

GAMBARAN MASSA BIOFILM PADA ISOLAT BAKTERI
***Methicillin-Susceptible Staphylococcus aureus* DAN**
Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus
DI RUMAH SAKIT PENDIDIKAN UNIVERSITAS HASANUDDIN

Tesis

PRIADY WIRA PRASETIA

P062202027



PROGRAM MAGISTER ILMU BIOMEDIK
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022

HALAMAN JUDUL

**GAMBARAN MASSA BIOFILM PADA ISOLAT BAKTERI
Methicillin-Susceptible Staphylococcus aureus DAN
Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus
DI RUMAH SAKIT PENDIDIKAN UNIVERSITAS HASANUDDIN**

*Profiles of Biofilm Mass by Methicillin-Susceptible Staphylococcus aureus And
Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Isolates from
Hasanuddin University Teaching Hospital*

DISUSUN DAN DIAJUKAN OLEH :

**PRIADY WIRA PRASETIA
P062202027**

PEMBIMBING :

- 1. Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK(K)**
- 2. dr. Firdaus Hamid, Ph.D, Sp.MK**

**KONSENTRASI MIKROBIOLOGI
PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIK
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

LEMBAR PENGESAHAN TESIS

**GAMBARAN MASSA BIOFILM PADA ISOLAT BAKTERI
Methicillin-Susceptible Staphylococcus aureus DAN
Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus
DI RUMAH SAKIT PENDIDIKAN UNIVERSITAS HASANUDDIN**

Disusun dan diajukan oleh

**PRIADY WIRA PRASETIA
P062202027**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Magister Ilmu Biomedik Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin pada tanggal 8 Februari 2023 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama



Prof. Dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK(K)
NIP. 1957041619850301001

Pembimbing Pendamping



dr. Firdaus Hamid, Ph.D, Sp.MK
NIP. 1977123120021212002

Ketua Program Studi
Ilmu Biomedik



dr. Rahmawati, Ph.D, Sp.PD-KHOM, FINASIM
NIP. 19680218 199903 2 002

Dekan Sekolah Pascasarjana
Universitas Hasanuddin



Prof. dr. Budu, Ph.D Sp.M(K), M.Med.Ed
NIP. 19661231 199503 1 00

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Priady Wira Prasetia

NIM : P062202027

Program Studi : Ilmu Biomedik Konsentrasi Mikrobiologi
Sekolah Pascasarjana

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis berjudul "**GAMBARAN MASSA BIOFILM PADA ISOLAT BAKTERI *Methicillin-Susceptible Staphylococcus aureus* DAN *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* DI RUMAH SAKIT PENDIDIKAN UNIVERSITAS HASANUDDIN**" adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing Prof. Dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK(K) sebagai pembimbing utama dan dr. Firdaus Hamid, Ph.D, Sp.MK sebagai pembimbing pendamping.

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka tesis ini. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa Sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan saya.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya berupa tesis ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 18 April 2023



Priady Wira Prasetia

P062202027

KATA PENGANTAR

Saya bersyukur bahwa tesis ini akhirnya dapat terselesaikan dengan baik. Penelitian yang saya lakukan dapat terlaksanakan dengan sukses dan tesis ini dapat terampungkan atas bimbingan, diskusi dan arahan Prof. dr. Mochamaad Hatta, Ph.D, Sp.MK(K) dan dr. Firdaus Hamid, Ph.D, Sp.MK sebagai pembimbing, Prof. dr. Nasrum Massi, Ph.D, Sp.MK, Dr. dr. Risna Halim Mubin, Sp.PD-KPTI, Dra. Rosana Agus, MSi sebagai penguji, dan juga dr. Andi Rofian Sultan, DMM, M.Sc, Ph.D. Saya mengucapkan berlimpah terima kasih kepada mereka. Tak lupa juga saya ucapkan banyak terima kasih kepada bapak Syafri dan semua staf laboratorium yang telah banyak membantu kami pada saat penelitian di laboratorium HUM-RC RS Universitas Hasanuddin.

Kepada seluruh Dosen-Dosen Prodi S1 FK Unhas, teman sejawat dan mahasiswa saya yang tidak henti-hentinya mendoakan dan memberikan support kepada saya dalam menyelesaikan penelitian ini. Ucapan terima kasih juga saya ucapkan kepada pimpinan Universitas Hasanuddin dan Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin yang telah memfasilitasi saya menempuh program magister serta para dosen dan rekan rekan dalam tim penelitian.

Akhirnya, kepada kedua orang tua tercinta saya mengucapkan limpah terima kasih dan sembah sujud atas doa, pengorbanan dan motivasi mereka selama saya menempuh Pendidikan. Penghargaan yang besar juga saya sampaikan kepada semua keluarga, dan teman teman atas motivasi dan dukungan yang tak ternilai.

Penulis,

Priady Wira Prasetia

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vi
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1 Tujuan Umum.....	3
1.3.2 Tujuan Khusus	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	5
2.1.1 Definisi	5
2.1.2 Sifat Kultur	5
2.1.3 Epidemiologi.....	6
2.1.4 Metabolit dan Faktor Virulensi	7
2.1.5 Patogenesis	9
2.2 Biofilm	10
2.2.1 Definisi	10
2.2.2 Struktur Biofilm.....	11
2.2.3 Mekanisme Pembentukan Biofilm	11
2.2.4 Faktor Lingkungan.....	13
2.2.5 Biofilm <i>Staphylococcus aureus</i>	14
2.3 Kerangka Teori	15
2.4 Kerangka Teori	15
BAB III METODE PENELITIAN	16
3.1 Rancangan Penelitian.....	16
3.2 Waktu dan Lokasi Penelitian.....	16
3.3 Variabel Penelitian.....	16

3.4	Populasi dan Sampel Penelitian.....	16
1.4.1	Populasi	16
1.4.2	Sampel.....	16
1.4.3	Metode Pengambilan Sampel	16
3.5	Instrumen Penelitian	17
3.6	Teknik Pengumpulan Data.....	17
3.7	Teknik Pengolahan dan Analisis Data	18
3.8	Etika Penelitian.....	19
3.9	Personalia Penelitian	19
3.10	Alur Penelitian	20
	BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	21
4.1	Hasil Penelitian	21
4.1.1	Karakteristik Subjek Penelitian	21
4.1.2	Pembentukan Massa Biofilm berdasarkan asal spesimen dan Diagnosis.....	23
4.1.3	Identifikasi Pembentukan Massa Biofilm pada subjek penelitian	24
4.1.4	Perbedaan Pembentukan Massa Biofilm pada isolat bakteri kelompok MSSA dan MRSA di RSP Universitas Hasanuddin	25
4.2	Pembahasan	26
	BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	30
5.1	Kesimpulan.....	30
5.2	Saran.....	30
	DAFTAR PUSTAKA.....	31
	LAMPIRAN.....	36

ABSTRAK

PRIADY WIRA PRASETIA. Gambaran Massa Biofilm pada Isolat Bakteri *Methicillin-Susceptible Staphylococcus aureus* dan *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* di Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin. (dibimbing oleh **Prof. dr. Mochamaad Hatta, Ph.D, Sp.MK(K)** dan **dr. Firdaus Hamid, Ph.D, Sp.MK**)

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan pembentukan massa biofilm oleh isolat *Methicillin-Susceptible Staphylococcus aureus* (MSSA) dan *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dan efek media penambahan glukosa 10% dari Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin, Sulawesi Selatan, Indonesia.

Sebanyak 25 strain *S. aureus* dari isolat klinis seperti swab luka (5), swab pus (5), dan lain-lain. Strain diperoleh dari Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin, Makassar, Sulawesi Selatan, Indonesia pada tahun 2022. Semua data tentang strain MSSA dan MRSA dicatat dalam rekam medis menggunakan standar CLSI dan pemeriksaan PCR. Setelah itu dilakukan uji pembentukan biofilm dalam microplate 96-well dengan mengukur absorbansi pada 450 nm. Analisis data menggunakan SPSS versi 21.0.

Hasil penelitian menemukan bahwa pembentukan massa biofilm pada medium TSB oleh isolat MSSA tertinggi adalah 0,431, lebih tinggi dari pada isolat MRSA. Namun tidak ada perbedaan yang bermakna secara statistik ($p > 0,05$). Pengaruh penambahan glukosa 10% pada medium TSB dengan isolat MSSA didapatkan tingkat pembentukan massa biofilm yang lebih tinggi yaitu 0,428 dibandingkan tanpa glukosa. Media kultur yang tepat dengan penambahan glukosa 10% pada media TSB mendorong pembentukan massa biofilm yang lebih efektif terutama pada isolat MSSA.

Kata kunci: *biofilm, glukosa, methicillin-resistant Staphylococcus aureus, methicillin-susceptible Staphylococcus aureus*

ABSTRACT

PRIADY WIRA PRASETIA. *Biofilm Mass Formation by Methicillin-Sensitive and Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus from Hasanuddin University Teaching Hospital. (supervised by Prof. dr. Mochamaad Hatta, Ph.D, Sp.MK(K) and dr. Firdaus Hamid, Ph.D, Sp.MK)*

This study aims to determine the differences biofilm mass formation by Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) dan Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolates and effects of glucose 10% addition media from Hasanuddin University Hospital, South Sulawesi, Indonesia.

A total of 25 *S. aureus* strain from clinical isolates such as wound swab (5), pus swab (5), and others. The strains were obtained from Hasanuddin University Teaching Hospitals, Makassar, South Sulawesi, Indonesia in 2022. All data about MSSA and MRSA strain was recorded in medical record using standard CLSI and PCR examination. After that, performing biofilm formation assay in a 96-well microplate by measuring the absorbance at 450 nm. Data were analyzed using SPSS version 21.0.

The results of the study found that the biofilm mass formation in TSB media by MSSA isolates with the highest levels was 0.431, which was higher than in MRSA isolates. But there was no statistically significant difference ($p > 0.05$). Effect of TSB of glucose 10% addition media by MSSA isolate found a higher biofilm formation levels of 0.428 than without glucose. Proper culture media with the addition of glucose 10% to TSB media promotes a more effective biofilm mass formation especially in MSSA isolates.

Keywords: biofilm, glucose, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*

BAB I

PENDAHULUAN

1.5 Latar Belakang

Bakteri *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) merupakan bakteri komensal yang sangat banyak dijumpai terutama di lapisan selaput mukosa dan kulit manusia. Bakteri ini menjadi patogen ketika sistem imun melemah atau terjadi trauma yang menyebabkan jaringan kulit terbuka (Brooks GF, 2013; Soleha et al., 2017). *Staphylococcus aureus* masuk ke dalam sirkulasi pembuluh darah dan jaringan untuk menyebabkan infeksi. Prevalensi infeksi *Staphylococcus aureus* di Asia diketahui cukup tinggi, seperti di China sebanyak 20% dan di Taiwan mencapai 60%, serta di Indonesia 23,5%. Penelitian yang dilakukan di wilayah Bali, Surabaya, dan Malang pada tahun 2017 menunjukkan data prevalensi infeksi *Staphylococcus aureus* sekitar 45% (Santosaningsih et al., 2017).

Staphylococcus aureus adalah salah satu penyebab paling umum bakteremia dan saat ini membawa 20-40% kematian pada 30 hari meskipun pengobatan yang tepat (Melzer M et al., 2013). Dalam 20 tahun terakhir, infeksi *S. aureus* menjadi lebih berbahaya dan mahal untuk diobati karena meningkatnya prevalensi resistensi antimikroba pada *S. aureus* karena meluasnya penggunaan antibiotik (Neyra RC et al., 2014). Penelitian di Libya menunjukkan prevalensi MRSA mencapai 19% dengan konfirmasi PCR (Ahmed et al., 2012). MRSA resisten terhadap antibiotik β -laktam tetapi seringkali isolat MRSA bersifat multidrug-resistant (MDR) karena menunjukkan resistensi terhadap agen antimikroba lain, misalnya makrolida, tetrasiklin, aminoglikosida, kloramfenikol, dan fuorokuinolon yang biasa digunakan dalam terapi infeksi yang disebabkan oleh mikroorganisme tersebut (Biantoro IK, 2008; Ness T, 2010).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan di Jakarta didapatkan sebagian besar MRSA didominasi strain SCCmed tipe II 75% (3/4) dan SCCmed tipe IV 25% (1/4), serta keseluruhan isolat *S. aureus* memiliki gen terkait *vancomycin-intermediate Staphylococcus aureus* (VISA), yang diduga akibat adanya infeksi kronik (Howden BP et al., 2010; Kuo SC et al., 2012; Buntaran L et al., 2013).

Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) merupakan salah satu patogen utama pada manusia, yang mana berperan penting menyebabkan banyak penyakit infeksi mulai dari infeksi kulit hingga infeksi invasif yang lebih serius seperti pneumonia, infeksi jaringan lunak, tulang, katup jantung, dan bahkan septikemia pada manusia (Gordon RJ et al., 2008). Angka kejadian infeksi yang disebabkan oleh isolat MRSA terus meningkat dalam beberapa tahun terakhir dan sering dikaitkan dengan angka mortalitas yang lebih banyak dibandingkan infeksi yang disebabkan oleh bakteri lainnya. Infeksi MRSA telah secara rutin terdeteksi pada pasien rawat inap termasuk di negara-negara berpenghasilan tinggi. Infeksi ini diperkirakan mempengaruhi lebih dari 150.000 pasien setiap tahun di Uni Eropa (Kock R et al., 2010; Ahmed MO et al., 2012). MRSA dapat menginfeksi bagian tubuh yang berbeda termasuk luka operasi, kulit, saluran pernapasan bagian bawah, dan aliran darah di mana mereka dapat menyebabkan gejala yang berbeda (Brown AF et al., 2014).

Resistensi terhadap antibiotik dipengaruhi oleh kemampuan *Staphylococcus aureus* untuk membentuk massa biofilm. Struktur biofilm yang melapisi *Staphylococcus aureus* yang terbentuk atas eksopolisakarida memungkinkan bakteri terlindungi dari paparan antibiotik (Flemming HC et al., 2010; Loresta et al., 2012).

Infeksi kronis yang disebabkan oleh sel bakteri yang membentuk biofilm menunjukkan peningkatan resistensi terhadap pengobatan antibiotik merupakan masalah medis yang penting. Diperkirakan bahwa biofilm berkontribusi pada >80% dari semua infeksi pada manusia (Davies D, 2003). Kolonisasi permukaan medis, seperti kateter dan alat medis lain berperan penting dalam masalah penyakit infeksi terkait penanganannya karena sel bakteri dalam biofilm menunjukkan peningkatan resistensi terhadap pengobatan antibiotik pada umumnya (Simoes M et al., 2009). Produksi biofilm oleh *Staphylococcus aureus* paling sering dikaitkan dengan sintesis *polysaccharide intracellular adhesin* (PIA) (Archer et al., 2011).

Berdasarkan latar belakang masalah di atas, infeksi terkait pembentukan biofilm memiliki dampak yang buruk terhadap kondisi pasien dan biofilm terkait *Staphylococcus aureus* juga cenderung menyebabkan infeksi kronik dibandingkan dengan tanpa atau sedikitnya biofilm yang

terbentuk. Selain itu pemeriksaan massa biofilm ini masih kurang dilakukan di Makassar terutama yang membandingkan antara *Methicillin-Susceptible Staphylococcus aureus* dengan *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*, dimana hasil pemeriksaan ini dapat membantu dalam penatalaksanaan antibiotik yang tepat. Oleh karena itu, peneliti ingin mengetahui perbedaan massa biofilm pada isolat bakteri *Methicillin-Susceptible Staphylococcus aureus* Dan *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* di Rumah Sakit Universitas Hasanuddin.

1.6 Perumusan Masalah

Apakah terdapat perbedaan massa biofilm pada isolat bakteri *Methicillin-Susceptible Staphylococcus aureus* Dan *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* di Rumah Sakit Universitas Hasanuddin?

1.7 Tujuan Penelitian

1.3.3 Tujuan Umum

Tujuan umum pada penelitian ini adalah untuk melihat Gambaran Massa Biofilm pada isolat bakteri *Methicillin-Susceptible Staphylococcus aureus* (MSSA) dan *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) di Rumah Sakit Universitas Hasanuddin.

1.3.4 Tujuan Khusus

Tujuan khusus pada penelitian ini adalah :

1. Untuk melihat perbedaan Massa Biofilm berdasarkan lokasi pengambilan spesimen.
2. Untuk melihat perbedaan Massa Biofilm berdasarkan Diagnosis.
3. Untuk melihat perbedaan Massa Biofilm pada isolat bakteri *Methicillin-Susceptible Staphylococcus aureus* Dan *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* di Rumah Sakit Universitas Hasanuddin.
4. Untuk melihat perbedaan pembentukan massa Biofilm pada medium TSB dibandingkan TSB dengan Glukosa 10%.

1.8 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat berupa :

2. Manfaat praktis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan gambaran bagi pembaca mengenai adanya perbedaan pada massa biofilm yang terbentuk antara isolat bakteri MSSA dan MRSA di Rumah Sakit.

3. Manfaat teoritis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar bagi peneliti untuk melakukan pengembangan penelitian serupa pada berbagai jenis bakteri yang umumnya di jumpai di Rumah Sakit maupun di komunitas, serta dapat menjadi dasar penelitian biofilm terkait *Staphylococcus aureus* lainnya.

4. Manfaat klinis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi bahan referensi bagi para tenaga medis (dokter) dalam menangani kasus penyakit infeksi dan melakukan terapi yang tepat agar lama perawatan pasien di Rumah Sakit dapat lebih singkat.

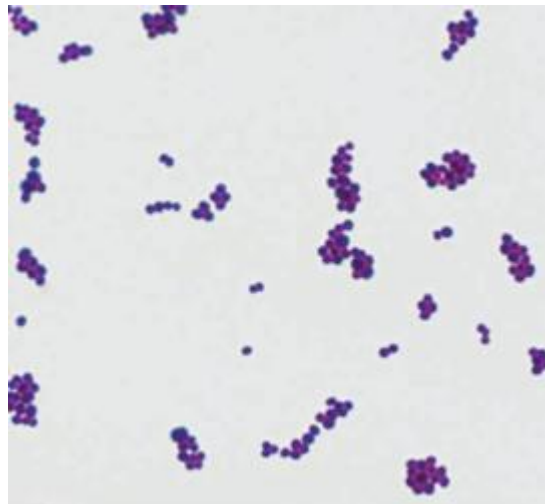
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.5 *Staphylococcus aureus*

2.1.6 Definisi

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif berbentuk bulat berdiameter 0,7-1,2 μm , tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak, serta tumbuh pada suhu optimum 37°C. Lebih dari 90% isolat klinik menghasilkan *S. aureus* yang mempunyai kapsul polisakarida atau selaput tipis yang berperan dalam virulensi bakteri. Berbagai derajat hemolisis disebabkan oleh *S. aureus* dan kadang-kadang oleh spesies *Staphylococcus* lainnya (Jawetz *et al.*, 2007).



Gambar 2.1 Pewarnaan gram *Staphylococcus aureus*

2.1.7 Sifat Kultur

S. aureus tumbuh dengan baik pada berbagai media bakteriologik dibawah suasana aerobik atau mikro-aerobik. Tumbuh dengan cepat pada temperatur 37°C namun pembentukan pigmen yang terbaik adalah pada temperatur kamar (20° - 25°C). Koloni pada media yang padat akan berbentuk bulat, halus, menonjol, dan berkilau-kilau, membentuk berbagai pigmen berwarna kuning keemasan (Jawetz *et al.*, 2007).



Gambar 2.2 *Staphylococcus aureus* pada Nutrient Agar Plate

2.1.8 Epidemiologi

Sumber infeksi bakteri *S. aureus* berasal dari lesi terbuka maupun barang-barang yang terkena lesi tersebut, selain itu ada beberapa tempat di rumah sakit yang berisiko tinggi dalam penyebaran bakteri ini, seperti unit perawatan intensif, perawatan neonatus, dan ruang operasi (Brooks GF, 2013).

Awal resistensi *S. aureus* muncul pada tahun 1942 yaitu resistensi terhadap penisilin, kemudian eritromisin, streptomisin dan tetrasiklin pada 1950, diikuti metisilin pada 1961. Awal tahun 2000, *S. aureus* bermanifestasi sebagai super patogen *multidrug-resistant* yang melebihi 50% dari seluruh *S. aureus* di Instalasi Rawat Intensif (IRI) atau *Intensive Care Unit* (ICU) rumah sakit Amerika Serikat, Amerika Latin, dan Asia-Pasifik. Di Inggris sampai dengan tahun 2004 didapatkan data prevalensi bahwa *Staphylococcus aureus* menjadi masalah yang predominan pada usia lanjut 82% usia > 60 tahun, *strain Staphylococcus aureus* yang ada 92% resisten terhadap fluoroquinolone dan 72% resisten terhadap makrolid, sebagian besar isolat masih sensitif terhadap tetrasiklin, asam fusidat, rifampicin, dan gentamisin, dan *strain Staphylococcus aureus* yang telah diuji 12% resisten terhadap mupirocin (Biantoro IK, 2008). *Staphylococcus aureus* paling banyak ditemukan di tangan, hidung, dan perineum. Penelitian yang dilakukan dengan subjek pasien di ruang perawatan intensif Bandung dan Semarang tahun 2001 menggambarkan bahwa sebanyak 35,9% pada nostril hidung dan 21,8% pada tangan petugas kesehatan. Dari penelitian pendahuluan yang dilakukan oleh Ahmed di beberapa bagian

rumah sakit yang berbeda di Libya didapatkan 128 (22%) positif *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* berdasarkan hasil laboratorium dan 109 (19%) dikonfirmasi dengan PCR dari 569 subjek penelitian. Hidung dan bagian nares anterior adalah bagian yang paling penting dari koloni *Staphylococcus* dan berpotensi sebagai sumber *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini cenderung dianggap remeh karena hanya menggunakan nasal swab dan tidak menguji tempat lain, seperti swab pada tenggorokan (Ahmed *et al.*, 2012).

Saat ini, infeksi MRSA dikaitkan dengan Hospital-acquired MRSA (HA-MRSA) dan juga Community-acquired MRSA (CA-MRSA). Penyebaran yang semakin cepat, memungkinkan untuk membedakannya dengan elemen genetik yang berbeda, dimana diketahui adanya gen resisten antibiotik yang dikodekan oleh *Staphylococcal cassette chromosome mec* (SCCmec) (Hanssen AM *et al.*, 2006). SCCmec tipe I-III dikaitkan isolat HA-MRSA, dan tipe IV dan V terkait dengan CA-MRSA (Kuo SC *et al.*, 2012). Selain itu, ditemukan juga gen VISA dapat muncul dari strain *S. aureus* (VSSA) yang rentan terhadap vankomisin selama infeksi kronis (Howden BP *et al.*, 2010). Berdasarkan penelitian yang dilakukan di Jakarta didapatkan sebagian besar MRSA didominasi strain SCCmed tipe II 75% (3/4) dan SCCmed tipe IV 25% (1/4), serta keseluruhan isolat *S. aureus* memiliki gen terkait VISA (Buntaran L *et al.*, 2013).

2.1.9 Metabolit dan Faktor Virulensi

Staphylococcus aureus membuat tiga macam metabolit, yaitu yang bersifat nontoksin, eksotoksin, dan enterotoksin. Metabolit nontoksin antara lain adalah antigen permukaan, koagulase, hialuronidase, fibrinolisin, gelatinosa, protease, lipase, tributirinase, fosfatase, dan katalase (Warsa, 1994). *Staphylococcus aureus* dapat menimbulkan penyakit melalui kemampuannya tersebar luas dalam jaringan dan melalui pembentukan berbagai zat ekstraseluler. Berbagai zat yang berperan sebagai faktor virulensi

dapat berupa protein, termasuk enzim dan toksin, contohnya (Jawetz *et al.*, 2007) :

a. Katalase

Katalase adalah enzim yang berperan pada daya tahan bakteri terhadap proses fagositosis. Tes adanya aktivitas katalase menjadi pembeda genus *Staphylococcus* dari *Streptococcus*.

b. Koagulase

Enzim ini dapat menggumpalkan plasma oksalat atau plasma sitrat, karena adanya faktor koagulase reaktif dalam serum yang bereaksi dengan enzim tersebut. Esterase yang dihasilkan dapat meningkatkan aktivitas penggumpalan, sehingga terbentuk deposit fibrin pada permukaan sel bakteri yang dapat menghambat fagositosis.

c. Hemolisin

Hemolisin merupakan toksin yang dapat membentuk suatu zona hemolisis di sekitar koloni bakteri. Hemolisin pada *S. aureus* terdiri dari α -hemolisin, β -hemolisin, dan δ -hemolisin. α -hemolisin adalah toksin yang bertanggung jawab terhadap pembentukan zona hemolisis di sekitar koloni *S. aureus* pada medium agar darah. Toksin ini dapat menyebabkan nekrosis pada kulit hewan dan manusia. β -hemolisin adalah toksin yang terutama dihasilkan Stafilokokus yang diisolasi dari hewan, yang menyebabkan lisis pada sel darah merah domba dan sapi. Sedangkan delta hemolisin adalah toksin yang dapat melisiskan sel darah merah manusia dan kelinci, tetapi efek lisisnya kurang terhadap sel darah merah domba.

d. Leukosidin

Toksin ini dapat mematikan sel darah putih pada beberapa hewan. Tetapi perannya dalam patogenesis pada manusia tidak jelas, karena Stafilokokus patogen tidak dapat mematikan sel-sel darah putih manusia dan dapat difagositosis.

e. Toksin eksfoliatif

Toksin ini mempunyai aktivitas proteolitik dan dapat melarutkan matriks mukopolisakarida epidermis, sehingga

menyebabkan pemisahan intraepithelial pada ikatan sel di stratum granulosum. Toksin eksfoliatif merupakan penyebab *Staphylococcal Scalded Skin Syndrome*, yang ditandai dengan melepuhnya kulit.

f. Toksin Sindrom Syok Toksik (TSST)

Sebagian besar galur *S. aureus* yang diisolasi dari penderita sindrom syok toksik menghasilkan eksotoksin pirogenik. Toksin ini menyebabkan demam, syok, ruam kulit, dan gangguan multisistem organ dalam tubuh.

g. Enterotoksin

Enterotoksin adalah enzim yang tahan panas dan tahan terhadap suasana basa di dalam usus. Enzim ini adalah penyebab utama dalam keracunan makanan, terutama yang mengandung karbohidrat dan protein.

2.1.10 Patogenesis

Staphylococcus aureus adalah patogen utama pada manusia. Hampir semua orang pernah mengalami infeksi *S. aureus* selama hidupnya, dengan derajat keparahan yang beragam, dari keracunan makanan atau infeksi kulit ringan hingga infeksi berat yang mengancam jiwa. Sebagian bakteri *Staphylococcus sp.* merupakan flora normal pada kulit, saluran pernafasan, dan saluran pencernaan makanan pada manusia. Bakteri ini juga ditemukan di udara dan lingkungan sekitar. *S. aureus* yang patogen bersifat invasif, menyebabkan hemolisis, membentuk koagulasi, dan mampu meragikan mannitol (Jawetz *et al.*, 2007).

Infeksi oleh *S. aureus* ditandai dengan kerusakan jaringan yang disertai abses. Beberapa penyakit infeksi yang disebabkan oleh *S. aureus* adalah bisul, jerawat, impetigo, dan infeksi luka. Infeksi yang lebih berat diantaranya pneumonia, mastitis, plebitis, meningitis, infeksi saluran kemih, osteomielitis, dan endokarditis. *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan infeksi fatal seperti bakteremia/sepsis, pneumonia, endokarditis, dan osteomyelitis (CDC, 2017).

Sindroma syok toksik (SST) pada infeksi *S. aureus* timbul

secara tiba-tiba dengan gejala demam tinggi, muntah, diare, mialgia, ruam, dan hipotensi, dengan gagal jantung dan ginjal pada kasus yang berat. SST sering terjadi dalam lima hari permulaan haid pada wanita muda yang menggunakan tampon, atau pada anak-anak dan pria dengan luka yang terinfeksi *Staphylococcus sp.* *Staphylococcus aureus* dapat diisolasi dari vagina, tampon, luka atau infeksi lokallainnya, tetapi praktis tidak ditemukan dalam aliran darah (Jawetz *et al.*, 2007).

Pembentukan biofilm juga memicu terbentuknya sifat resisten *S. aureus* terhadap antibiotik. Biofilm mendorong pembentukan sel *S. aureus* yang toleran terhadap antibiotik serta menciptakan sel persisten. Sel persisten adalah sel yang beradaptasi terhadap antibiotik dengan cara mengurangi ketergantungannya terhadap bagian sel yang menjadi target antibiotik maupun menghentikan produksi target antibiotik di dalam sel (Lewis, 2010). Pembentukan biofilm juga makin menyulitkan terapi pada kasus infeksi bakteri yang resisten. Ohadian Moghadam S *et al.* (2014) menemukan bahwa biofilm MRSA pada pasien infeksi luka bakar, resisten terhadap amikacin, ceftriaxone, ciprofloksasin, eritromisin, gentamisin, tetrasiklin, dan tobramisin. Resistensi ini dapat terjadi akibat beberapa hal seperti penurunan difusi antibiotik akibat matriks biofilm yang kompleks, aktivitas metabolisme yang terjadi di biofilm, dan interaksi antibiotik dengan produk hasil metabolisme bakteri yang mengubah aktivitas antibiotik.

2.6 Biofilm

2.2.6 Definisi

Biofilm merupakan bentuk kehidupan mikroorganisme yang menempel pada suatu permukaan dengan membentuk matriks yang terbuat dari *extracellular polymeric substance* (EPS) (Donlan, 2002). Biofilm merupakan kumpulan dari sel-sel mikrobial yang melekat secara ireversibel pada suatu permukaan dan terbungkus dalam *extracellular polymeric substance* (EPS) yang dihasilkannya sendiri serta memperlihatkan adanya perubahan fenotip seperti perubahan tingkat pertumbuhan dan perubahan transkripsi gen dari

sel planktonik atau sel bebasnya. Bentuk biofilm sesungguhnya merupakan bentuk pertahanan dari mikroorganisme terhadap ancaman fisis, kimiawi, maupun biologis (Gunardi, 2014).

2.2.7 Struktur Biofilm

Unit struktural dari biofilm adalah mikrokoloni dari proses dasar pembentukan dari biofilm seperti mekanisme *quorum sensing*, resistensi antimikroba, dan perlekatan yang dapat menerangkan interaksi fisiologis dari mikrokoloni dalam biofilm yang telah matang. Biofilm terutama terdiri dari materi matriks (85% dari volume) dan kumpulan sel-sel bakteri (15% dari volume). *Extracellular polymeric substance* (EPS) menyusun 50-90% karbon organik biofilm dan dapat dianggap sebagai material matrik yang utama. EPS bervariasi secara fisik dan kimia, tapi terutama terdiri dari polisakarida. EPS bersifat hidrofilik karena dapat mengikat air dalam jumlah yang banyak, dengan tingkat kelarutan yang berbeda-beda (Gunardi, 2014).

2.2.8 Mekanisme Pembentukan Biofilm

Pembentukan biofilm meliputi serangkaian proses yang sangat kompleks, di mana sel-sel mikroorganisme berubah dari bentuk planktonik (bakteri hidup bebas) menjadi sel agregat berkoloni (fenotip biofilm) (Jamal et al., 2015). Pembentukan biofilm dimulai dengan menempelnya mikroorganisme bebas (planktonik) pada suatu permukaan, kemudian memperbanyak diri (proliferasi), pematangan (maturasi) dan membentuk satu lapisan tipis (monolayer) biofilm (Lambadi PR et al., 2015). Penjelasan mengenai empat langkah utama yang terlibat dalam pembentukan biofilm, yaitu sebagai berikut:

a. Adhesi awal atau keterikatan (reversibel)

Biofilm dapat terbentuk di lingkungan yang memiliki nutrisi yang tepat. Permukaan untuk pelekatan sel bisa berupa abiotik (logam, kaca, plastik, implan medis, stainless steel) atau biotik (sel epitel, kulit manusia dan jaringan hewan). Bakteri yang motil memiliki keunggulan kompetitif, memanfaatkan flagella untuk

mengatasi gaya hidrodinamik dan repulsif (Kostakioti et al., 2013).

Flagela, membantu pergerakan aktif bakteri dan meningkatkan interaksi antara bakteri dengan permukaan yang memfasilitasi adhesi awal bakteri dengan permukaan. Motilitas bakteri merupakan faktor penting untuk adhesi, namun bakteri nonmotile dapat melakukan adhesi dengan ekspresi faktor adhesi yang kuat (Lambadi PR et al., 2015).

Terbentuknya biofilm dimulai dengan perlekatan sel mikroba planktonik pada permukaan substrat. Sel-sel pada tahap perlekatan awal tidak melekat dengan kuat (reversible) karena hanya mengandalkan kekuatan ikatan Van der Waals. Setelah itu, koloni akan mengikatkan diri lebih kuat pada permukaan dengan menggunakan pili. Koloni awal berperan sebagai fasilitator bagi sel lainnya untuk mencari sisi perlekatan selanjutnya sebagai tempat pembuatan matriks biofilm. Bagi sel-sel yang tidak mampu untuk melekat pada permukaan, sel tersebut memacu sel-sel dalam koloni untuk membentuk matriks melalui quorum sensing (QS) (Aparna et al., 2008).

b. Perkembangan awal struktur biofilm (ireversibel)

Pembentukan mikrokoloni segera terjadi setelah bakteri melekat pada permukaan substrat. Bakteri mengalami proliferasi sambil mengeluarkan sinyal kimia untuk berkomunikasi secara internal yang disebut quorum sensing (QS). Bakteri menghasilkan EPS, yang berfungsi melekatkan bakteri yang telah bereplikasi, membentuk mikrokoloni, Mempertahankan lingkungan mikro yang sangat terhidrasi di seputar mikroorganisme biofilm, yang menyebabkan mikroorganisme dapat mentoleransi terhadap gangguan pada lingkungan yang kekurangan air, menyebabkan mikroorganisme tahan / resisten terhadap pertahanan spesifik dan non spesifik host selama infeksi, dan resistensi terhadap berbagai agen antimikroba (Flemming & Jost, 2010).

Motilitas dari sel agregat semakin menurun sejalan dengan semakin progresifnya penebalan EPS. Mikrokoloni ini

menyebabkan perlekatan bakteri dengan permukaan jaringan menjadi lebih stabil. Fimbrae tipe 1 dan curli fimbrae merupakan organel adhesif yang sangat berperan pada perlekatan *irreversible* bakteri pada permukaan substrat/ jaringan (Aparna et al., 2008; Jamal et al., 2015).

c. Maturasi biofilm

Sel-sel yang melekat dengan kuat pada permukaan substrat/jaringan, akan bergabung melalui interaksi antarsel. Pada fase maturasi, Selama tahap maturasi, biofilm akan terus tumbuh sejalan dengan pertumbuhan koloni. Semakin lama, biofilm akan semakin berkembang dengan penambahan ukuran dan perubahan bentuk. Pada tahap ini, ketebalan biofilm mencapai lebih dari 100 μm dan dapat mencapai 300-400 μm (Aparna et al., 2008).

d. Dispersi sel dari biofilm untuk kembali ke keadaan planktonik.

Tahapan ini, bakteri akan meninggalkan biofilm secara teratur. Pelepasan terjadi sebagai akibat degradasi enzimatis (*dispersin B* dan *deoxyribonuclease*) matriks biofilm dan QS sebagai respons terhadap perubahan lingkungan yang berkaitan dengan tingkat gizi dan deplesi oksigen oleh beberapa kekuatan eksternal. Pada tahap ini akan terjadi pelepasan bakteri dari biofilm matang (dalam bentuk planktonik) dan menyebar serta membentuk biofilm lainnya (Lambadi PR et al., 2015). Dengan demikian bakteri akan menyebar dan semakin banyak dalam saluran kemih. Pelepasan sel bakteri planktonik dari biofilm adalah detasemen terprogram, memiliki pola alami. Beberapa bakteri menghentikan produksi EPS dan terlepas ke lingkungan (Jamal et al., 2015).

2.2.9 Faktor Lingkungan

Pembentukan biofilm juga dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor yang berpotensi menjadi toksik untuk sel bakteri. Bakteri yang mengalami paparan suhu dan osmolaritas yang tinggi, urea, glukosa, dan stress oksidatif, serta penggunaan parasetamol terbukti mengalami peningkatan dalam pembentukan biofilm.

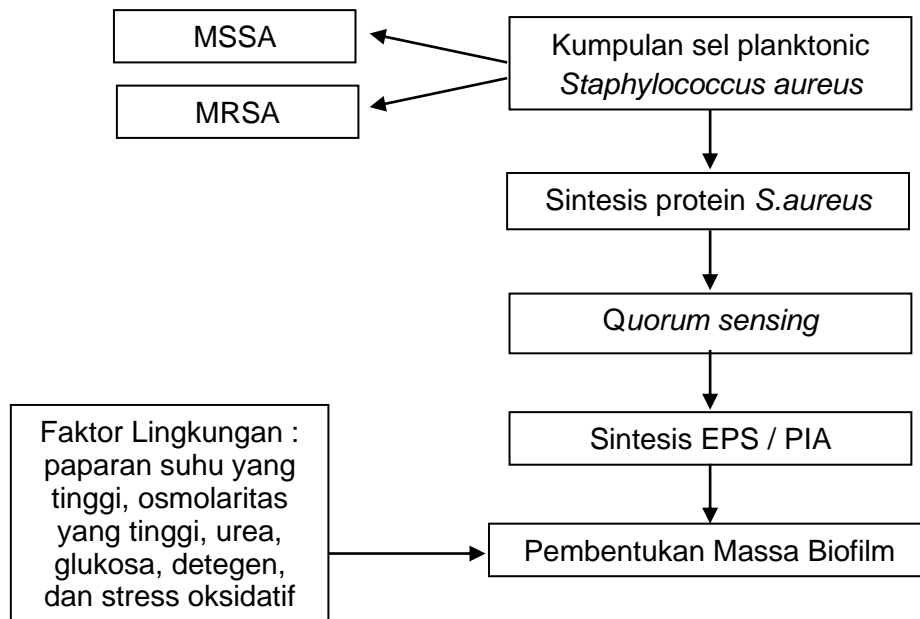
Peningkatan massa biofilm dapat dikaitkan dengan peningkatan yang nyata dari komponen yang mengandung *N-Acetylglucosamine* dari matriks ekstraseluler, mungkin *adhesi* antar sel polisakarida (Nuryastuti, 2009, Sultan AR, 2021).

2.2.10 Biofilm *Staphylococcus aureus*

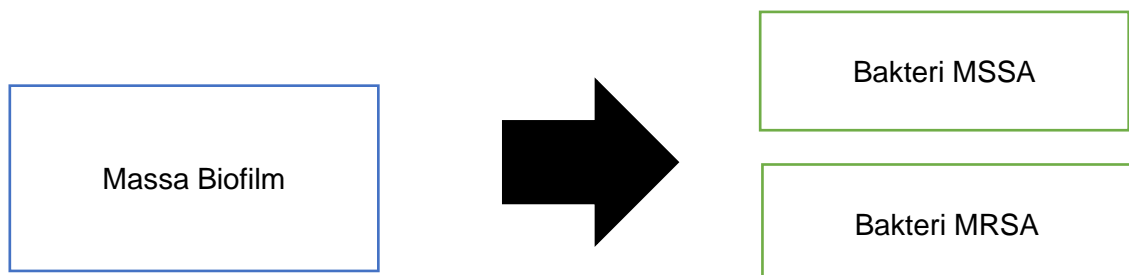
Salah satu penyebab utama dari infeksi nosokomial dan beberapa alat implant medis yang digunakan adalah akibat dari pembentukan biofilm dari *Staphylococcus aureus*. Infeksi lainnya yang juga banyak ditemukan adalah osteomyelitis dan endocarditis. Penyakit kronis seperti rhinosinusitis kronik juga dapat disebabkan oleh biofilm *Staphylococcus aureus* yang menginfeksi sinus hingga menyebabkan hilangnya sel silia dan sel goblet (Kamath et al., 2013). Sebagian besar dapat penanganan dengan terapi antibiotik untuk kasus-kasus diatas umumnya terhalangi oleh adanya pembentukan biofilm.

Menurut Archer et al. pada tahun 2011 menyimpulkan beberapa jalur pembentukan biofilm *Staphylococcus aureus* melalui jalur *PIA-dependent*, *PIA-independent*, dan *eDNA*. *PIA* atau *polysaccharide intercellular antigen*) diproduksi oleh *Staphylococcus aureus* secara *in vitro* dari *UDP-N-acetylglucosamine* melalui produk lokus *intercellular adhesion (ica)*. Pada jalur *PIA-dependent*, *PIA* terbukti berperan penting dalam pembentukan biofilm serta dalam pertumbuhan anaerobik, dimana biofilm ikut terbentuk bersamaan dengan produksi *PIA*. Selain itu diketahui juga jalur *PIA-independent* dapat membentuk bioilm, yang tidak berkaitan dengan lokus gen *ica*. Penghapusan lokus *ica* terbukti tidak menurunkan virulensi biofilm *Staphylococcus aureus*, namun ditemukan adanya protein A (*SpA*) yang ikut berperan penting dalam pembentukan biofilm. Yang terakhir jalur yang sama pentingnya dalam mekanisme pembentukan biofilm adalah *extracellular DNA* yang disebut *eDNA*, hal ini didukung karena *Staphylococcus aureus* memiliki kemampuan menambahkan DNA pada matriks awal biofilm, yang mendukung struktur pembentukan biofilm.

2.7 Kerangka Teori



2.8 Kerangka Teori



Keterangan :

: Variabel Independen

: Variabel Dependen