



**DETEKSI GEN *mecA* TERHADAP METHICILLIN=RESISTANT  
*Staphylococcus aureus* (MRSA) PADA PASIEN DI RUANGAN INTENSIVE  
CARE UNIT (ICU) RSUD KOTA KENDARI TAHUN 2022**

**Satriani Syarif<sup>1</sup>, Muzuni<sup>2</sup>, Puan Maharani<sup>3</sup>**

**<sup>1,2,3</sup>D-IV Teknologi Laboratorium Medis Fakultas Sains dan Teknologi  
Universitas Mandala Waluya**

**satrianisyatif@gmail.com, muzuni@gmail.com**

**ABSTRAK**

Infeksi nosokomial adalah infeksi yang terjadi di rumah sakit, salah satu bakteri penyebab infeksi ini adalah bakteri *Staphylococcus aureus*. *Staphylococcus aureus* banyak ditemukan mengalami resisten terhadap antibiotik golongan *Methicillint-Resisten Staphylococcus aureus* (MRSA). MRSA telah menjadi salah satu bakteri patogen, terutama di rumah sakit. Transmisi bakteri MRSA berpindah dari satu pasien ke pasien lainnya melalui alat medis yang tidak diperhatikan sterilisasinya. MRSA mengalami resisten karena perubahan genetik yang disebabkan oleh paparan terapi antibiotik yang tidak rasional. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendeteksi gen *mecA* pada pasien yang terinfeksi *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* di ruang ICU RSUD Kota Kendari menggunakan metode PCR. Jenis penelitian ini adalah deskriptif berbasis laboratorium. Populasi dalam penelitian ini berjumlah 10 orang. Hasil dari 10 sampel yang diisolat yaitu terdapat 5 sampel yang memiliki ciri-ciri *Staphylococcus aureus*, yaitu berwarna kuning keemasan, berbentuk seperti buah anggur, dan uji katalase dan koagulase yaitu hasil positif. Hasil dari deteksi gen *mecA* metode PCR dari 5 yang diisolat menunjukkan terbentuk pita sesuai dengan target yaitu 533 bp, di peroleh sampel positif *Methicillint-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) sebanyak 10 %. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa dengan mendeteksi gen *mecA* pada pasien yang terinfeksi *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* di ruang ICU RSUD Kota Kendari menggunakan metode PCR yaitu adanya gen *mecA* pada P10, dengan terbentuknya pita target 533 bp. Diharapkan pada penelitian selanjutnya Untuk penelitian selanjutnya melakukan penelitian yang sama perlu adanya uji resistensi antibiotik sebelum melakukan uji PCR dan melakukan penelitian mengenai insiden MRSA pada pasien dan paramedis di ruangan yang berbeda.

**Kata kunci : *Staphylococcus aureus*, MRSA, PCR**



## PENDAHULUAN

Rumah sakit adalah institusi pelayanan kesehatan yang menyediakan pelayanan pengobatan, rawat inap, rawat jalan dan berbagai aktivitas lainnya sebagai pelayanan kesehatan. Rumah sakit merupakan tempat yang memudahkan penularan berbagai penyakit infeksi diakibatkan pengaruh lingkungan yang disebut infeksi nosokomial (Amelia dan Burhanudin, 2018).

*Intensive Care Unit* (ICU) merupakan ruangan bagian dari rumah sakit yang terpisah dengan perlengkapan, khusus untuk observasi, perawatan dan terapi bagi pasien. ICU merupakan tempat terjadinya infeksi nosokomial yang berasal dari penyakit pernafasan, pembedahan luka bahkan saluran kemih (Delfira dkk., 2020). Data dari Pusat Program Surveilans Antimikroba juga menunjukkan terjadinya peningkatan MRSA di antara *Staphylococcus aureus* yang diisolasi dari pasien *Intensive Care Unit* (ICU) di seluruh dunia. Menurut penelitian Prof. Usman Chatib Warsa yang mengatakan bahwa bakteri multi-resisten seperti MRSA telah menginfeksi sekitar 40% dari pasien di ICU di Indonesia pada tahun 2009 (Indonesia Pharmaceutical dan Healthcare Report, 2010).

Infeksi nosokomial adalah infeksi yang terjadi di rumah sakit yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus*. Kebanyakan infeksi nosokomial terjadi dibagian ruangan ICU. Sekitar 1 dari 10 orang pasien di rumah sakit berhadapan dengan kasus nosokomial. Infeksi ini timbul sekurang-kurangnya dalam waktu 3 x 24 jam sejak mulai dirawat (Konoramal, 2019).

Berdasarkan kasus infeksi nosokomial di RSUD Kota Kendari Sulawesi Tenggara, pada tahun 2019 pasien di ruang ICU dengan jumlah 945 pasien, pada pemasangan infus terdapat 82 orang terinfeksi nosokomial dan akibat pembedahan terdapat 8 pasien yang terinfeksi nosokomial. Pada tahun 2020 pasien di ruang ICU dengan jumlah 433 pasien, pada pemasangan infus terdapat 3 pasien yang terinfeksi nosokomial dan akibat pembedahan terdapat 14 pasien yang terinfeksi nosokomial. Sedangkan pada tahun 2021 pada pasien di ruang ICU dengan jumlah 270 pasien, pada pemasangan infus terdapat 14 pasien yang terinfeksi nosokomial dan akibat pembedahan terdapat 14 pasien yang terinfeksi nosokomial (SIRS RSUD Kota, Kendari).

*Staphylococcus aureus* yang



menyebabkan berbagai infeksi, umumnya infeksi pada kulit dan jaringan lunak, selain itu menjadi penyebab sepsis, endokarditis, infeksi endovaskular, dan pneumonia. Di rumah sakit tempat yang memiliki risiko paling tinggi terhadap infeksi *S. aureus* yaitu kamar bedah, unit perawatan intensif (Erlin dkk., 2020).

Pengobatan akibat infeksi *S. aureus* umumnya menggunakan antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan ataupun membunuh bakteri tersebut. Akan tetapi muncul strain bakteri bakteri yang resisten terhadap antibiotik yang mempersulit proses pengobatan sehingga infeksi terus menyebar dan biaya pengobatan pasien semakin meningkat (Madigan, 2012).

Pemberian antibiotik merupakan cara penanganan yang umum untuk menangani penyakit infeksi. Penggunaan antibiotik yang tidak sesuai prosedur menyebabkan bakteri menjadi resisten (Minduhumalid dkk., 2018). Strain *Staphylococcus aureus* yang resisten antibiotik adalah Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). Strain tersebut telah resisten terhadap antibiotik methicillin dan antibiotik golongan  $\beta$ -laktam. Resistensi terjadi akibat jenis penicillin binding protein (PBP2a) yang memiliki afinitas rendah terhadap antibiotik golongan  $\beta$ -laktam.

Afinitas yang rendah menyebabkan PBP2a tidak berikatan dengan antibiotik golongan  $\beta$ -laktam sehingga biosintesis peptidoglikan tetap berjalan. Ekspresi protein PBP2a terjadi karena adanya elemen genetik *Staphylococcus cassette* Chromosome mec (SCCmec) yang membawa gen *mecA* sebagai pengode yang memiliki afinitas rendah terhadap methisillin, yang merupakan kunci penyebab resistensi (Kemalaputri dkk., 2018).

Gen *mecA* bertanggung jawab atas resistensi metisillin dan golongan antibiotik betalaktam lainnya, gen ini menghasilkan penicillin binding protein yang berbeda dengan biasanya dikarenakan perubahan atau mutasi gen penyandi protein (Penicillin binding protein) sehingga antibiotik  $\beta$  laktam tidak dapat berikatan (Frazee, 2005). MRSA diketahui sebagai penyebab utama infeksi nosokomial yang menyebabkan berbagai infeksi mengancam nyawa, seperti *bacteremia*, *endocarditis*, infeksi luka dan radang paru-paru. Penyebaran infeksi MRSA didapatkan dari rumah sakit dan fasilitas kesehatan lainnya. Karena penyebaran MRSA menimbulkan permasalahan di rumah sakit dan terjadi di antara rumah sakit, maka MRSA disebut juga



*Healthcare associated MRSA (HA-MRSA)*(Prajawaty dan Fatmawati, 2018).

Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) merupakan salah satu metode yang dapat digunakan untuk mengamplifikasikan DNA suatu organisme dalam jumlah jutaan hingga miliaran (Pertwi dkk., 2015). PCR digunakan karena memiliki kelebihan yang dapat menghemat penggunaan bahan pada proses pembuatan master mix untuk proses amplifikasi *gen* dan dapat mentarget beberapa gen dalam satu proses amplifikasi gen (Kemalapotridkk., 2017)

Berdasarkan latarbelakang diatas menunjukkan bahwa mendeteksi tentang *Methicillin- Resistant Staphylococcus aureus* pada pasien di Ruang ICU RSUD Kota Kendari perlu dilakukan.

## **METODE PENELITIAN**

Jenis penelitian yang digunakan yaitu deskriptif berbasis laboratorium mendeteksi *Methicillin resistant Staphylococcus aureus*. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei - Juni 2022. Penelitian pada pengambilan sampel dilakukan di RSUD Kota Kendari dan pemeriksaan sampel dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Diagnostik Molekuler D-IV Teknologi Laboratorium Medis Universitas Mandala Waluya Kendari. Populasi dalam penelitian

adalah keseluruhan pasien di ruang ICU RSUD Kota Kendari. Adapun populasi pada penelitian ini adalah jumlah dari pasien Di ruang ICU sebanyak 135 orang di RSUD Kota Kendari. Besar sampel dalam penelitian ini di tentukan dengan menggunakan rumus Slovin yang didapatkan sejumlah 11 sampel. Analisis deskriptif merupakan suatu metode statistik yang bertujuan untuk memberikan deskripsi atau gambaran mengenai subjek penelitian berdasarkan data variabel yang diperoleh dari kelompok subjek tertentu.

## **HASIL**

### **Karakteristik Responden**

**Tabel. 1** Data jenis kelamin responden pada pasien di ruang ICU.

No	Jenis Kelamin	Jumlah responden	Presentasi
1	Laki-laki	6	60%
2	Perempuan	4	40%
Total		10	100%

Pada Tabel 1 menunjukkan distribusi responden menurut jenis kelamin. Diketahui jumlah responden sebanyak 10 pasien yang yang terdiri 6 orang laki-laki (60%) dan 4 orang perempuan (40%) yang dirawat diruang ICU selama 3 hari.

**Tabel 2.** Data rentang usia responden pasien di ruang ICU

No	Umur	Jumlah reponden	Presentase
1	5-24	2	20%
2	25-44	5	50%
3	45-64	3	30%
Total		10	100%

Pada Tabel 2 menunjukkan distribusi responden menurut usia. Diketahui rata -

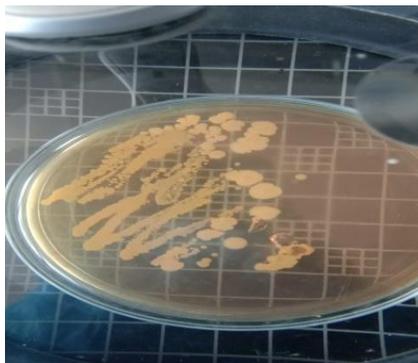


rata usia responden berkisar pada usia paling muda adalah 7 tahun dan paling tua adalah 57 tahun.

#### Analisis Deskriptik

##### 1. Hasil kultur pada media MSA

*Manitol Salt Agar* (MSA) merupakan media selektif diferensial untuk identifikasi *Staphylococcus aureus*. Koloni yang tumbuhan pada media MSA berukuran kecil-sedang, koloni berwarna kuning keemasan. Hasil pengujian pada media MSA dapat dilihat pada Gambar 1

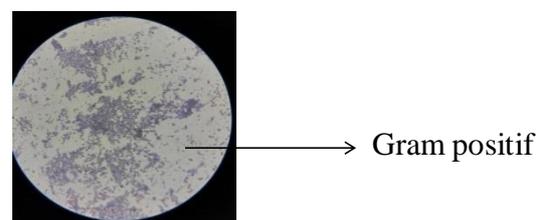


**Gambar 1.** Hasil pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada media MSA

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan dari 10 sampel yang ditumbuhkan pada media MSA terdapat 5 sampel yang positif *Staphylococcus aureus*. Hasil positif dapat dilihat pada gambar sebelumnya yang ditandai koloni pada media berwarna kuning keemasan dan 5 sampel negatif pada media MSA yang tidak tumbuh, ditunjukkan oleh tidak ada perubahan warna pada sekitar koloni.

##### 2. Hasil pewarnaan gram

Pada hasil positif media MSA dilanjutkan dengan pewarnaan gram. Pewarnaan gram berfungsi untuk membedakan jenis bakteri gram positif dan gram negatif. Hasil pewarnaan gram dapat dilihat pada Gambar 2.



**Gambar 2.** Hasil pengamatan pewarnaan gram pada mikroskop pembesaran 100x (Data primer. 2022)

Berdasarkan hasil penelitian pada pada Gambar 1 menunjukkan dari 5 sampel yang positif pada media MSA yang dilakukan pewarnaan gram dilihat dibawah mikroskop semua sampel berbentuk *coccus* positif yang ditandai dengan berwarna ungu, tersusun dalam berkelompok yang tidak teratur, berbentuk seperti buah anggur.

##### 3. Hasil uji katalase

Pada Isolat yang diidentifikasi sebagai gram *coccus* positif, dilakukan uji lanjut yaitu uji katalase. Uji katalase merupakan uji untuk mengidentifikasikan bakteri yang dapat menguraikan hydrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) menjadi oksigen ( $H_2O$ ) dan air ( $O_2$ ) reaksi positif ditandai dengan



gelembung-gelembung pada gelas objek. Hasil uji katalase dapat dilihat pada Gambar 3.



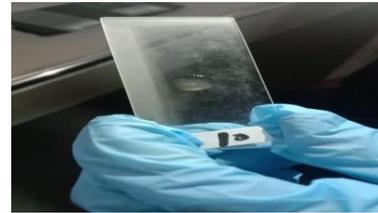
**Gambar 3.** Hasil pengamatan uji katalase (Data primer., 2022)

Berdasarkan hasil penelitian pada Gambar 3 menunjukkan dari 5 sampel yang dilakukan uji katalase diperoleh semua sampel positif. Sampel positif ditandai dengan terbentuknya gelembung pada kaca objek setelah koloni ditambahkan dengan larutan Hidrogen Peroksida ( $H_2O_2$ ) seperti terlihat pada Gambar 4.

#### 4. Hasil uji koagulase

Uji koagulase dilakukan sebagai pembeda antara *Staphylococcus aureus* dengan spesies *Staphylococcus* lainnya. Uji ini dikatakan positif bila terjadi gumpalan ketika koloni bakteri dicampur dengan reagen plasma sitrat. Hasil uji koagulase dapat dilihat pada Gambar 4.

**Gambar 4.** Hasil pengamatan uji koagulase(Data primer, 2022)



Berdasarkan hasil penelitian pada Gambar 4 menunjukkan dari 5 sampel yang dilakukan uji koagulase diperoleh semua sampel positif ditandai dengan terbentuknya gumpalan pada kaca objek setelah koloni ditambahkan dengan reagen seperti yang terlihat dari Gambar 5.

#### 5. Hasil pengamatan bakteri

Adapun hasil pengamatan dalam mengidentifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu

**Tabel 3.** Hasil pengamatan identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* (Data primer. 2022).

KS	Pertumbuhan pada media MSA	Pewarnaan		Katalase	Koagulase
		Bentuk	Gram		
P1	KK	C	+	+	+
P2	KK	C	+	+	+
P4	KK	C	+	+	+
P9	KK	C	+	+	+
P10	KK	C	+	+	+

Ket:

KK : kuning keemasan

C : *Coccus*

KS : kode sampel

#### 6. Hasil pengukuran dan kuantitas

##### DNA

**Tabel 4.** Hasil kualitas dan kuantitas DNA pada alat spektrofotometer



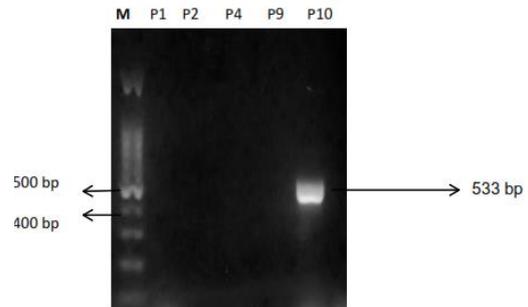
Sampel	Konsentrasi DNA (µg/mL)	Absorbansi		Rasio
		260	280	
P1	92,15	3,866	3,910	0,98
P2	92,61	3,791	3,759	1,01
P4	0,97	0,074	0,067	1,36
P9	99,18	3,820	3,64	1,05
P10	99,46	3,858	3,693	1,055

Hasil pengukuran kualitas dan kuantitas DNA dengan menggunakan alat spektrofotometer ditunjukkan pada Tabel 4. Pada sampel P1 menunjukkan konsentrasi DNA 92,15 µg/ml dengan ratio 0,98. Sampel P2 menunjukkan konsentrasi DNA 92, 61 µg/ml dengan ratio 1,01. Sampel P4 menunjukkan konsentrasi DNA 0,97 µg/ml dengan ratio 1,36. Sampel P9 menunjukkan konsentrasi DNA 99,46 µg/ml dengan rasion 1,05. Dan pada sampel P10 menunjukkan konsentrasi DNA 99,18 µg/ml dengan ratio 1,055. Adapun hasil kualitas dan kuantitas DNA menggunakan alat spektrofotometer pada Tabel 7.

#### 7. Hasil amplifikasi gen *mecA*

Berdasarkan hasil elektroforesis fragmen gen *mecA* yang diperoleh dengan PCR menggunakan primer *forwad* 5'-AAA AT GAT GGT AAA GGT TGG C-3' dan primer *mecA reverse* : 5'- AGT TGT GCA GTA CCG GAT TTG C-3'. diperoleh pita DNA sesuai target yaitu pada sampel P10 terbentuk fragmen berukuran 533 bp, yang ditunjukkan pada Gambar 6.

**Gambar 6.** Hasil elektroforesis produk PCR gen *mecA* pada MRS (*Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (Data Primer. 2022).



Hasil amplifikasi dari 5 sampel isolat yaitu menunjukkan 1 sampel positif (P10) yang memiliki target pita DNA 533 bp berarti isolat tersebut memiliki gen *mecA*, sedangkan hasil negatif pada marker P1, P2, P4 dan P9 menunjukkan hasil negatif MRSA tersebut menunjukkan sebagian sampel lainnya hanya *Staphylococcus aureus*, berarti belum termasuk *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).

#### PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan ini dilakukan pada tanggal 17 Mei - Juni di ruang ICU RSUD Kota Kendari dengan jumlah responden sebanyak 10 pasien. Pada pemeriksaan sampel dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Mandala Waluya Kendari. Penelitian ini dilakukan untuk mendeteksi adanya gen *mecA* *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* pada sampel swab hidung pasien di ruang ICU.



Identifikasi MRSA dilakukan dengan beberapa tahap yaitu untuk mendapatkan *Staphylococcus aureus* dilakukan uji kultur pada media Mannitol salt agar (MSA). Penanaman pada media MSA dilakukan dengan cara satu usap biakan dan digoreskan pada media MSA. Adapun hasil penanaman pada media MSA didapatkan dari 10 sampel, terdapat 5 sampel yang positif pada media MSA dapat dilihat pada Gambar 3. Hasil positif ditandai dengan perubahan warna yaitu kuning keemasan, yang menandakan bakteri yang tumbuh dapat menggunakan manitol sebagai sumber energi dan dapat menghasilkan asam. Media MSA merupakan media selektif untuk pertumbuhan *Staphylococcus aureus* sp.

Setelah koloni tumbuh pada media MSA maka dilanjutkan dengan melakukan pewarnaan Gram untuk identifikasi *Staphylococcus aureus*. Dari hasil pewarnaan gram terdapat 5 sampel gram positif yang nampak pada mikroskop berbentuk coccus, tersusun dalam berkelompok yang tidak teratur, seperti buah anggur, dapat dilihat dari Gambar 4.

Selanjutnya dilakukan uji katalase merupakan uji untuk membedakan spesies *Staphylococcus* sp dan *Streptococcus* sp. Pada uji katalase positif yaitu terdapat

gelembung gas kurang dari 20 detik, yang diproduksi oleh genus *Staphylococcus*. Hasil uji katalase menunjukkan hasil positif pada semua sampel yang diisolat, dapat dilihat pada Tabel 6. Artinya bakteri dapat menguraikan hydrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) menjadi air ( $H_2O$ ) dan gelembung gas ( $O_2$ ) (Toelle dan Lenda. 2014).

Uji koagulase dilakukan untuk diferensiasi *Staphylococcus aureus* dari spesies lainnya. Uji koagulase positif yaitu terdapat gumpalan pada *Staphylococcus aureus*. Hasil uji koagulase menunjukkan hasil positif pada 5 sampel yang diisolat, umumnya dihasilkan *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Tabel 6.

Genom DNA hasil isolat yang dapat diukur dengan cara mengetahui mengukur nilai genom tersebut menggunakan teknik spektrofotometer. Prinsip pengukuran jumlah DNA menggunakan spektrofotometer didasarkan pada radiasi sinar ultra violet (UV) diserap oleh nukleotida dan protein dalam larutan. Penyerapan radiasi sinar UV secara maksimal oleh DNA dicapai pada panjang gelombang 260 nm, sedangkan menyerap maksimal oleh protein dicapai pada panjang gelombang 280 (Iqbal dkk., 2016). Genom DNA diencerkan dan dibaca pada panjang gelombang 230 nm,



260 nm, dan 280 nm. Saat ini, telah ada alat spektrofotometer yang dapat digunakan untuk mengukur kemurniannya dan konsentrasi genom DNA dalam jumlah yang sangat sedikit antara 0,5-2,0  $\mu$ l. Alat ini mengukur konsentrasi DNA secara otomatis dan tanpa perlu pengenceran. Untuk mengetahui kemurnian DNA, diukur berdasarkan perbandingan absorbansi pada panjang gelombang 260/280 nm dan 230/260 nm (Adhiyanto dkk., 2020).

Berdasarkan hasil yang diperoleh terhadap 5 sampel yang berbeda, pada sampel P1 memiliki konsentrasi DNA yaitu 92,15 dengan ratio 0,98, P2 memiliki konsentrasi DNA 92,61 dengan ratio 1,01, P4 memiliki konsentrasi DNA yaitu 0,97 dengan ratio 1,36, P9 memiliki konsentrasi DNA 99,18 dengan ratio 1,05, P10 memiliki konsentrasi DNA yaitu 99,46 dengan ratio 1,055. Konsentrasi yang paling rendah terdapat pada sampel P4 sedangkan pada konsentrasi yang paling tinggi terdapat pada sampel P2 yang ditunjukkan pada Tabel 7, namun demikian kontaminasi tersebut tidak mengganggu proses PCR. Menurut Hendra dkk., (2009) menyebutkan bahwa tingkat kemurnian DNA berkorelasi dengan kualitas DNA.

Pada penelitian ini sampel - sampel yang memiliki kemurnian diantara 1,8 - 2,0 adalah sampel P2, P4, dan P10. Sedangkan sampel P1 dan P9 memiliki nilai kemurnian lebih kecil dari 1,8 yang mengindikasikan bahwa adanya kontaminasi pada DNA hasil isolat, kontaminasi itu dapat berupa etanol ataupun jumlah DNA yang terlalu sedikit. Hal ini sejalan dengan penelitian Fatchiyah dkk., (2011) bahwa nilai kemurnian DNA dinyatakan murni jika punya nilai rasio 1.8 - 2.0. Rasio < 1.8 menunjukkan DNA hasil ekstraksi terkontaminasi oleh protein, sedangkan kemurnian DNA nilainya rasio > 2.0 menunjukkan sampel DNA yang terkontaminasi oleh RNA.

Identifikasi molekuler memerlukan tahap awal yaitu mengisolasi DNA genom, dimana isolasi DNA adalah salah satu tahap terpenting dalam kegiatan untuk memperoleh informasi genetik dan analisis genetik. DNA dengan kualitas yang baik digunakan untuk kegiatan seperti pemanfaatan molekuler, pembuatan pustaka genom, hingga sekuensi. Prinsip dalam isolasi DNA adalah mendapatkan DNA murni yang tidak tercampur dengan komponen sel



lainnya seperti protein dan karbohidrat (Rizko dkk., 2020).

Ekstraksi dilakukan dengan melibatkan senyawa senyawa kimia yang dapat membantu proses pemisahan DNA dari berbagai komponen sel lainnya. Tujuan dari ekstraksi atau isolasi asam nukleat yaitu membuang serta memisahkan asam nukleat dari dari berbagai komponen lainnya seperti protein, karbohidrat, lemak, sehingga asam nukleat yang diperoleh dapat dianalisis dan modifikasi lebih lanjut (Hairudin, 2013). Menurut Fatchiyah dkk., (2011) menjelaskan bahwa proses pengeluaran DNA dari nukleas maupun mitokondria dengan cara di ekstraksi atau dilisiskan, dilakukan dengan homogenisasi dengan penambahan buffer untuk membantu mencegah DNA rusak dan penambahan proteinase K bertujuan untuk pemurnian DNA dari kontaminasi protein.

PCR digunakan untuk mengamplifikasikan DNA yang sudah diisolasi, kemudian hasil PCR digunakan untuk melihat apakah hasil dari isolasi DNA berhasil atau tidak dengan menggunakan uji elektroforesis, hasil elektroforesis akan menunjukkan pita-pita DNA, ketebalan pita akan didasarkan pada

berat dan jumlah DNA. Berdasarkan hasil elektroforesis.

Berdasarkan hasil deteksi gen *mecA*, pada isolat bakteri *Staphylococcus aureus* dari swab pasien di ruang ICU dengan menggunakan metode PCR untuk mengkonfirmasi adanya gen *mecA* pada bakteri Methicillint-Resistant *Staphylococcus aureus*. Dalam penelitian ini untuk mendeteksi gen *mecA* dengan menggunakan sepasang primer forward: 5'- AAA AT GAT GGT AAA GGT TGG C-3' dan primer *mecA* reverse : 5'- AGT TGT GCA GTA CCG GAT TTG C-3'. Hasil PCR dinyatakan positif dengan munculnya pita DNA yang jelas dan terang yang berukuran 533 bp. Sedangkan hasil PCR ditakatakan negatif jika tidak terbentuknya pita DNA (Radji dkk., 2010).

Berdasarkan hasil penelitian deteksi gen *mecA* pada pasien di ruang ICU diamati dengan menggunakan metode elektroforesis gel agarose. Hasil amplifikasi dari 5 sampel isolat yaitu menunjukkan 1 sampel positif (P10) yang memiliki target pita DNA 533 bp berarti isolat tersebut memiliki gen *mecA* dapat dilihat pada Gambar 7. Pada Gambar 7 penampakan pita DNA yang relatif tebal dan terang menunjukkan



bahwa pasangan primer yang telah didesain oleh Pournajat dkk., (2014) berhasil menempel dengan spesifik pada DNA cetakan sampel. Hasil ini didukung oleh penelitian Prajawati dan Fatmawati, (2018) yang menunjukkan bahwa primer *mecA* dapat mendeteksi gen *mecA* dari MRSA dengan ukuran 533 bp. Pita yang tebal juga menandakan proses purifikasi berhasil memurnikan fragmen DNA dari pengotor seperti komponen PCR, protein, dan garam. Sedangkan pita DNA yang tipis terlihat kurang cerah mengindikasikan bahwa konsentrasi DNA dalam larutan tidak terlalu tinggi, menunjukkan adanya ikatan antara molekul DNA yang terputus pada saat ekstraksi berlangsung (Irmaati, 2003).

Sebanyak 4 sampel negatif MRSA ditandai dengan tidak terdapat pita DNA sama sekali. Hasil negatif MRSA tersebut menunjukkan sebagian sampel lainnya hanya *Staphylococcus aureus*, berarti belum termasuk *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Hal ini juga dapat disebabkan fragmen yang tidak muncul disebabkan tidak terjadinya amplifikasi, dapat terjadi karena primer digunakan tidak sesuai dengan cetakan. Beberapa bukti percobaan menunjukkan bahwa perbedaan satu pasang basa saja

sudah cukup menyebabkan ketidaksesuaian cetakan primer yang kemudian mencegah amplifikasi (William dkk., 2008)

Berdasarkan hasil uji pada tabel diketahui dari 5 sampel usap hidung yang diuji menggunakan PCR terdapat 1 sampel yang positif *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* yaitu 10%. Ditemukan bakteri *Staphylococcus aureus* pada sampel merupakan hal yang wajar mengingat *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu flora normal pada saluran pernafasan bagian atas (saluran hidung sekitar 20 - 40% (Brook., dkk).

Pada hasil sampel P10 positif gen *mecA* yaitu pasien yang telah dirawat di ruang ICU selama 3 hari, berjenis kelamin laki - laki dan berusia 57 tahun. Penelitian ini didukung oleh Soedarto, (2015) pada MRSA ditemukan pertama kali pada penderita yang dirawat di rumah sakit dan fasilitas kesehatan lainnya. Faktor resiko infeksi *Staphylococcus aureus* yaitu terutama pada orang lanjut usia, orang yang sakit berat dan orang yang mengalami luka terbuka atau penderita yang menggunakan kateter, selain itu penderita yang menjalani operasi atau penderita dengan gangguan sistem imun



merupakan populasi yang beresiko terinfeksi *Staphylococcus aureus*

MRSA mengalami resistensi karena perubahan genetik yang disebabkan oleh paparan terapi antibiotik yang tidak rasional. Bakteri berasal dari satu pasien ke pasien lainnya melalui alat medis yang tidak diperhatikan sterilitasnya. *Staphylococcus aureus* berkoloni pada hidung dan beberapa di bagian tubuh lain yang lembab. Hidung telah terbukti menjadi tempat utama dari *Staphylococcus aureus*, pada orang dewasa ataupun anak-anak yang berperan penting pada infeksi nosokomial (Planta dkk., 2012).

Presentase pasien dengan infeksi MRSA mempunyai karakteristik yaitu cepat menyebar di lingkungan rumah sakit, organisme ini dianggap sebagai patogen nosokomial dan mengakibatkan wabah infeksi yang menyebabkan masalah serius dalam manajemen pasien, karena banyak strain menjadi multiresisten terhadap beberapa kelas antibiotik (Saputro dkk., 2016).

Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* telah resisten terhadap hampir semua antibakteri golongan  $\beta$  laktam yang terdiri dari penicillin dan sefalosprin. Antibakteri ini bekerja dengan

menghambat sintesis dinding sel khususnya selama pembentukan peptidoglikan yang menyebabkan dinding bakteri mudah lisis. Golongan  $\beta$  laktam berperan sebagai senyawa yang memiliki struktur mirip substrat yang akan menempel pada sisi aktif penicillin binding protein (PBP), dapat menghambat proses ikatan silang polimer peptidoglikan. Resistensi *Staphylococcus aureus* terhadap  $\beta$  laktam disebabkan oleh perubahan PBP (Chandra dkk., 2018).

MRSA terbentuk oleh munculnya gen *mecA* mengkode transpeptidase spesifik yang menyebabkan bakteri resisten terhadap penggunaan metisillin yang ditemukan pada *Staphylococcus aureus*. Gen *mecA* bertanggung jawab atas resistensi metisillin dan golongan antibiotik beta-laktam lainnya, gen ini menghasilkan penicillin binding protein yang berbeda dengan biasanya dikarenakan perubahan atau mutasi gen protein sehingga antibiotik  $\beta$  laktam tidak dapat berikatan (Frazee, 2005).

Resistensi bakteri *Staphylococcus aureus* terhadap berbagai antibiotik sangat berkembang cepat terutama golongan methicillin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Staphylococcus aureus* yang diisolasi dari swab hidung pasien



mempunyai potensi resisten terhadap antibiotik beta-laktam. Resiten antibiotik dari *Staphylococcus aureus* amplifikasi dan sekuensing gen mecA bertanggung jawab sebagian besar antibiotik betalaktam.

### **KESIMPULAN**

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan yaitu sebagai berikut;

1. Bawha deteksi gen mecA pada pasien di ruang ICU RSUD Kota Kendari yang terinfeksi *Methicillint-Resistant Staphylococcus aureus* dengan metode PCR yaitu adanya gen mecA pada P10, dengan terbentuknya pita target 533 bp
2. Dari 10 sampel (100%) responden yang merupakan pasien di ruang ICU RSUD Kota Kendari di peroleh sampel positif *Methicillint-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) sebanyak 10 %.

### **SARAN**

Bagi petugas RSUD Kota Kendari perlu diadakannya sosialisasi mengenai penggunaan antibiotik dan resistensinya sehingga dapat mengurangi penggunaan yang salah.

Untuk penelitian selanjutnya melakukan penelitian yang sama perlu adanya uji resistensi antibiotik sebelum

melakukan uji PCR dan melakukan penelitian mengenai insiden MRSA pada pasien dan paramedis di ruangan yang berbeda.

### **DAFTAR PUSTAKA**

- Amelia, R. Burhanudin, N. 2018. Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* Dengan Infeksi Nosokomial Pada Sprei di Ruang Perawatan Pascabedah RSUD Labuang Baji Kota Makasar. Seminar Nasional Sinergitas Multidisiplin Ilmu Pengetahuan dan Teknologi. Vol. 1, No. 1.
- Adiyanto. C, Hendramil.L, Puspitsningrum. R., 2020. Pengenalan Dasar teknik biomolekuler. CV Buti Utama. Yogyakarta.
- Candra, A. Rinay., Dian D. W., Dwi, Rita A. 2018. Daya Antibakteri Ekstrak Buah Belimbing Wulu (*Averrhoa blimbi linn*) Terhadap *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* . Jurnal kedokteran. Vol.2, No.5. Hal: 10-25
- Delfira, R. dkk. 2020. Pola Kuman di Ruang *Intensive Care Unit* ( ICU) Rumah Sakit X Kota Jambi. Jurnal Of Healthcare Teknology and Medicine. Vol. 6 No. 1
- Erlin dkk. 2020. Deteksi *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) Sebagai penyebab Infeksi Nosokomial Pada Alat-Alat di Ruang Perawatan Bedah, Jurnal Pendidikan dan Biologi. Vol.12 (2) :137-144
- Fatchiyah, Ela, Sri W, dan Sri R, (2011)



- Biologi Molekuler Prinsip Dasar Analitis. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Hairuddin. R., 2013. Isolasi DNA Amplifikasi, (PCR) Genom DNA Kopi (*Coffea Sp*) Melalui Proses Elektroforesis Gel poliakrilamid. *Jurnal Dinamika*. 4(1) : 43- 48
- Hendra, Suryaningtyas, Y. W.N., Riyanto, C., dan Heryanto, F.A. 2009. Ekstraksi DNA *Collocalia Fuchiphoga* dengan metode. *Metode Polymerase Chain Reaction* pada Ikan Karang Anggota Famili Pseudochromide Untuk Identifikasi Spesies Secara Molekuler. *Jurnal Biologi*, Vol. 19, No. 2.
- Prajawaty, U. Fatmawati, N, D. 2018. Deteksi Molekuler *mecA* pada isolate Klinis Methicillin Resistan *Staphylococcus aureus* (MRSA) dengan menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) DI RSUP Sanglah Denpasar. *Jurnal Sains Medis*. Vol. 9 (3) Hal: 74-77
- Iqbal.I.M, Buwono.I.d, Kurniawati.N., 2016. Analisis perbandingan metode isolasi DNA untuk deteksi White Spot Syndrom Virus pada udang Vaname (*litopenaus Vannamei*). *Jurnal perikanan kelautan*. 7(1) : 54-65
- Pournajat, A., Ardebilli, A., dkk.,1014. PCR based identification of methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* starin and their antibiotic resistant profiles, *Asian pasifilic journal of tropical Biomedicine*. 4: S293-S297
- Kemalaputry, W, D. Jannah, S.N. Budiharjo, A. 2017. Deteksi MRSA (Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*) Pada Pasien Rumah Sakit Dengan Metode MALD- TOF MS dan Multiplex PCR. *Jurnal Biologi*. Vol 6(4) Hal:51-61
- Rizko. N, Kusumaningrum. H.P, Ferniah. R.S, Erfiyanty.T, Mawarni.S.N., Rahayu. H.T, Khsurunnisa. D., 2020. Isolasi DNA daun Jeruk Bali Merah (*Citrus maxima Merr.*) dengan Modifikasi Metode Doyle. *Jurnal Berkala Bioteknologi*. 2(3) : 17-26
- Konoralma, K. 2019. Identifikasi Bakteri Penyebab Nosokomial di Rumah Sakit Umum GMIM Pancaran Kasih Manado. *Jurnal Kesmas*, Vol. 8 No 1.
- Radji, Maksum. (2010) . Buku Ajaran Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi Dan Kedokteran. Jakarta : EGC
- Mindhumalid, T. Darmawati, S. Prasiyanto, M. 2018. Identifikasi Gen *mecA* Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. Fakultas ilmu keperawatan dan kesehatan. Skripsi Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Soedarto. 2015. Mikrobiologi Kedokteran Agung Seto : Jakarta. Hal : 202-203
- Pertiwi, D. dkk., 2015. Optimasi Amplifikasi DNA Menggunakan *Toelle, N. N, Lenda, V. 2014. Identifikasi dan Karakteristik Staphylococcus aurues sp. dan Streptococcus sp. dari Infeksi Ovarium Pada Ayam Petellur Komersial. J. Ilmu Ternak, 1(7). : 32-37*