ruang isolasi bagi pasien yang terinfeksi ORSA.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat ditarik kesimpulan bahwa Rumah Sakit

Umum Daerah Tasikmalaya, ditemukan bakteri *Staphylococcus aureus* resisten Oxacillin atau ORSA sebanyak 25%.

REKOMENDASI

Merekomendasikan melakukan penelitian lanjutan untuk dapat memberikan gambaran MRSA terhadap kejadian infeksi nosokomial di RSUD Tasikmalaya.

DAFTAR PUSTAKA

- Gerard Bonang & Enggar S. Koeswardono, *Mikrobiologi Kedokteran untuk Laboratorium dan klinik*, Gramedia, Jakarta, 1997.
- Hastuti Tri Rini, *Faktor-Faktor Resiko Ulkus Diabetika Pada Penderita Diabetes Mellitus*. Tesis, Semarang (Tesis), 2008.
- Jawetz, Melnick & Adelberg's, *Mikrobiologi Kedokteran*, Salemba Medika, Jakarta, 2005.
- Karnadharja W, *Pengendalian infeksi luka operasi*; Materi penataran dan pelatihan keterampilan petugas dokter dan perawat angkatan 1

dalam bidang pengendalian infeksi nosokomial, RSUP Dr.Hasan Sadikin Bandung, 1989.

Nurkusuma D.D, *Faktor yang Berpengaruh Terhadap Kejadian Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus (MRSA) Pada kasus Infeksi Luka Pasca Operasi di Ruang Perawatan Bedah Rumah Sakit Dokter Kariadi Semarang*, Semarang (Tesis), 2009.

Pratiwi T.S, *Mikrobiologi Farmasi* , Erlangga , Jakarta, 2008.

Schaeffler S, *Methicillin Resistant Strain of Staphylococcus aureus Resistant to Quinolones*,Journal of clinical microbiologi,1989.

Sutedjo AY, *Mengenal Obat-Obatan Secara Mudah dan Aplikasinya dalam Perawatan*, Amara Books, Yogyakarta, 2008.

Volk.A.W & Wheeler F.M, *Mikrobiologi Dasar*. Erlangga, Jakarta, 1990.

Warsa, U.C., Sanitoso A.U.S. dan fera S. *Efektivitas Cefmetazaole terhadap MRSA*, Bagian Mikrobiologi FKUI Jakarta,1994.