

DETEKSI GEN *Meca* PADA *METHICILLIN RESISTANT STAPHYLOCOCCUS AUREUS* (MRSA) PASIEN INFEKSI SALURAN KEMIH

Nirmawati Angria¹, Zarqia²

D-IV Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Teknologi Kesehatan, Universitas Megarezky^{1,2}
e-mail : ¹nirmawatiangria@gmail.com, ²zarq15@gmail.com

ABSTRACT

The human urinary tract is an organ that collects and stores urine, and the organs that excrete urine from the body are the kidneys, ureters, bladder, and urethra. MRSA is an emerging bacteria that can withstand the effects of antimicrobials; identified as the primary pathogen of nosocomial infection. Insertion of various types of catheters can increase the incidence of urinary tract infections caused by MRSA. One of the causative factors for Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) refers to *Staphylococcus aureus* capable of resisting registered antibiotics, such as methicillin, oxacillin, nafcillin, cephalosporins, imipenem, and other beta-lactam antibiotics. Detection by PCR and gel electrophoresis indicated that the identified *mecA* gene could also correspond to the corresponding marker. This study aimed to detect the *mecA* gene in MRSA (*Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*) from Urinary Tract Infection (UTI) patients. This study used descriptive research with an observational approach and 10 UTI patient urine samples were used. The method used PCR to detect the *mecA* gene in MRSA (*Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus*) from UTI patients. Based on the results of the study, out of 10 samples, 2 patients were positive for the *mecA* gene.

Keywords: “*MecA* gene; Urinary Tract Infection; MRSA”

ABSTRAK

Saluran kemih manusia adalah organ yang mengumpulkan dan menyimpan urin dan organ yang mengeluarkan urin dari tubuh adalah ginjal, ureter, kandung kemih dan uretra. MRSA merupakan bakteri yang muncul dan mampu bertahan terhadap efek antimikroba. Diidentifikasi sebagai patogen utama dari infeksi nosokomial. Pemasangan berbagai macam kateter dapat meningkatkan kejadian infeksi saluran kemih yang disebabkan oleh MRSA. Salah satu faktor penyebab *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) mengacu pada *Staphylococcus aureus* yang mampu melawan antibiotik yang terdaftar, seperti: methicillin, oxacillin, nafcillin, cephalosporins, imipenem, dan antibiotik beta laktamas lainnya. Deteksi dengan PCR dan elektroforesis gel menunjukkan bahwa gen *mecA* yang diidentifikasi dapat sesuai dengan penanda yang sesuai juga. Tujuan dari penelitian ini adalah Untuk mendeteksi gen *mecA* pada MRSA (*Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*) dari pasien Infeksi Saluran Kemih (ISK). Pada penelitian ini menggunakan jenis penelitian deskriptif dengan pendekatan observasional. Jumlah sampel yang digunakan sebanyak 10 sampel urin pasien ISK. Metode yang digunakan adalah metode PCR untuk mendeteksi gen *mecA* pada MRSA (*Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus*) dari pasien ISK. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan dari 10 sampel didapatkan 2 pasien positif adanya gen *mecA*.

Kata kunci : “Gen *mecA*, Infeksi Saluran Kemih, MRSA”

PENDAHULUAN

Infeksi saluran kemih adalah infeksi yang disebabkan oleh pertumbuhan mikroorganisme pada saluran kemih manusia. Saluran kemih manusia adalah organ yang mengumpulkan dan menyimpan urin dan organ yang mengeluarkan urin dari tubuh adalah ginjal, ureter, kandung kemih dan uretra (Sari et al., 2018). ISK (infeksi saluran kemih) salah satu jenis infeksi yang paling sering terjadi, infeksi ini terjadi di saluran ginjal (ureter), kandung kemih dan saluran kencing bagian luar (Uretra). Pada wanita lebih sering terserang ISK dikarenakan uretra wanita lebih pendek dibanding pria sehingga bakteri dapat dengan mudah mencapai uretra⁽¹⁾.

Menurut WHO Infeksi saluran kemih (ISK) adalah penyakit infeksi yang kedua tersering pada tubuh sesudah infeksi saluran pernafasan yaitu sekitar 8,3 juta kasus dilaporkan per tahun. Indonesia merupakan negara berpenduduk keempat terbesar dunia setelah Cina, India dan Amerika Serikat⁽²⁾.

Sementara itu Penduduk Indonesia yang menderita Infeksi Saluran Kemih diperkirakan sebanyak 222 juta jiwa. Infeksi saluran kemih di Indonesia dan prevalensinya masih cukup tinggi, Menurut perkiraan Departemen Kesehatan Republik Indonesia pada tahun 2009, jumlah penderita ISK di Indonesia adalah 90-100 kasus per 100.000 penduduk pertahun nya atau sekitar 180.000 kasus baru per tahun⁽²⁾

Berdasarkan data dari Dinas Kesehatan Provinsi Sulawesi Selatan pada Tahun 2008 angka kejadian Infeksi Saluran Kemih sekitar 1.264 kasus (Data Dinkes Sulsel). Menurut data terbaru yang didapatkan dari data Medical Record di RS. Bhayangkara Makassar Tahun 2012 berjumlah 1200 orang, dan tahun 2013 berjumlah 1297 orang. Kejadian ini menunjukkan adanya peningkatan.

Penyebab infeksi saluran kemih umumnya adalah bakteri yang berasal dari flora normal usus dan hidup di introitus vagina, preputium penis, kulit perineum, dan sekitar anus. Infeksi dapat juga disebabkan kontaminasi bakteri pada tangan petugas medis dan perlengkapan medis. Bakteri patogen dapat memasuki saluran kemih melalui jalur ekstrinsik di sepanjang permukaan luar

kateter dan melalui jalur enterik di sepanjang lumen bagian dalam kateter dari kantong penampung yang terkontaminasi. Kondisi menetapnya kateter urine yang terpasang di saluran kemih menjadi media bagi bakteri untuk kolonisasi (biofilm)⁽³⁾

Salah satu faktor penyebab *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) mengacu pada *Staphylococcus aureus* yang mampu melawan antibiotik yang terdaftar, seperti: methicillin, oxacillin, nafcillin, cephalosporins, imipenem, dan antibiotik beta laktam lainnya. MRSA relatif ada di mana-mana dan merupakan penyebab banyak infeksi masyarakat, Karakteristik unik lainnya dari MRSA adalah penyakit yang menyebabkan patogen dalam kondisi infeksi nosokomial dan juga infeksi masyarakat yang telah menunjukkan distribusi yang luas dalam 40 tahun terakhir sementara pengendaliannya menjadi tantangan global. Infeksi terkait MRSA ini menciptakan masalah serius dalam hal masalah kesehatan dan juga biaya sosial ekonomi dengan menyebabkan kematian dan morbiditas⁽⁴⁾.

MRSA merupakan bakteri yang muncul dan mampu bertahan terhadap efek antimikroba. Diidentifikasi sebagai patogen utama dari infeksi nosokomial. Pemasangan berbagai macam kateter dapat meningkatkan kejadian infeksi saluran kemih yang disebabkan oleh MRSA⁽⁴⁾.

Golongan MRSA dapat menginfeksi saluran kemih karena adanya penggunaan antibiotik yang tidak rasional misalnya, penggunaan antibiotik yang berlebihan, penggunaan untuk indikasi yang tidak jelas, penggunaan antibiotik dengan dosis yang tidak tepat, waktu dan lama pemberian antibiotik yang tidak sesuai. Sehingga memberikan dampak negatif yaitu timbul efek samping atau toksisitas, mempercepat terjadinya resistensi maka terjadilah resiko kegagalan terapi⁽⁵⁾.

Insiden infeksi saluran kemih meningkat karena pasien lebih sering dipasang berbagai kateter urin seiring dengan kemajuan teknologi. Pada infeksi saluran kemih yang rumit dan pasien rawat inap bakteri Gram positif seperti MRSA relatif lebih umum⁽⁴⁾.

Resistensi MRSA terhadap antibiotik beta-laktam disebabkan oleh beberapa mekanisme. Salah satunya adalah pembentukan abnormal dari pengikatan penisilin Protein yang membentuk dan melemahkan PBP2 Afinitas terhadap antibiotik b-laktam yang diekspresikan oleh gen *mecA* ⁽⁶⁾.

Dari kasus lain Menurut penelitian ⁽⁷⁾dimana peneliti melakukan deteksi MRSA pada pasien ulkus diabetikum berdasarkan hasil deteksi gen *mecA* pada isolat bakteri *Staphylococcus aureus* dari luka pasien ulkus diabetikum dimana hasil amplifikasi gen *mecA* menunjukkan terbentuknya pita DNA. Hal ini didapatkan bahwa pasien ulkus diabetikum mengalami resisten terhadap antibiotik golongan methicillin atau positif terinfeksi MRSA karena adanya gen *mecA* dimana gen ini sebagai pengkode resistensi antibiotik *Staphylococcus aureus*.

Deteksi dengan PCR dan elektroforesis gel menunjukkan bahwa gen *mecA* yang diidentifikasi dapat sesuai dengan penanda yang sesuai juga. Gen *mecA* ini terletak pada kromosom SCCmec *Staphylococcus aureus* dan gen ini mengkodekan transpeptidase spesifik yang membuat bakteri resisten terhadap penggunaan methicillin. Gen *mecA* menghasilkan protein pengikat penisilin (PBP) 2A Berdasarkan hal tersebut, resistensi bakteri MRSA dipengaruhi oleh gen *mecA* yang menghasilkan bakteri resisten, dan golongan antibiotik pada golongan b-laktam merupakan golongan yang secara spesifik dihambat oleh gen *mecA* ⁽⁸⁾.

Tujuan penelitian ini yaitu untuk melakukan Deteksi Gen *mecA* pada *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dari pasien Infeksi Saluran Kemih (IS

METODE

Jenis penelitian ini merupakan penelitian observasional laboratorik. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah urine pasien infeksi saluran kemih yang dirawat inap di RSUD H.Padjonga Daeng Ngalle Kab.Takalar yang memenuhi kriteria tertentu. Teknik pengambilan sampel pada penelitian ini, yaitu menggunakan teknik purposive sampling.

Tahapan penelitian meliputi pengambilan sampel urine pasien infeksi saluran kemih yang memenuhi kriteria inklusi. Selanjutnya dilakukan ekstraksi DNA, Amplifikasi PCR dan Elektroforesis.

Proses Ekstraksi dimulai dari sampel Urine dimasukkan ke dalam tabung tube sebanyak 200 ul dan dicampur dengan 20ul proteinase-k diinkubasi 60°C selama 5 menit. Kemudian ditambahkan GSB buffer 200ul lalu diinkubasi lagi 5 menit dengan suhu 60°C, Selanjutnya dimasukkan 200ul etanol absolute kemudian di vortex. Setelah itu dipindahkan kedalam spin column sebanyak 650 ul, disentrifuge dengan kecepatan 10.000 rpm selama 1 menit, dibuang cairan pada tabung penampung. Hasil saringan DNA pada spin column di tambahkan 400 ul buffer washing 1 (W1), lalu di sentrifuge dengan kecepatan 10.000 rpm selama 1 menit, cairan pada penampungan dibuang kemudian tambahkan 600ul wash buffer dan etanol. Centrifuge kecepatan 10.000 rpm selama 1 menit dan dibuang lagi cairan pada penampungan. Disentrifuge kosong dengan kecepatan 13.000 rpm selama 3 menit, dipindahkan spin colum ke dalam tabung microcentrifuge atau tube kemudian ditambahkan buffer elution sebanyak 50 µl dan di sentrifuge dengan kecepatan 13.000 rpm selama 1 menit lalu di buang spin column dan DNA murni diberi label pada Tube/tabung microcentrifuge.

Dilakukan Amplifikasi hasil ekstraksi dengan membuat PCR mix dengan mencampurkan dream taq PCR mix 7 µl, 0,5 konsentrasi *mecA* reverse [5'CCACTTCATATCTTGTAACG-3'] dan *mecA* forward [5'-TCCAGATTACAACCTCACCAGG-3'] dan nuclease free water lalu dihomogenkan di atas spin down, kemudian dipetik PCR mix ke dalam tabung sebanyak 10µl lalu tambahkan masing-masing sampel DNA ke dalam tabung sebanyak 5µl, lalu 1 tabung PCR yang berisi PCR mix ditambahkan kontrol positif *mecA* dan 1 tabung untuk kontrol negatif. Setelah itu diproses dalam mesin PCR, Kondisi PCR yang digunakan sebagai berikut : pra denaturasi dalam suhu 94°C selama 5 menit,

Denaturasi 95°C selama 30 detik, Annealing 59°C selama 30 detik, Extension 72°C selama 1 menit, kemudian diikuti post extension terakhir 72°C selama 5 menit dengan 34 siklus.

Ditimbang bubuk agarose sebanyak 1 gram lalu dilarutkan dalam 100 ml TBE buffer, kemudian dihomogenkan dan dipanaskan menggunakan hot plate sehingga larut pada suhu 260°C selama 2 menit lalu dipasangkan sisir elektroforesis pada cetakkan dengan posisi hampir menyentuh dasar, jika suhu gel agarose sudah sekitar 50°C -60°C ditambahkan ethidium bromida sebanyak 5µl lalu larutkan. Tuang gel agarose kedalam cetakkan gel yang sudah dipasangkan sisiran, jika agarose sudah mengeras dilepas sisiran lalu dipindahkan ke dalam chamber. Setelah itu masukkan larutan buffer 0,5 X TBE kedalam chamber sampai gel terendam, kemudian dimasukkan masing-masing hasil PCR sebanyak 10µl masukkan tiap well setelah semua hasil PCR dimasukkan ke dalam well, selanjutnya dimasukkan 5µl marker. Chamber ditutup sesuai dengan kutub negatif dan positif elektroforesis dilakukan pada kondisi 50 volt selama 50 menit lalu di running, kemudian gel agarose dimasukkan kedalam UV reader/gel documentation untuk melihat pola pita DNA yang tervisualisasi.

HASIL

Pada penelitian ini didapatkan sampel dari usia 5-9 tahun sebanyak 2 (20%) pasien, 19-14 tahun sebanyak 6 (60%) pasien, 30 tahun sebanyak 2 (20%). Kemudian lamanya pasien terinfeksi < 1 minggu sebanyak 4 (40%) pasien, sedangkan > 1 minggu sebanyak 6 (60%). Jenis antibiotik yang digunakan oleh pasien terdiri dari antibiotik sefalosporin yang merupakan antibiotik yang diberikan melalui intravena sebanyak 10 (100%), sedangkan jenis antibiotik yang berbentuk tablet adalah ciprofloxacin sebanyak 10 (100%).

Tabel 1. Data Pasien Berdasarkan Karakteristik Umum.

Karakteristik Sampel	Jumlah	Presentase
Jenis kelamin		
Perempuan	7	70 %
Laki-laki	3	30 %
Usia		
5-9	2	20 %

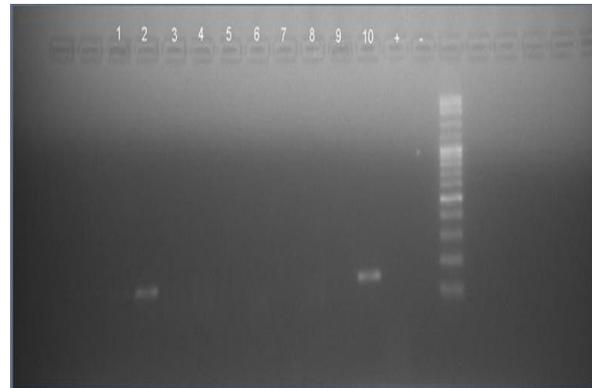
19-24	6	60 %
30	2	20 %
Lama infeksi		
< 1 minggu	4	40 %
> 1 minggu	6	60 %
Jenis antibiotik		
Cefalosporin	10	100%
Ciprofloxacin	10	100%

Tabel 1 menunjukkan bahwa 10 pasien penelitian, terdiri dari 3 pasien berjenis kelamin laki-laki dan 7 pasien berjenis kelamin perempuan, dan pasien terdiri dari anak-anak dari umur 5 tahun sampai dengan orang dewasa umur 30 tahun, lama terinfeksi kurang lebih 1 minggu, dengan pengobatan antibiotik cefalosporin yang diberikan melalui intravena, sedangkan antibiotik ciprofloxacin berbentuk tabel.

Tabel 1 Hasil Amplifikasi DNA dengan Metode PCR

Kode Sampel	Hasil Visualisasi	Hasil
U1	Tidak terdapat band 162 bp	Negatif (-)
U2	Terdapat band 162 bp	Positif (+)
U3	Tidak terdapat band 162 bp	Negatif (-)
U4	Tidak terdapat band 162 bp	Negatif (-)
U5	Tidak terdapat band 162 bp	Negatif (-)
U6	Tidak terdapat band 162 bp	Negatif (-)
U7	Tidak terdapat band 162 bp	Negatif (-)
U8	Tidak terdapat band 162 bp	Negatif (-)
U9	Tidak terdapat band 162 bp	Negatif (-)
U10	Terdapat band 162 bp	Positif (+)

Pada tabel 2 menunjukkan hasil amplifikasi DNA menggunakan metode PCR didapatkan 2 sampel menunjukkan hasil positif yaitu pada sampel U2 dan U10. Dimana pada sampel U2 merupakan pasien berumur 5 Tahun dan U10 merupakan pasien berumur 21 tahun.



Gambar 1. Hasil Pembacaan *Gel Doc* pada 162 bp

Dapat dilihat pada gambar 5. Dari 10 sampel yang di amplifikasi menggunakan primer *mecA* reverse [5'CCACTTCATATCTTGTAACG-3'] dan *mecA* forward [5'-TCCAGATTACAACCTCACCAGG-3'] hanya 2 sampel yang berhasil di amplifikasi ditandai dengan munculnya pita DNA. Semakin tebal DNA maka semakin tinggi juga konsentrasi DNANYa

PEMBAHASAN

Infeksi saluran kemih (ISK) adalah jenis infeksi nosokomial yang paling umum yang menyebabkan sekitar 40% dari semua infeksi per tahun. Selain itu, beberapa penelitian telah melaporkan bahwa sekitar 80% infeksi saluran kemih nosokomial diproduksi. Beberapa penelitian telah menunjukkan adanya faktor yang dapat menyebabkan infeksi saluran kemih, seperti usia, jenis kelamin, waktu yang lama penggunaan obat – obatan, kebiasaan menahan urin, kebersihan genital dan faktor predisposisi.

MRSA merupakan masalah kesehatan masyarakat global dan infeksi MRSA dapat ditemukan baik di rumah sakit maupun di masyarakat. MRSA dikenal sebagai bakteri patogen penting yang dapat menyebabkan infeksi saluran kemih yang didapat di masyarakat dan rumah sakit dengan angka morbiditas dan mortalitas yang tinggi meskipun telah menggunakan antibiotik ⁽⁴⁾.

Berdasarkan hasil keseluruhan pada karakteristik umur penelitian ini, sampel yang

digunakan sebanyak 10 sampel urine pasien infeksi saluran kemih pasien berusia dari 5 tahun sampai 30 tahun. Infeksi saluran kemih bisa terjadi pada anak-anak maupun orang dewasa dalam penelitian (9) menyatakan sebagian besar infeksi saluran kemih pada anak perempuan mencapai 0,8% sedangkan pada anak laki-laki hanya 0,2% dan akan terus meningkat hingga usia sekolah dimana kejadian infeksi saluran kemih pada anak perempuan 30 kali lebih besar dari anak laki-laki.

Adapun 8 sampel yang tidak tervisualisasi keberadaan gen dapat disebabkan karena beberapa faktor seperti sumber spesimen, waktu pengambilan sampel, prosedur operasional dan kualitas reagensia (10). Hasil negatif dapat diaktifkan dengan beberapa hal, serta tahap ekstraksi genetik yang tidak tepat memiliki potensi untuk membawa kontaminan ke proses PCR. Antibodi, enzim, dan hormon, serta golongan non-protein, seperti karbohidrat, lipid dan metabolit, adalah kontaminan yang berpotensi diangkut selama proses PCR sehingga dapat mengganggu pekerjaan enzim polimerase dalam dua cara yaitu menghambat secara total kerja enzim sehingga tidak ada produk PCR yang dihasilkan atau menurunkan spesifitas enzim dalam mengenali gen targetnya sehingga didapatkan produk PCR yang tidak spesifik selain kontaminasi material genetika yang sudah terdegradasi bisa menurunkan derajat sensitivitas deteksi dikarenakan tidak optimumnya penempelan primer pada gen sasaran yang berdampak pada tidak bekerjanya enzim taq polymerase⁽¹¹⁾.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat disimpulkan bahwa hasil penelitian deteksi gen *mecA* pada *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dari pasien infeksi saluran kemih (ISK) dari 10 sampel didapatkan hasil positif MRSA pada 2 sampel.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kausuhe J, Pangemanan DHC, Onibala F, Studi P, Keperawatan I, Kedokteran F, et al. Hubungan Pemasangan Kateter Urine dengan Kejadian. 2017;5(November).
2. Darsono PV, Mahdiyah D, Sari M. Gambaran Karakteristik Ibu Hamil yang Mengalami Infeksi Saluran Kemih (ISK) di Wilayah Kerja Puskesmas Pekauman

3. Banjarmasin. Din Kesehatan J Kebidanan dan Keperawatan. 2016;1(1):162–70.
3. Afrilina I, Erly E, Almurdi A. Identifikasi Mikroorganisme Penyebab Infeksi Saluran Kemih pada Pasien Pengguna Kateter Urine di ICU RSUP Dr. M. Djamil Padang Periode 01 Agustus-30 November 2014. J Kesehatan Andalas. 2017;6(1):196.
4. Mitiku A, Aklilu A, Biresaw G, Gize A. Prevalence and associated factors of methicillin resistance staphylococcus aureus (Mrsa) among urinary tract infection suspected patients attending at arba minch general hospital, southern ethiopia. Infect Drug Resist. 2021;14:2133–42.
5. Pratiwi DS, Kedokteran F, Ilmu DAN, Farmasi PS. No Title. 2013;
6. Ramandinianto SC, Khairullah AR, Effendi MH. Mec A gene and methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) isolated from dairy farms in East Java , Indonesia. 2020;21(8):3562–8.
7. Sugireng, Rosdarni. Deteksi MRSA (Methicilin Resistant Staphylococcus aureus) dengan Metode PCR Pada Pasien Ulkus Diabetikum. Jur Biol Fak Sains dan Teknol UIN Alauddin Makassar. 2020;(September):31–5.
8. Melisa I. Farmaka Article Review : Gen mecA Sebagai Faktor Munculnya Methicilin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) Farmaka. 4:1–12.
9. Umboh A. Hubungan sirkumsis dengan infeksi saluran kemih pada anak sekolah dasar.
10. Destri C, Wijayanti W, Wijaya H. Evaluasi Penyebab hasil Invalid pada pemeriksaan RT-PCR Pasien Covis-19. 2022;6(1):1–7.