

Staphylococcus aureus pada Komunitas Lebih Resisten terhadap Ampisilin dibandingkan Isolat Rumah Sakit

Higher Resistance of Staphylococcus aureus to Ampicillin in Community Compared to Hospital Isolates

Dewi Santosaningsih¹, Lilik Zuhriyah², Martha Nurani P³

¹Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang

²Laboratorium Ilmu Kesehatan Masyarakat Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang

³Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang

ABSTRAK

Staphylococcus aureus (*S.aureus*) merupakan penyebab penting infeksi serius di rumah sakit maupun komunitas di seluruh dunia. Pengobatan infeksi *S.aureus* menjadi semakin kompleks karena munculnya *strain methicillin-resistant S.aureus* (MRSA) *strain*. Meskipun begitu, ampicilin masih direkomendasikan sebagai antibiotik pada terapi infeksi *S.aureus* di rumah sakit Malang. Sementara itu ampicilin dapat dikonsumsi secara bebas di masyarakat. Penelitian ini dilakukan untuk menguji efektifitas ampicilin terhadap isolat *S. aureus* dari rumah sakit dan komunitas. Tes sensitivitas dilakukan dengan *tube dilution method* untuk mengukur kadar hambat minimum (KHM) pada setiap isolat dengan berbagai konsentrasi yaitu 0 µg/ml, 1,25 µg/ml, 2,5 µg/ml, 5 µg/ml, 10 µg/ml, 20 µg/ml, dan 40 µg/ml. Hasil menunjukkan bahwa KHM pada isolat rumah sakit lebih rendah ($\geq 2,5$ µg/ml) dibandingkan isolate komunitas (≥ 20 µg/ml). Hasil uji regresi linier menunjukkan hubungan yang lemah antara peningkatan dosis ampicilin dan pertumbuhan koloni *S. aureus* baik pada isolat rumah sakit ($r=-0,651$, $p<0,05$) maupun komunitas ($r=-0,489$, $p<0,05$). Dapat disimpulkan bahwa *S.aureus* di rumah sakit dan komunitas resisten dengan ampicilin, dengan tingkat resistensi lebih tinggi pada komunitas.

Kata Kunci: Ampicilin, *antibiotic sensitivity test*, *Staphylococcus aureus*

ABSTRACT

Staphylococcus aureus (*S.aureus*) is recognized as an important pathogen causes serious infection in hospital and community worldwide. Treatment of *S.aureus* infection becomes more complicated because the emerging of methicillin-resistant *S.aureus* (MRSA) *strain*. However, ampicillin is still recommended as antibiotic therapy to *S.aureus* infection in hospital around Malang city, Indonesia. Meanwhile Ampicillin is freely consumed in the community. This study aimed to evaluate the effectiveness of ampicillin toward hospital and community isolates of *S.aureus*. The antibiotic sensitivity test was performed by tube dilution method to determine the minimum inhibition concentration (MIC) value of ampicillin to each type of isolates with the concentration of ampicillin as follows: 0 µg/ml, 1,25 µg/ml, 2,5 µg/ml, 5 µg/ml, 10 µg/ml, 20 µg/ml, dan 40 µg/ml. This study showed resulted that the MIC value of ampicillin to clinical isolates and community isolates was $\geq 2,5$ µg/ml and ≥ 20 µg/ml, respectively. The simple linier regression revealed the inadequate correlation between ampicillin concentration and the number of bacterial growth of clinical isolates and community isolates ($r=-0,651$, $p<0,05$ and $r=-0,489$, $p<0,05$, respectively). It can be concluded that the *S.aureus* originated from hospital and community were resistant to ampicillin with higher resistance level in community isolates.

Keywords: Ampicillin, *antibiotic sensitivity test*, *Staphylococcus aureus*

Jurnal Kedokteran Brawijaya, Vol. 26, No. 4, Agustus 2011; Korespondensi: Dewi Santosaningsih. Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, Jl. Veteran Malang, Tel. (0341) 569117 Email: dewi_santosa@yahoo.com

PENDAHULUAN

Staphylococcus aureus (*S.aureus*) merupakan flora normal tubuh manusia yang bersifat patogen oportunistik. Bakteri tersebut dikenal sebagai penyebab berbagai macam penyakit infeksi mulai dari infeksi kulit dan jaringan lunak yang sering terjadi di komunitas sampai penyakit infeksi yang bersifat serius bahkan fatal yang diperoleh di rumah sakit (infeksi nosokomial) seperti osteomyelitis, *necrotizing pneumonia*, dan bakteremia (1-3). Di Amerika Serikat, 260.000 dari 2 juta (13%) kasus infeksi nosokomial disebabkan oleh *S. aureus*. Angka kematian penderita septisemia yang disebabkan oleh *S.aureus* berkisar 11-48% (3). Hasil penelitian terdahulu yang dilakukan di Perancis menunjukkan bahwa *S.aureus* terkait dengan 77% kasus infeksi kulit dan jaringan lunak di komunitas (4).

Terapi terhadap infeksi *S.aureus* saat ini semakin sulit akibat munculnya galur yang resisten terhadap penisilin bahkan resisten terhadap metisilin (kelompok antibiotika penisilin yang resisten terhadap enzim beta laktamase) baik di rumah sakit maupun di komunitas (2,5). Hasil uji kepekaan antibiotika di Laboratorium Mikrobiologi RSU Dr. Saiful Anwar Malang pada tahun 2006 menunjukkan tingkat resistensi *S.aureus* terhadap ampisilin mencapai 94%. Antibiotika ampisilin dan amoksisilin masih direkomendasikan dalam standar formularium penggunaan obat-obatan di RSU Dr. Saiful Anwar Malang tahun 2005. Ampisilin atau amoksisilin juga masih banyak beredar dan dikonsumsi oleh masyarakat (6). Oleh karena itu uji kepekaan antibiotik ampisilin terhadap *S.aureus* baik isolat rumah sakit maupun komunitas perlu dilakukan sebagai dasar dalam mengembangkan standar terapi dan regulasi penggunaan antibiotik.

METODE

Desain Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris dengan desain *post test only control group* yang dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang sejak bulan Maret 2008 sampai dengan bulan Januari 2009 sebagai bagian dari penelitian induk yang dilakukan oleh kelompok studi MRSA Indonesia. Sampel penelitian adalah stok isolat bakteri *S.aureus* galur *methicillin sensitive* (MSSA) yang diperoleh dari hasil skrining swab hidung dan tenggorok dan telah dilakukan identifikasi bakteri sesuai dengan protokol penelitian induk. *Staphylococcus aureus* isolat rumah sakit diperoleh dari hasil skrining swab hidung dan tenggorok terhadap pasien yang keluar dari bangsal bedah RSU Dr. Saiful Anwar Malang setelah dirawat lebih dari 48 jam, sedangkan *S.aureus* isolat komunitas diperoleh dari hasil skrining swab hidung dan tenggorok terhadap keluarga pasien yang terdeteksi sebagai *carrier methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dari swab hidung dan atau tenggoroknya. Jumlah isolat bakteri *S.aureus* dalam penelitian ini adalah 3 isolat rumah sakit dan 3 isolat komunitas.

Kadar hambat minimum suatu antibiotika adalah konsentrasi terendah dari antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Kadar hambat minimum ampisilin terhadap isolat bakteri *S.aureus* dalam penelitian ini ditentukan dengan uji kepekaan antibiotika metode *tube dilution test* dengan berbagai

konsentrasi ampisilin (kelompok perlakuan) (6). Kelompok isolat bakteri yang tidak dipapar dengan ampisilin (konsentrasi ampisilin 0 µg/ml) disebut dengan kelompok kontrol.

Antibiotik Ampisilin

Ampisilin yang digunakan dalam penelitian ini adalah ampisilin sediaan injeksi dalam bentuk *powder* yang kemudian dilarutkan dengan *water for injection* sesuai dengan konsentrasi yang telah ditentukan dalam penelitian ini. Konsentrasi ampisilin yang digunakan untuk uji kepekaan adalah 0 µg/ml, 1,25 µg/ml, 2,5 µg/ml, 5 µg/ml, 10 µg/ml, 20 µg/ml, dan 40 µg/ml. Konsentrasi tersebut merupakan konsentrasi akhir setelah larutan ampisilin dipapar dengan suspensi bakteri. Nilai KHM ampisilin terhadap *S.aureus* yang diperoleh dari penelitian ini dibandingkan dengan panduan dari *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) 2011 (7).

Persiapan Inokulum Bakteri

Inokulum diperoleh dari kultur bakteri *S.aureus* selama 18-24 jam dalam suhu 37°C pada medium *mueller Hinton agar*, selanjutnya diambil 3 koloni bakteri untuk diinokulasi pada medium *nutrient broth* dan diinkubasi pada suhu 18-24 jam dalam suhu 37°C. Hasil kultur bakteri pada medium *nutrient broth* tersebut diukur kekeruhannya menggunakan spektrofotometri. Kekeruhan bakteri yang digunakan untuk uji kepekaan antibiotik metode *tube dilution test* ini adalah 10⁶ CFU/ml atau setara dengan McFarland 0.5.

Uji Kepekaan Antibiotik Metode Tube Dilution Test

Uji kepekaan antibiotik dengan metode *tube dilution test* digunakan untuk mengetahui nilai KHM ampisilin baik terhadap *S.aureus* isolat rumah sakit maupun isolat komunitas. Tiap jenis isolat dibagi menjadi dua kelompok, yaitu kelompok kontrol (tanpa ampisilin) dan kelompok perlakuan yang dibagi menjadi 6 kelompok berdasarkan konsentrasi akhir ampisilin yang diujikan, yaitu konsentrasi 1,25 µg/ml, 2,5 µg/ml, 5 µg/ml, 10 µg/ml, 20 µg/ml, dan 40 µg/ml (6). Suspensi bakteri dengan jumlah inokulum 10⁶ CFU/ml dicampur dengan larutan ampisilin sehingga diperoleh konsentrasi akhir ampisilin seperti tersebut di atas kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Nilai KHM ampisilin ditentukan berdasarkan konsentrasi terendah larutan ampisilin yang mengandung suspensi bakteri yang tidak menunjukkan kekeruhan. Pada penelitian ini, setelah diamati nilai KHM nya, perbenihan bakteri dalam larutan ampisilin dengan berbagai konsentrasi tersebut diinokulasi pada medium *nutrient agar plate* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Koloni bakteri *S.aureus* yang tumbuh pada medium NAP tersebut dihitung jumlahnya. Uji kepekaan antibiotika ini dilakukan terhadap 3 isolat *S.aureus* masing-masing baik untuk isolat rumah sakit maupun untuk isolat komunitas.

Data dianalisis dengan uji regresi linier sederhana untuk mengetahui pengaruh peningkatan konsentrasi ampisilin terhadap jumlah bakteri *S.aureus* yang tumbuh pada medium NAP.

HASIL

Uji kepekaan antibiotik dengan metode *tube dilution test* pada penelitian ini menunjukkan nilai KHM ampisilin terhadap *S.aureus* isolat rumah sakit adalah ≥ 2,5 µg/ml,

sedangkan nilai KHM ampisilin terhadap *S.aureus* isolat komunitas adalah $\geq 20 \mu\text{g/ml}$. Menurut panduan CLSI tahun 2011, bakteri *S.aureus* dinyatakan sensitif terhadap ampisilin bila nilai KHM ampisilin $\leq 0,12 \mu\text{g/ml}$ sedangkan bakteri *S.aureus* dinyatakan resisten terhadap ampisilin bila nilai KHM $\geq 0,25 \mu\text{g/ml}$ (7). Berdasarkan panduan dari CLSI tersebut maka hasil uji kepekaan antibiotika pada penelitian ini menunjukkan bahwa baik isolat rumah sakit maupun isolat komunitas telah resisten terhadap ampisilin, namun tingkat resistensi isolat komunitas terhadap ampisilin lebih tinggi dibandingkan dengan isolat rumah sakit. Penelitian ini juga melaporkan hasil hitung koloni bakteri *S.aureus* pada medium NAP menurun dengan meningkatnya konsentrasi ampisilin yang dipaparkan, baik pada isolat rumah sakit maupun isolat komunitas (Tabel 1).

Tabel 1. Rerata jumlah koloni bakteri *S.aureus* isolat rumah sakit dan komunitas pada medium NAP setelah dipapar oleh antibiotika ampisilin dengan berbagai konsentrasi

Konsentrasi ampisilin ($\mu\text{g/ml}$)	Rerata jumlah koloni bakteri <i>S.aureus</i> ($\times 10^6 \text{ CFU/ml}$)	
	Isolat Rumah Sakit	Isolat Komunitas
0	192 $\pm$ 17	300 $\pm$ 97
1,25	123 $\pm$ 29	227 $\pm$ 119
2,5	59 $\pm$ 41	185 $\pm$ 94
5	44 $\pm$ 35	153 $\pm$ 109
10	31 $\pm$ 35	141 $\pm$ 100
20	12 $\pm$ 20	121 $\pm$ 78
40	0,07 $\pm$ 0,08	90 $\pm$ 90

Hasil uji regresi linier sederhana menunjukkan nilai koefisien beta pada isolat rumah sakit adalah (-0,651) ($p < 0,05$) sedangkan nilai koefisien beta pada isolat komunitas adalah (-0,489) ($p < 0,05$). Hasil ini menunjukkan bahwa baik pada isolat rumah sakit maupun isolat komunitas peningkatan dosis ampisilin akan disertai dengan penurunan jumlah koloni *S.aureus* yang bermakna. Berdasarkan nilai beta koefisien pada kedua jenis isolat tersebut menunjukkan bahwa pengaruh ampisilin dalam menurunkan koloni bakteri *S.aureus* tersebut pada isolat rumah sakit termasuk pada kategori

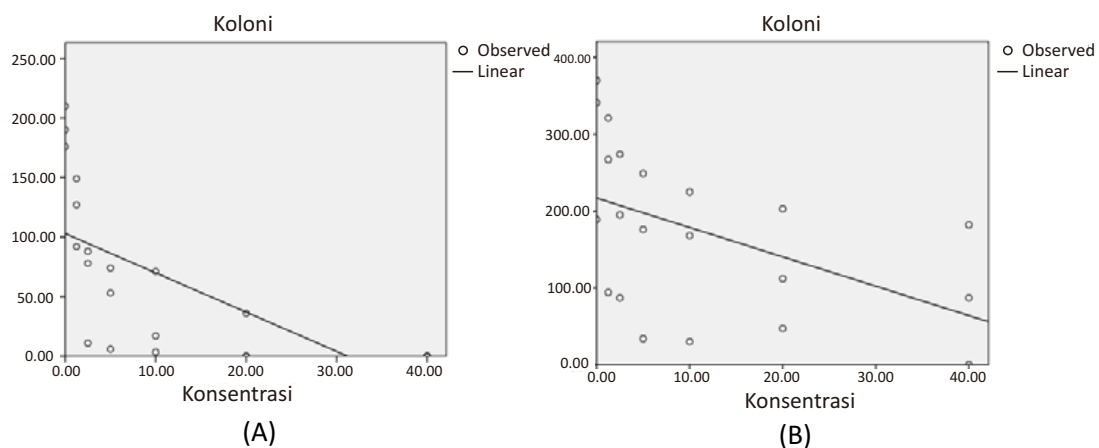
cukup sedangkan pada isolat komunitas termasuk pada kategori lemah. Hal ini sesuai dengan hasil uji kepekaan antibiotika yang menunjukkan tingkat resistensi isolat komunitas terhadap ampisilin yang lebih tinggi dibandingkan dengan isolat rumah sakit.

DISKUSI

Staphylococcus aureus adalah flora normal tubuh manusia yang habitatnya di hidung, tenggorok, dan kulit orang sehat. Infeksi *S.aureus* baik di rumah sakit maupun di komunitas diduga terkait dengan adanya kolonisasi *S.aureus* pada tubuh penderita sebagai sumber utama, sehingga dapat terjadi infeksi oportunistik pada diri penderita sendiri atau terjadi transmisi pada penderita lain (8). Infeksi *S.aureus* menjadi sulit diterapi apabila galur *S.aureus* yang berperan adalah galur *methicillin resistant* atau disebut *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) karena MRSA bersifat resisten terhadap antibiotika spektrum luas yang biasa digunakan di rumah sakit (9).

Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian kelompok studi MRSA Indonesia yang melakukan skrining adanya kolonisasi *S.aureus* pada hidung, tenggorok, atau luka terbuka pada pasien yang dirawat di bangsal bedah RSUD Dr. Saiful Anwar Malang lebih dari 48 jam. Isolat rumah sakit *S.aureus* diperoleh dari hasil skrining tersebut dengan asumsi penderita mendapat kolonisasi *S.aureus* pada masa perawatan di rumah sakit. Isolat komunitas *S.aureus* diperoleh dari hasil skrining terhadap keluarga penderita yang mendapat kolonisasi MRSA di rumah sakit, hal ini disesuaikan dengan protokol penelitian induk dari kelompok studi MRSA Indonesia.

Hasil penelitian ini menunjukkan nilai KHM ampisilin pada isolat rumah sakit maupun komunitas bakteri *S.aureus* jauh di atas nilai $0,25 \mu\text{g/ml}$. Ini menunjukkan bahwa bakteri *S.aureus* dari kedua tempat yang berbeda tersebut resisten terhadap ampisilin. Analisis statistik memperkuat hasil tersebut yang ditunjukkan oleh nilai korelasi koefisien yang tidak kuat baik antara konsentrasi ampisilin dengan *S.aureus* isolat komunitas maupun dengan *S.aureus* isolat rumah sakit. Hal ini berarti bahwa peningkatan konsentrasi ampisilin kurang berpengaruh terhadap penurunan jumlah koloni bakteri *S.aureus*. Perbandingan nilai KHM ampisilin dan nilai koefisien beta sebagai hasil uji regresi



Gambar 1. Grafik regresi linier sederhana pengaruh jumlah bakteri *S.aureus* isolat rumah sakit (A) dan isolat komunitas (B) terhadap peningkatan konsentrasi ampisilin

linier sederhana menunjukkan bahwa tingkat resistensi *S.aureus* isolat komunitas lebih tinggi dibandingkan isolat rumah sakit. Hasil yang sama juga dilaporkan oleh Brett yang menunjukkan bahwa tingkat resistensi *S.aureus* terhadap antibiotika beta laktam di komunitas adalah 91% sedangkan di rumah sakit sebesar 83% (10). Tidak ada penjelasan dari penelitian tersebut tentang faktor-faktor yang menyebabkan lebih tingginya tingkat resistensi *S.aureus* isolat komunitas terhadap antibiotika dibandingkan dengan isolat rumah sakit (10).

Pada penelitian ini, isolat bakteri yang diuji adalah isolat *S.aureus* galur MSSA, namun hasil uji kepekaan terhadap ampisilin menunjukkan adanya resistensi *S.aureus* terhadap ampisilin. Hal ini dapat terjadi karena metode identifikasi secara fenotipik yang tidak selalu memberi hasil yang tepat. Faktor-faktor yang mempengaruhi hasil identifikasi fenotipik tersebut adalah pengaruh perubahan konsentrasi NaCl yang ditambahkan pada medium untuk meningkatkan deteksi resistensi, suasana *basal medium*, dan temperatur inkubasi (11). Adanya kemungkinan bahwa isolat *S.aureus* yang diuji adalah galur MRSA juga belum dapat disingkirkan. Hal ini terjadi karena ekspresi resistensi yang rendah pada beberapa galur *S.aureus* yang disebut sebagai *low level* MRSA. *Low level* MRSA terjadi akibat produksi berlebihan dari enzim beta laktamase, meningkatnya jumlah *penicillin binding proteins* (PBPs), atau berkurangnya daya ikat PBPs. Galur ini seringkali salah diidentifikasi sebagai MSSA karena

adanya sensitifitas yang masih tinggi terhadap antibiotika golongan beta laktam dan nilai kadar hambat minimum *cefloxitin* yang rendah terhadap *low level* MRSA (12).

Keterbatasan penentuan nilai KHM dengan metode *tube dilution* seperti dalam penelitian ini terletak pada keterbatasan kemampuan visual untuk menentukan tingkat kejernihan suspensi bakteri yang dipapar dengan ampisilin. Penentuan nilai KHM ini akan lebih akurat menggunakan metode *E-test* atau menggunakan *automated bacterial culture system*. Hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa penggunaan ampisilin untuk terapi infeksi *S.aureus* baik di rumah sakit maupun di komunitas tidak efektif lagi. *Staphylococcus aureus* baik isolat rumah sakit maupun isolat komunitas telah resisten terhadap ampisilin, dengan tingkat resistensi isolat komunitas lebih tinggi dibandingkan dengan isolat rumah sakit.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami ucapkan terima kasih kepada Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang dan Direktur RSU Dr. Saiful Anwar Malang yang telah memfasilitasi penelitian ini sehingga dapat berjalan dengan baik dan Prof.dr.Henri Verbrugh (*Head of Dept. Medical Microbiology and Infectious Diseases, Erasmus University Medical Center Rotterdam, the Netherlands*) yang telah memberikan bantuan pengadaan logistik penelitian ini sebagai bagian dari penelitian induk kelompok studi MRSA Indonesia.

DAFTAR PUSTAKA

1. Wertheim HF, Van Leeuwen WB, Snijders S, et al. *Associations between Staphylococcus aureus Genotype, Infection, and In-Hospital Mortality: A Nested Case-Control Study*. The Journal of Infectious Diseases. 2005; 192(7): 1196–1200.
2. Ghasemzadeh-Moghaddam H, Ghaznavi-Rad E, Sekawi Z, et al. *Methicillin-susceptible Staphylococcus aureus from Clinical and Community Sources are Genetically Diverse*. International Journal of Medical Microbiology. 2011; 301(4): 347–353.
3. Revazishvili T, Bakanidze L, Gomelauri T, et al. *Genetic Background and Antibiotic Resistance of Staphylococcus aureus Strains Isolated in the Republic of Georgia*. Journal of Clinical Microbiology. 2006; 44(10): 3477–3483.
4. Durupt F, Mayor L, Bes M, et al. *Prevalence of Staphylococcus aureus Toxins and Nasal Carriage in Furuncles and Impetigo*. The British Journal of Dermatology. 2007; 157(6): 1161–1167.
5. Gardam MA. *Is Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus an Emerging Community Pathogen? A Review of the Literature*. The Canadian Journal of Infectious Diseases. 2000; 11(4): 202–211.
6. Forbes BA, Sahm DF, and Weissfeld AS. *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology*. 12th edition. St. Louis: Mosby Publisher; 2007; p. 187–214.
7. Clinical and Laboratory Standart Institute. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-First Informational Supplement*. Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2011; 31: 70.
8. Von Eiff C, Becker K, Machka K, Stammer H, and Peters G. *Nasal Carriage as a Source of Staphylococcus Aureus Bacteremia*. The New England Journal of Medicine. 2001; 344(1): 11–16.
9. Kluytmans J, Belkum A, and Verbrugh H. *Nasal Carriage of Staphylococcus aureus: Epidemiology, Underlying Mechanisms, and Associated Risks*. Clinical Microbiology Reviews. 1997; 10(3): 505–520.
10. Brett M. *Antimicrobial Susceptibility of Staphylococcus aureus in New Zealand in 1999*. (Online) 1999. http://www.surv.esr.cri.nz/PDF_surveillance/Antimicrobial/Staph_1999.pdf
11. Brown DF, Edwards DI, Hawkey PM, et al. *Guidelines for the Laboratory Diagnosis and Susceptibility Testing of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA)*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2005; 56(6): 1000–1018.
12. Champe PC, Harvey RA, and Ferrier DR. *Biochemistry*. 2nd edition. Baltimore: Lippincott Williams and Wilkins; 2005; 69–78.