



Frekuensi β -Lactamase Hasil *Staphylococcus aureus* Secara Iodometri Di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas

Dessy Triana

Prodi Kedokteran, FKIK, Universitas Bengkulu, Indonesia
dessy.triana13@gmail.com

Diterima 20 Mei; Disetujui 8 Juni 2014

Abstrak - Antibiotik golongan β -lactam adalah obat yang paling sering digunakan untuk penanganan infeksi bakteri, namun tingkat resistensi bakteri terhadap antibiotik golongan β -lactam terus meningkat. Penyebab utama terjadinya resistensi ini dikarenakan bakteri menghasilkan enzim β -lactamase yang menyerang cincin β -lactam sehingga antibiotik menjadi tidak aktif. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas pada bulan September 2004-Juli 2005. Penelitian ini bersifat deskriptif dengan pendekatan *Purposive Sampling* untuk mengetahui frekuensi *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) penghasil β -lactamase secara iodometri dari bahan pemeriksaan yang masuk ke Laboratorium Mikrobiologi Fakultas kedokteran Universitas Andalas. Hasil penelitian dari 30 sampel menunjukkan 93.4% isolat *S.aureus* resisten terhadap ampicillin dan menghasilkan enzim β -lactamase, dimana 86.7% diantaranya merupakan sampel rumah sakit dan 6.6% sampel non-rumah sakit.

Keyword: Antibiotik, Golongan β -lactam, Enzim β -lactamase, Tes Iodometri

1. Pendahuluan

Penyakit infeksi masih menempati urutan teratas penyebab kesakitan dan kematian di negara berkembang, termasuk Indonesia. Infeksi ini akan menyebabkan kerugian fisik dan finansial selain produktifitas secara nasional. Penyebaran sumber infeksi ini dapat melalui berbagai perantara atau yang dikenal sebagai vektor, yakni udara, binatang, benda-benda, dan juga manusia sendiri. Bahkan tanpa disadari rumah sakit pun tempat yang berisiko tinggi sebagai sumber penularan.

Staphylococcus adalah penyebab utama infeksi bernanah pada manusia yang terdapat di rongga hidung dan kulit sebagian besar populasi manusia. Jalur masuknya *Staphylococcus* ke tubuh melalui folikel rambut, tusukan jarum atau melalui saluran pernafasan. Prototipe lesi *Staphylococcus* adalah furunkel atau abses lokal lainnya yang dapat menyebabkan nekrosis jaringan (faktor dermatonekrotik), menghasilkan enzim koagulase yang mengkoagulasi fibrin di sekitar lesi dan di dalam saluran getah bening, mengakibatkan pembentukan dinding yang

membatasi proses dan diperkuat oleh penumpukan sel radang dan kemudian jaringan fibrosis [1]. *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) adalah bakteri aerob yang bersifat gram-positif dan merupakan salah satu flora normal manusia pada kulit dan selaput mukosa. *S. aureus* merupakan patogen utama pada manusia dan hampir setiap orang pernah mengalami infeksi *S. aureus* yang bervariasi dalam beratnya, mulai dari keracunan makanan hingga infeksi kulit ringan sampai berat yang mengancam jiwa. Jika *S. aureus* menyebar dan terjadi bakterimia, maka kemungkinan bisa terjadi endocarditis, osteomyelitis hematogenus akut, meningitis, dan infeksi paru-paru [2].

Beberapa mekanisme timbulnya resistensi terhadap suatu antibiotik terjadi berdasarkan salah satu atau lebih mekanisme berikut [1]:

1. Bakteri mensintesis suatu enzim inaktivator atau penghancur antibiotik, misalnya *Staphylococcus*, resisten terhadap penisilin G menghasilkan β -laktamase, yang merusak obat tersebut. β -laktamase lain dihasilkan oleh bakteri batang gram-negatif.

2. Bakteri mengubah permeabilitasnya terhadap obat, misalnya tetrasiklin, tertimbun dalam bakteri yang rentan tetapi tidak pada bakteri yang resisten.
3. Bakteri mengembangkan suatu perubahan struktur sasaran bagi obat, misalnya resistensi kromosom terhadap aminoglikosida berhubungan dengan hilangnya (atau perubahan) protein spesifik pada sub unit 30s ribosom bakteri yang bertindak sebagai reseptor pada organisme yang rentan.
4. Bakteri mengembangkan perubahan jalur metabolik yang langsung dihambat oleh obat, misalnya beberapa bakteri yang resisten terhadap sulfonamid tidak membutuhkan Para-Amino Benzoic Acid (PABA) ekstraseluler, tetapi seperti sel mamalia dapat menggunakan asam folat yang telah dibentuk.
5. Bakteri mengembangkan perubahan enzim yang tetap dapat melakukan fungsi metabolismenya tetapi lebih sedikit dipengaruhi oleh obat dari pada enzim pada kuman yang rentan, misalnya beberapa bakteri yang rentan terhadap sulfonamid, dihidropteroat sintetase, mempunyai afinitas yang jauh lebih tinggi terhadap sulfonamid dari pada PABA.
3. Peresepan dalam jumlah besar, meningkatkan pelayanan kesehatan yang tidak perlu dan seleksi resistensi terhadap obat-obatan baru. Peresepan meningkat ketika diagnosa awal belum pasti. Klinisi sering kesulitan dalam menentukan antibiotik yang tepat karena kurangnya pelatihan dalam hal penyakit infeksi dan tatalaksana antibiotiknya.
4. Penggunaan monoterapi. Dibandingkan dengan penggunaan terapi kombinasi, penggunaan monoterapi lebih mudah menimbulkan resistensi.
5. Perilaku hidup sehat terutama bagi tenaga kesehatan, misalnya mencuci tangan setelah memeriksa pasien atau desinfeksi alat-alat yang akan dipakai untuk memeriksa pasien.
6. Penggunaan di rumah sakit. Adanya infeksi endemik atau epidemik memicu penggunaan antibiotik yang lebih masif pada bangsal-bangsal rawat inap terutama di *Intensive Care Unit* (ICU). Kombinasi antara pemakaian antibiotik yang lebih intensif dan lebih lama dengan adanya pasien yang sangat peka terhadap infeksi, memudahkan terjadinya infeksi nosokomial.
7. Penggunaannya untuk hewan dan binatang ternak. Antibiotik juga dipakai untuk mencegah dan mengobati penyakit infeksi pada hewan ternak. Dalam jumlah besar antibiotik digunakan sebagai suplemen rutin untuk profilaksis atau merangsang pertumbuhan hewan ternak. Bila dipakai dengan dosis subterapeutik, akan meningkatkan terjadinya resistensi.

Penyebab utama resistensi antibiotik adalah penggunaannya yang meluas dan irasional [3]. Lebih dari separuh pasien dalam perawatan rumah sakit menerima antibiotik sebagai pengobatan ataupun profilaksis. Sekitar 80% konsumsi antibiotik dipakai untuk kepentingan manusia dan sedikitnya 40% berdasarkan indikasi yang kurang tepat, misalnya infeksi virus. Terdapat beberapa faktor yang mendukung terjadinya resistensi, antara lain:

1. Penggunaannya yang kurang tepat (irrasional), terlalu singkat, dosis yang terlalu rendah, diagnosa awal yang salah dan dalam potensi yang tidak mencukupi.
2. Faktor yang berhubungan dengan pasien. Pasien dengan pengetahuan yang salah akan cenderung menganggap wajib diberikan antibiotik dalam penanganan penyakit meskipun disebabkan oleh virus, misalnya flu, batuk-pilek, dan demam yang banyak dijumpai di masyarakat. Pasien dengan kemampuan finansial yang baik akan meminta diberikan terapi antibiotik yang paling baru dan mahal meskipun tidak diperlukan. Bahkan pasien membeli antibiotik sendiri tanpa peresepan dari dokter (*self medication*). Sedangkan pasien dengan kemampuan finansial yang rendah seringkali tidak mampu untuk menuntaskan regimen terapi.
8. Promosi komersial dan penjualan besar-besaran oleh perusahaan farmasi serta didukung pengaruh globalisasi, memudahkan terjadinya pertukaran barang sehingga jumlah antibiotik yang beredar semakin luas. Hal ini memudahkan akses masyarakat luas terhadap antibiotik.
9. Penelitian: Kurangnya penelitian yang dilakukan para ahli untuk menemukan antibiotik baru [4].
10. Pengawasan: Lemahnya pengawasan yang dilakukan pemerintah dalam distribusi dan pemakaian antibiotik, misalnya, pasien dapat dengan mudah mendapatkan antibiotik meskipun tanpa peresepan dari dokter. Selain itu juga kurangnya komitmen dari instansi terkait baik untuk meningkatkan mutu obat maupun mengendalikan penyebaran infeksi [5].

Pada tahun 1944, sebagian besar *S. aureus* peka terhadap penisilin, meskipun ditemukan beberapa *strain* yang resisten. Setelah meluasnya penggunaan penisilin, pada

tahun 1948 ditemukan *Staphylococcus* yang diisolasi di rumah sakit, ternyata 65% sampai 85% menghasilkan β -lactamase, sehingga resisten terhadap penisilin G. Pada tahun 1986, *Staphylococcus* resisten penisilin tidak hanya di jumpai di rumah sakit, tetapi juga 80-90% yang diisolasi dari masyarakat. Enzim β -lactamase disintesis secara kromosomal, seperti pada *Pseudomonas aeruginosa* atau melalui *plasmid mediated*, seperti pada *Aeromonas hydrophila* dan *S. aureus*. Penyebaran sifat resistensi antar kuman di perantara oleh plasmid yang dapat saling transfer antar kuman gram-negatif melalui proses kojugasi dan antar kuman gram-positif melalui bakterofaga. Setelah dibentuk, kuman gram-positif akan mensekresikan ke luar dinding sel sedangkan kuman gram-negatif akan menyimpannya di dalam ruang periplasmic (ruang kosong yang terletak antara dinding dan membrans sel). Keadaan inilah yang menjadikan cara kerja enzim β -lactamase pada kuman gram-negatif lebih efektif dibandingkan kuman gram-positif [6].

Mekanisme enzim β -lactamase dalam menghancurkan cincin β -lactam terbagi dua, yaitu [1]:

1. Sebagian besar β -lactamase mempunyai gugus serin pada sisi aktifnya, kemudian dibagi dalam kelas A, C, dan D. Gugus serin ini akan berikatan irreversibel dengan gugus karbonil karbon pada cincin β -lactam sehingga cincin akan terbuka (inaktif). Enzim β -lactamase jenis ini efektif dalam menghambat penisilin, sefalosporin, dan monobactam.
2. Sebagian kecil β -lactamase mengandung gugus logam yang disebut metallo- β -lactamase (kelas B). Enzim β -lactamase jenis ini efektif pada penisilin, sefalosporin, dan carbapenem tetapi tidak efektif pada monobactam.

Dari semua antibiotik yang ada, golongan β -lactam adalah obat yang paling sering digunakan dalam penanganan infeksi bakteri. Tingkat resistensi bakteri terhadap β -lactam terus meningkat setiap waktu dan mencakup seluruh dunia. Enzim β -lactamase merupakan penyebab utama terjadinya resistensi β -lactam terutama pada gram-negatif. Seiring dengan terus berkembangnya penemuan antibiotik yang lebih potensial, β -lactamase juga terus bermutasi yang akibatnya muncul fenomena *Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL) [1].

Kecenderungan resistensi kuman *S. aureus* terhadap antibiotik golongan penisilin sudah multiresisten,

kemungkinan besar karena kuman tersebut menghasilkan enzim β -lactamase. Oleh karena itu perlu diketahui apakah kuman *S. aureus* yang diperiksa merupakan jenis strain *S. aureus* penghasil enzim β -lactamase melalui *sensitivity tes* secara iodometri.

2. Metode Penelitian

Metode pelaksanaan penelitian bersifat deskriptif dengan pendekatan secara *purposive sampling* untuk mengetahui frekuensi *S. aureus* penghasil enzim β -lactamase terhadap biakan kuman *S. aureus* secara iodometri di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas. Sampel diambil dengan pendekatan secara *purposive sampling* dalam kurun waktu September 2004-Juli 2005 dan diperoleh 30 sampel [7].

Uji kepekaan in vitro isolat *S. aureus* terhadap penicillin

Uji kepekaan in vitro menggunakan difusi cakram pada media Agar Mueller-Hinton. Kemudian disimpan di dalam inkubator pada suhu 33-35°C selama 24 jam.

Uji β -lactamase terhadap *S. aureus* yang resisten terhadap penisilin dengan tes iodometri

Uji β -lactamase terhadap *S. aureus* dilakukan mengikuti langkah berikut:

1. Dilarutkan penisilin G sebanyak 0.1 cc
2. Dibuat suspensi kuman *S. aureus* dengan kekeruhan sesuai Brown III
3. Didiamkan selama 30 menit pada suhu kamar
4. Ditambahkan 2 tetes larutan kanji ke dalam campuran
5. Ditambahkan 1 tetes larutan iodium untuk memberikan warna biru
6. Diaduk selama 1 menit, apabila:
Wana biru cepat hilang \rightarrow β -lactamase positif.
Warna biru menetap setelah 10 menit \rightarrow β -lactamase negatif.
7. Untuk lebih memastikan warna biru hilang, maka larutan diletakkan pada kertas saring. Apabila warna biru hilang maka kertas saring tetap berwarna putih dan sebaliknya.

3. Hasil dan Pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 30 sampel kuman *S. aureus*, ditemukan 26 sampel (86.7%) dari rumah sakit dan 2 sampel (6.7%) non rumah sakit resisten terhadap ampisillin (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil uji kepekaan *in vitro* *S. aureus* terhadap ampicillin

No	Sampel	Resisten		Sensitif		Jumlah
		n	%	n	%	
1	Rumah Sakit	26	86.7	1	3.3	27
2	Non-Rumah Sakit	2	6.7	1	3.3	3
TOTAL		28	93.4	2	6.6	30

Dari Tabel 1 terlihat uji kepekaan *in vitro* terhadap ampicillin ditemukan 93.4% isolat kuman *S. aureus* telah resisten terhadap ampicillin dan 6.6% isolate kuman *S. aureus* masih sensitif terhadap ampicillin. Hal ini sesuai dengan *American Proficiency Institute* (API) yang melaporkan bahwa saat ini hanya sekitar 5% dari *S. aureus* sensitif terhadap penisilin dan 95% kuman *S. aureus* yang telah resisten terhadap penisilin ternyata ditemukan enzim β -lactamase.

Setelah dilakukan uji kepekaan selanjutnya isolat kuman *S. aureus*, diuji β -lactamase secara iodometri seperti pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji β -lactamase secara iodometri terhadap *S. aureus*

No	Sampel	Hasil	
		n	%
1	Resisten Ampicilin	28	100
2	Sensitif Ampicilin	2	0
Total		30	100

Dari Tabel 2 dapat dilihat bahwa semua isolat kuman *S. aureus* yg resisten ampicillin menghasilkan enzim β -lactamase dan isolat kuman *S. aureus* yang masih sensitif ampicillin tidak menghasilkan enzim β -lactamase. Hasil penelitian ini juga sesuai dengan penelitian yang dilakukan Dzen (1996) terhadap 52 isolat *S. aureus* yang diisolasi dari rongga hidung orang dewasa sehat, didapatkan 44 (84.61%) isolat kuman resisten ampicillin. Salah satu penyebab resisten ampicillin ini kemungkinan kuman *S. aureus* yang diisolasi merupakan strain MRSA (*Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*) atau MSSA (*Methicillin Sensitive Staphylococcus aureus*). Munculnya strain baru dari kuman *S. aureus* seperti MRSA dan MSSA, kemungkinan juga telah resisten penisilin. Kuman strain MRSA dan MSSA ini merupakan kuman yang sering menginfeksi penyakit pada pasien yang diperiksa di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas.

Tingkat resistensi bakteri terhadap antibiotik golongan β -lactam terus meningkat setiap waktu dan mencakup seluruh dunia. Hal ini perlu diwaspadai karena penyebab utama

terjadinya resistensi terhadap antibiotik golongan β -lactam adalah enzim β -lactamase dan seiring dengan terus berkembangnya penemuan antibiotik yang lebih potensial, enzim β -lactamase juga terus bermutasi yang akibatnya muncul fenomena *Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL) yang menyerang kuman gram-negatif.

4. Kesimpulan

Penelitian terhadap 30 isolat kuman *S. aureus* ditemukan sebanyak 93.4% resisten terhadap ampicillin, dimana 86.7% sampel berasal dari rumah sakit dan 6.7% sampel non-rumah sakit. Kemudian dari isolat kuman *S. aureus* yang resisten terhadap ampicillin tersebut dilakukan uji β -lactamase secara iodometri maka ditemukan sebanyak 100% menghasilkan enzim β -lactamase dan isolat kuman *S. aureus* yang sensitif ampicillin tidak menghasilkan enzim β -lactamase. Sehingga seluruh kuman *S. aureus* yang resisten terhadap ampicillin disebabkan karena menghasilkan enzim β -lactamase.

Daftar Pustaka

- [1] Jawetz, E., Melnick, J. L., Adelberg, E. A. 1996. *Staphylococcus*. In: Mikrobiologi Kedokteran, Edisi ke-20. Jakarta: EGC. 211-217
- [2] Istiantora, Y., H., Gan, V. 1995. *Penicillin, Cephalosporin dan Antibiotika β -lactam lainnya*. In: Farmakologi dan Terapi, Edisi ke-4. Jakarta: FKUI. 622-650
- [3] Utami, R., E., 2011. *Antibiotika, Resistensi dan Rasionalitas Terapi*. In: Jurnal El-Hayah, vol 1 (4), 191-198
- [4] Bisht, R., Katiyar, A., Singh, R., Mittal, P. 2009. *Antibiotic Resistance-A Global Issue of Concern*. In: Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research, vol 2 (2)
- [5] Kementrerian Kesehatan Republik Indonesia. 2011. *Keputusan Menteri Kesehatan Tentang Standar Pelayanan Farmasi di Rumah Sakit Nomor 1197/MENKES/SK/X/2004*. In: Buku Panduan hari Kesehatan Sedunia.
- [6] Chambers, Henry, F. 2004. *The Changing Epidemiology of Staphylococcus aureus*. In: CDC Past Issue, vol 7 (2)
- [7] Notoatmodjo, S. 2002. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Edisi Revisi. Jakarta: Rineka Cipta.79-92