



Aktivitas Hemaglutinasi *Staphylococcus aureus* Methicillin resistant Terhadap Sel Darah Merah Manusia, Domba dan Mencit

Anita¹, Sri Darmawati², Budi Santosa³

¹Program Studi DIV Analisis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan

²Laboratorium Bakteriologi Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan

³Laboratorium Imunologi Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan

Universitas Muhammadiyah Semarang

²anita00anita0@gmail.com

Abstrak

Staphylococcus aureus Resisten Metisilin (MRSA) merupakan bakteri yang mengalami kekebalan atau resisten terhadap antibiotik jenis metisilin dan merupakan penyebab utama infeksi nosokomial yang terus meningkat dari tahun ke tahun. Patogenesis bakteri tersebut, langkah awal patogen dalam menimbulkan penyakit adalah melakukan adhesi pada sel hospes melalui molekul adhesin. Molekul adhesin identik dengan protein hemaglutinin. Tujuan penelitian ini untuk menganalisis perbedaan aktivitas hemaglutinasi *Staphylococcus aureus* metisilin resistant dalam mengaglutinasikan sel darah merah manusia berdasarkan tipe golongan darah A, B, AB, O, eritrosit domba, dan eritrosit mencit. Metode yang digunakan adalah hemaglutinasi dengan titer 1:2 sampai dengan 1:2048. Hasil uji hemaglutinasi terhadap golongan darah ABO menunjukkan bahwa MRSA mampu mengaglutinasikan sel darah manusia golongan darah A titer 16 HA, sel darah merah manusia golongan darah B titer 64 HA, golongan darah AB titer 1024 HA, golongan darah O titer 4 HA, sedangkan sel darah merah domba titer 16 HA, dan sel darah merah mencit titer 2048 HA, dengan masing-masing menggunakan konsentrasi MRSA 100% sebanyak 50 µL.

Kata kunci: MRSA, Hemaglutinasi, Sel darah merah manusia golongan darah ABO, Domba, Mencit

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan jenis penyakit yang banyak diderita oleh penduduk di negara berkembang, termasuk Indonesia. Penyebab penyakit infeksi yaitu bakteri. Infeksi bakteri didapatkan dari komunitas maupun nosokomial (Gibson, 1996). Infeksi nosokomial menjadi ancaman besar terhadap kesehatan karena saat ini banyak ditemukan bakteri yang resisten terhadap berbagai jenis antibiotik. Salah satu bakteri yang sering menyebabkan terjadinya infeksi nosokomial di rumah sakit yaitu *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) sebesar 21,7%. *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) adalah bakteri gram positif, berbentuk sel bulat, berdiameter 0,7-1,2µm, tersusun dalam rangkaian tak beraturan seperti anggur, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora dan bergerak. Koloni pada pembenihan padat berwarna putih sampai kuning tua berbentuk bundar, halus, menonjol, dan berkilau. (Jawetz, *et al.*, 2008). Pada saat ini sekitar 40% bakteri *S. aureus* yang dapat diisolasi di rumah sakit, diketahui resisten terhadap beberapa jenis antibiotik turunan β-laktam yang disebut *Staphylococcus aureus* Resisten Metisilin (MRSA) (Aguilar, *et al.*, 2003). Bakteri MRSA adalah bakteri *S. aureus* yang mengalami kekebalan terhadap antibiotik jenis metisilin. Metisilin merupakan *penicillinase-resistant semisynthetic penicillin*, pertama kali diperkenalkan pada tahun 1959. Metisilin digunakan untuk mengatasi infeksi yang disebabkan oleh *S. aureus* resisten terhadap penisilin. Namun, di Inggris pada tahun 1961 telah dilaporkan adanya isolat *S. aureus* yang resisten terhadap Metisilin. Kemudian infeksi MRSA secara cepat menyebar di seluruh negara-negara Eropa, Jepang, Australia, Amerika Serikat, dan seluruh dunia selama berpuluh-puluh tahun serta menjadi infeksi yang *multidrug-resistant* (Biantoro, 2008).

Staphylococcus aureus dapat dibedakan berdasarkan virulensinya menjadi beberapa tipe dan virulensinya ditentukan oleh substansi yang diproduksi oleh bakteri tersebut seperti hemolisin, koagulase plasma dan enterotoksin (Tabbu, 2000). Berbagai infeksi yang disebabkan oleh *S. aureus* dimediasi oleh faktor virulen dan respon imun sel inang. Secara umum bakteri menempel ke jaringan sel inang kemudian berkoloni dan menginfeksi. Kemampuannya untuk menginfeksi sel inang virulensi bakteri dan faktor penentu virulensinya tersebut yang terdapat pada permukaan sel bakteri,



seperti sifat hidrofobitas, substansi hemaglutinin, keberadaan kapsul dan fimbria. Gottschalk pada tahun 1990 melaporkan bahwa strain bakteri *Staphylococcus* yang dapat mengaglutinasi eritrosit pasti memiliki fimbria pada permukaan selnya. Fimbria pada permukaan sel bakteri sering disebut sebagai hidrofobin yang bertanggung jawab terhadap intraksi bakteri dengan eritrosit.

Bakteri memiliki protein hemaglutinin fimbria yang mampu mengaglutinasi eritrosit mencit, marmut dan sel darah merah manusia. Dari beberapa strain tertentu mempunyai kemampuan mengaglutinasi sel darah mamalia, yaitu sapi, kuda, domba dan babi, hal itu terjadi karena perlekatan bakteri diperantai oleh reseptor sel inang yang tersusun residu karbohidrat glikoprotein atau glikolipid (Luturmas, 2010).

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan dengan 5 tahap, yaitu : kultivasi bakteri dengan media BHI cair, uji sensitivitas, isolasi *S. aureus*, pencucian eritrosit dan uji hemaglutinasi.

Kultivasi Bakteri

Kultivasi bakteri menggunakan media BHI cair. Satu koloni pada media BAP ditanam pada 10 mL BHI cair, kemudian diinkubasi ke dalam media HIA lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam sehingga didapat strain *S. aureus*.

Uji Sensitivitas

S. aureus disuspensikan dalam 3 mL larutan NaCl fisiologis, lalu dibandingkan kekeruhannya dengan standar McFarland 0,5. Suspensi biakan murni diambil 100 µL dan disebarkan ke permukaan Mueller Hinton Agar (MHA) dalam cawan petri. Medium uji tersebut didiamkan pada suhu kamar selama 5 menit untuk adaptasi bakteri dalam medium. Setelah itu pada medium diletakkan disk antibiotik uji metisilin, vankomisin, ciprofloksasin. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Zona hambat yang terbentuk disekitar koloni diukur dengan menggunakan cangkang sorong. Data zona bening dibandingkan dengan data pada pustaka Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).

Isolasi *S. aureus*

Kultur bakteri dimasukkan ke dalam tabung konikal sebanyak 10 mL, kemudian disentrifugasi 3000 rpm pada suhu 4°C selama 20 menit. Setelah itu supernatan dibuang, pellet ditambahkan dengan 5 mL PBS 1x pH 7,4 kemudian disuspensikan. Lalu suspensi disentrifugasi 3000 rpm pada suhu 4°C selama 20 menit, supernatan adalah isolasi *S. aureus* 100%.

Pencucian Sel Darah Merah Manusia, Domba dan Mencit

Siapkan 0,5 mL darah, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Setelah itu disentrifugasi 3000 rpm selama 5 menit. Buang supernatan, pellet ditambahkan dengan PBS 1x pH 7,4 sampai 3/4 tabung lalu suspensi disentrifugasi 3000 rpm selama 5 menit. Lakukan pencucian sebanyak 3 kali, pada pencucian terakhir buang supernatan dan sisakan pellet sehingga sedimen yang didapatkan merupakan sel eritrosit 100%.

Uji Hemaglutinasi

Sedimen eritrosit manusia golongan darah A, B, AB, O, eritrosit domba dan eritrosit mencit diencerkan dengan PBS 1x pH 7,4 sehingga didapatkan konsentrasi eritrosit 1%. Sumuran pertama pada mikrotiter diisi dengan 50 µL PBS pH 7,4 sehingga konsentrasi menjadi 1:2. Sumuran ke-2 sampai sumuran ke-11 dilakukan pengenceran serial dengan menambahkan 50 µL MRSA kemudian dihomogenkan. Setelah itu, 50 µL eritrosit manusia golongan darah A dengan konsentrasi 1% ditambahkan pada sumuran ke-1 sampai sumuran ke-11 sebagai sampel dan sumuran ke-12 sebagai kontrol negatif. Selanjutnya mikrotiter digoyangkan perlahan dengan shaker selama 5 menit, kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 1 jam dan amati terjadinya hemaglutinasi. Prosedur yang sama dilakukan untuk uji hemaglutinasi menggunakan golongan darah B, AB, O, eritrosit domba dan eritrosit mencit.

HASIL DAN PEMBAHASAN

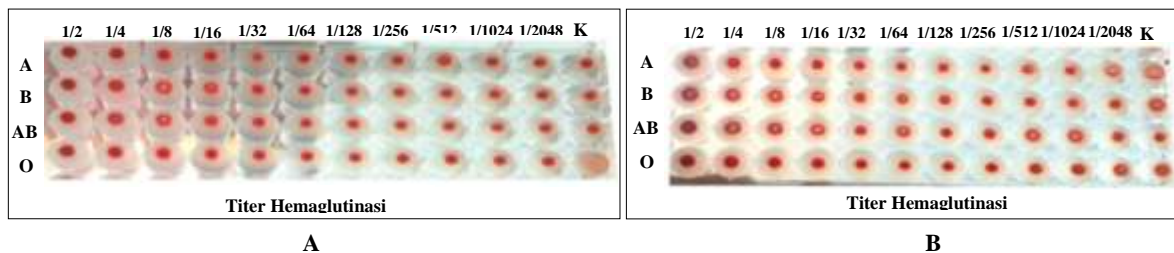
Hasil

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari isolat MRSA. Metode yang digunakan adalah hemaglutinasi dengan pembacaan titer $\frac{1}{2}$ sampai dengan titer $\frac{1}{2048}$. Uji hemaglutinasi terhadap sel darah merah manusia golongan darah A, B, AB, O, domba dan mencit (1%) oleh isolat MRSA sebanyak 50 μ L.

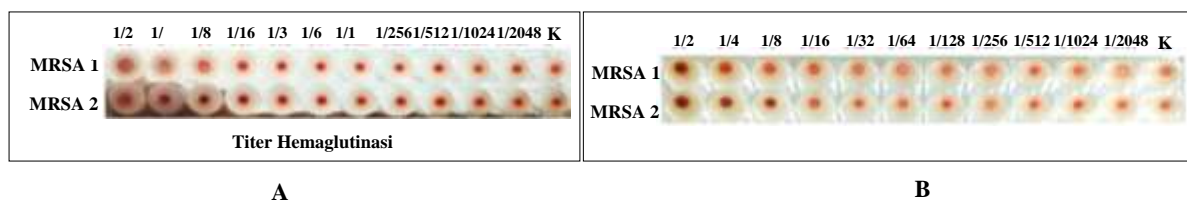
Tabel 1: Hasil Uji Hemaglutinasi

	Aktivitas Hemaglutinasi (HA)					
	Darah Manusia				Darah Domba	Darah Mencit
	A	BAB	O			
MRSA 1	6 HA		16 HA		16 HA	2048 HA
MRSA 2	4 HA	64 HA	1024 HA	4 HA	2 HA	256 HA

Hasil uji hemaglutinasi menunjukkan bahwa MRSA mampu mengaglutinasikan sel darah merah manusia golongan darah A sampai dengan pengenceran 4 kali (titer $\frac{1}{4}$), golongan darah B pengenceran 16 kali (titer $\frac{1}{16}$) sampai dengan pengenceran 64 kali (titer $\frac{1}{64}$), golongan darah AB pengenceran 16 kali (titer $\frac{1}{16}$) sampai dengan pengenceran 1024 kali (titer $\frac{1}{1024}$), golongan darah O sampai dengan pengenceran 4 kali (titer $\frac{1}{4}$) yang ditunjukkan pada gambar 1 Tabel 1, serta mampu mengaglutinasikan sel darah merah domba pengenceran 2 kali (titer $\frac{1}{2}$) sampai dengan 16 kali (titer $\frac{1}{16}$), dan pada sel darah merah mencit pengenceran 256 kali (titer $\frac{1}{256}$) sampai dengan pengenceran 2048 kali (titer $\frac{1}{2048}$). Yang ditunjukkan pada gambar 2 pada Tabel 1.



Gambar 1. Uji hemaglutinasi sel darah merah manusia golongan darah A, B, AB dan O terhadap MRSA 1 (A) dan MRSA 2 (B)



Gambar 2. Uji hemaglutinasi sel darah merah domba (A) dan sel darah merah mencit (B)

Pembahasan

Hemaglutinasi adalah aglutinasi atau penggumpalan sel darah merah yang disebabkan oleh antibodi terhadap antigen pada permukaan sel darah merah. Beberapa virus tertentu mempunyai kemampuan untuk berikatan dengan permukaan sel darah merah dari spesies berbeda sehingga terjadi aglutinasi (Nagayama et al., 1995). Selain itu bakteri patogen dapat berikatan dengan reseptor pada permukaan eritrosit sehingga dapat terjadi reaksi hemaglutinasi, terdapat anggapan bahwa bakteri yang mampu mengaglutinasi sel darah merah memiliki kemampuan melakukan adhesi pada sel mukosa hospes karena reseptor pada membran eritrosit diyakini memiliki kemiripan dengan reseptor pada sel mukosa hospes (Alam et al., 1997). Penggolongan darah yang sering digunakan adalah sistem ABO dimana pengklasifikasian darah didasarkan pada kehadiran atau ketidakhadiran dari substansi yang menempel pada permukaan sel darah merah, yang dapat berupa protein, karbohidrat, glikoprotein (LIPI, 2009).



Penggumpalan juga disebabkan oleh adanya ikatan terhadap karbohidrat dalam darah, golongan darah A terdapat karbohidrat N-asetil-D-Galaktosamine, golongan darah B terdapat D-gaaktosa, golongan darah O terdapat L-fucose.

Berdasarkan Tabel 1. dapat diketahui bahwa bakteri MRSA 1 tidak mampu mengaglutinasi eritrosit manusia golongan darah A, sedangkan pada MRSA 2 mampu mengaglutinasi eritrosit manusia golongan darah A sampai dengan pengenceran 4 kali (titer $\frac{1}{4}$). Hal ini terjadi karena ketidak mampuan dari MRSA 1 untuk mengenali reseptor yang terdapat pada permukaan eritrosit golongan darah A, tetapi pada MRSA 2 mampu untuk mengenali reseptor pada permukaan eritrosit.

Bakteri MRSA 1 dan MRSA 2 mampu mengaglutinasi eritrosit manusia golongan darah B dengan masing – masing pengenceran 16 kali (titer $\frac{1}{16}$) sampai dengan 64 kali (titer $\frac{1}{64}$), sedangkan pada golongan darah AB pengenceran titer 16 kali (titer $\frac{1}{16}$) sampai dengan pengenceran 1024 kali (titer $\frac{1}{1024}$) Hal tersebut terjadi karena kemampuan dari MRSA untuk mengenali reseptor yang terdapat pada permukaan eritrosit golongan darah B dan AB sehingga terjadi reaksi aglutinasi.

MRSA 1 tidak mampu mengaglutinasi eritrosit golongan darah O, tetapi pada MRSA 2 mampu mengaglutinasi eritrosit manusia golongan darah O pengenceran 4 kali (titer $\frac{1}{4}$). Hal tersebut terjadi karena ketidak mampuan dari MRSA 1 untuk mengenali reseptor yang terdapat pada permukaan eritrosit golongan darah O, tetapi pada MRSA 2 mampu untuk mengenali reseptor yang terdapat pada permukaan eritrosit golongan darah O.

Pada MRSA 1 dan MRSA 2 mampu mengaglutinasi sel darah merah domba dengan masing-masing pengenceran 2 kali (titer $\frac{1}{2}$) sampai dengan 16 kali (titer $\frac{1}{16}$) sedangkan pada MRSA 1 dan MRSA 2 mampu mengaglutinasi eritrosit mencit dengan pengenceran 256 kali (titer $\frac{1}{256}$) sampai dengan pengenceran 2048 kali (titer $\frac{1}{2048}$). Hal ini terjadi ketika larutan bakteri tersuspensikan dengan suspensi bakteri, ditandai dengan adanya agregat yang menyerupai pasir. Sehingga kemampuan dari MRSA untuk mengenali reseptor yang terdapat pada permukaan eritrosit domba dan mencit. Perbedaan hasil titer aglutinasi MRSA antara sel darah merah manusia golongan darah A, B, AB, O, sel darah merah domba, dan sel darah merah mencit disebabkan oleh perbedaan kemampuannya untuk dapat mengenali reseptor yang dimiliki oleh permukaan eritrosit, sehingga mengakibatkan perbedaan kemampuan hemaglutinin untuk mengaglutinasi eritrosit. Hal ini terjadi karena MRSA lebih mengenali reseptor pada permukaan eritrosit manusia, eritrosit domba dan eritrosit mencit.

Semakin tinggi titer hemaglutinasi yang ditunjukkan maka semakin tinggi patogenitas bakteri MRSA dalam menginfeksi sel host. Dalam hal ini dapat dijadikan sebagai kandidat vaksin karena target utama dari hemaglutinin adalah merangsang terbentuknya antibodi pada sel hospes.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

1. Aktivitas hemaglutinasi MRSA 1 terhadap sel darah merah manusia tidak mampu mengaglutinasi eritrosit golongan darah A, tetapi mampu mengaglutinasi golongan darah B dan AB sampai titer 16 HA dan tidak mampu mengaglutinasi golongan darah O. Sedangkan pada MRSA 2 mampu mengaglutinasi sel darah merah manusia golongan darah A titer 4 HA, golongan darah B titer 16 HA dan AB titer 1024 HA dan golongan darah O titer 4 HA.
2. Aktivitas hemaglutinasi MRSA 1 terhadap sel darah merah domba mampu mengaglutinasi eritrosit domba titer 16 HA dan MRSA 2 titer 2 HA.
3. Aktivitas hemaglutinasi MRSA 1 terhadap sel darah merah mencit mampu mengaglutinasi eritrosit titer 2048 HA dan MRSA 2 titer 256 HA.
4. Hasil aktivitas hemaglutinasi MRSA terhadap sel darah merah manusia golongan darah A, B, AB, O, eritrosit domba dan eritrosit mencit menunjukkan bahwa adanya perbedaan kemampuan MRSA untuk mengaglutinasi sel darah merah. Semakin tinggi titer yang ditunjukkan dalam mengaglutinasi sel darah merah akan meningkatkan kemampuan MRSA dalam mengenali reseptor pada permukaan eritrosit. Hasil uji hemaglutinasi positif menunjukkan bahwa MRSA, mampu mengaglutinasi eritrosit manusia golongan darah A, B, AB dan O, sel darah merah domba dan sel darah merah mencit.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Aguilar., *et al.* 2003. *Clindamycin treatment of invasive infections caused by community-acquired, methicillin-resistant and methicillin-susceptible Staphylococcus aureus in children. Pediatr Infect Dis J*, 2003;22:593–8.
- Biantoro, I. K Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). Universitas Gajah Mada Yogyakarta, 2008.
- Gibson, J. M., 1996. *Mikrobiologi dan Patologi Modern untuk Perawat*. Jakarta: EGC.
- Jawetz, Melnick; dan Adelberg's. 2008. *Mikrobiologi Kedokteran*. Salemba Medika.
- Laturmas, A dkk. 2010. *Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Vibrio alginolitycus Pdalkan Kerapu Tikus (Cromileptes altivelis) Sebagai Faktor Virulensi Bakteri Patogen*. Program Studi Budidaya Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Patimura.
- Negayama, K., Oguchi, T., Arit, M., Honda, T., 1995. Purification and Characterization of a Cell-Associated Hemagglutinin of *Vibrio parahaemolyticus.*, 63 (5), pp.1987-1992. Available at:<http://iai.asm.org>. [Diakses 5 Februari 1995].
- Tabbu, 2000. *Penyakit ayam dan Penanggulangannya*. Yogyakarta.
- Santoso, S. 2002. *Protein Adhesin Salmonella typhi Sebagai Faktor Virulensi Perpotensi Immunogenik Terhadap Produksi S-IgA Protektif*, (Disertai) Surabaya: Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga.