

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat berdiameter 0,7-1,2µm, tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak. Bakteri ini tumbuh pada suhu optimum 37 °C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25 °C). Koloni pada perbenihan padat berwarna abu-abu sampai kuning keemasan, berbentuk bundar, halus, menonjol, dan berkilau. 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. (Todar 2008)

a. Klasifikasi

Kingdom : *Eubacteria*

Divisi : *Firmicutes*

Domain : *Bacteria*

Class : *Bacilli*

Order : *Bacillales*

Family : *Staphylococcus*

Genus : *Staphylococcus*

Species : *S.aureus*

b. Patogenitas

S. 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* 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 koagulase, dan mampu meragikan manitol.

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. *S. aureus* juga merupakan penyebab utama infeksi nosokomial, keracunan makanan, dan sindroma syok toksik (Rosalina et al. 1990)

c. Struktur Antigen

Protein A adalah komponen dinding sel pada banyak *Staphylococcus aureus* yang berikatan dengan berbagai Fc dari molekul IgG kecuali IgG3. Bagian Fab dari IgG yang terikat dengan protein A bebas berikatan dengan antigen spesifik. Protein A menjadi reagen yang penting dalam imunologi dan teknologi laboratorium diagnostik.

Beberapa strain *S. aureus* memiliki kapsul, yang menghambat fagositosis oleh leukosit polimorfonuklear kecuali terdapat antibodi spesifik. Sebagian besar strain *S. aureus* mempunyai koagulase atau faktor penggumpal, pada permukaan dinding sel terjadi koagulase dengan fibrinogen secara nonenzimatik, sehingga menyebabkan agregasi bakteri

d. Faktor Virulensi

S. 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

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 (Ii 2005)

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 *Staphylococcus* 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 *Staphylococcus* patogen tidak dapat mematikan sel-sel darah putih manusia dan dapat difagositosis.

e. Enterotoksin

Enterotoksin adalah enzim yang tahan panas dan tahan terhadap suasana basa di dalam usus. Enzim ini merupakan penyebab utama dalam keracunan makanan (Ii 2005)

2.2 Uji Sensitifitas

Tes sensitivitas dilakukan untuk menentukan sensitivitas bakteri yang diisolasi terhadap agen terapeutik. Resistensi terhadap antibiotik dapat terjadi secara alami atau didapat, dimana kesalahan dalam penggunaan antibiotik yang menyebabkan populasi terendah terhadap organism yang mempunyai gen untuk meningkatkan resistensi. Sensitivitas bakteri yang diisolasi terhadap antibiotik tertentu diukur berdasarkan Minimum Inhibitory Concentration (MIC), yang merupakan konsentrasi antibiotik terendah untuk tidak terlihatnya pertumbuhan bakteri setelah inkubasi (Ridho et al. 2012)

2.3 Metode Uji Sensitifitas

a. Dilusi

Metode yang dipakai ada dua macam, yaitu metode dilusi kaldu disebut juga dengan dilusi cair dan metode agar atau dilusi padat. Pada dilusi cair, masing-masing konsentrasi obat ditambah suspensi kuman atau bakteri dalam media, sedangkan dalam dilusi padat, tiap konsentrasi obat dicampur dengan media agar, lalu ditanami bakteri. Pertumbuhan bakteri ditandai oleh adanya kekeruhan setelah 16-20 jam diinkubasi. Konsentrasi terendah yang menghambat pertumbuhan bakteri ditunjukkan dengan tidak adanya kekeruhan, dan disebut dengan Konsentrasi Hambat Minimal (KHM). Masing-masing konsentrasi antibiotik yang

menunjukkan hambatan pertumbuhan ditanam pada agar padat media pertumbuhan bakteri dan diinkubasi. Konsentrasi terendah dari antibiotik yang membunuh 99,9% inokulum bakteri disebut Konsentrasi Bakterisid Minimal (Umiana, 2015).

b. Difusi

Media difusi menggunakan kertas disk yang berisi antibiotik dan telah diketahui konsentrasinya (Umiana, 2015).

Pada metode difusi, media yang dipakai adalah agar Mueller Hinton. Ada beberapa cara pada metode difusi ini, yaitu:

1. Cara Kirby-Bauer

Cara Kirby-Bauer merupakan suatu metode uji sensitivitas bakteri yang dilakukan dengan membuat suspensi bakteri pada media Brain Heart Infusion (BHI) cair dari koloni pertumbuhan kuman 24 jam, selanjutnya disuspensikan dalam 0,5 ml BHI cair (diinkubasi 4-8 jam pada suhu 37°C). Hasil inkubasi bakteri diencerkan sampai sesuai dengan standar konsentrasi kuman 10^8 CFU/ml (CFU: Coloni Forming Unit). Suspensi bakteri diuji sensitivitas dengan meratakan suspensi bakteri tersebut pada permukaan media agar. Disk antibiotik diletakkan di atas media tersebut dan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 19-24 jam. Dibaca hasilnya:

a) Zona radical

Suatu daerah disekitar disk yang dimana sama sekali tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri. Potensi antibiotik diukur dengan mengukur diameter dari zona radical.

b) Zona inradical

Suatu daerah disekitar disk yang menunjukkan pertumbuhan bakteri dihambat oleh antibiotik tersebut, tapi tidak dimatikan. Disini akan dibanding dengan daerah diluar pengaruh antibiotik tersebut.

2. Cara sumuran

Suspensi bakteri 10^9 CFU/ml diratakan pada media agar, kemudian agar tersebut diberi sumuran dengan garis tengah tertentu menurut kebutuhan. Larutan antibiotik yang digunakan diteteskan kedalam sumuran. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Dibaca hasilnya, seperti pada cara Kirby-Bauer (Jawetz et al, 2001).

3. Cara Pour Plate

Setelah dibuat suspensi kuman dengan larutan BHI sampai konsentrasi standar (10^8 CFU/ml), lalu diambil satu mata ose dan dimasukkan kedalam 4ml agar base 1,5% dengan temperature 50°C . Suspensi kuman tersebut dibuat homogen dan dituang pada media agar Mueller Hinton. Setelah beku, kemudian dipasang disk antibiotik (diinkubasi 15-20 jam pada suhu 37°C) dibaca dan disesuaikan dengan standar masing-masing antibiotik (Dewi 2013)

2.4 Media

Media adalah kumpulan zat-zat organik yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri dengan syarat-syarat tertentu, oleh karena itu media pembiakkan harus mengandung cukup nutrisi untuk pertumbuhan bakteri. Selain suhu dan pH yang harus sesuai juga perlu diperhatikan . mengenai tekanan osmose dan strelitas (Soleha 2015)

Media dibedakan atas bentuk, susunan, dan sifat media:

a. Menurut bentuknya dikenal adanya :

1. Media padat, jika didalam media ditambahkan antara 12-15 gram tepung agar-agar/ 1000 ml media.
2. Media cair, jika kedalan media tidak ditambahkan zat pematat.
3. Semipadat atau semicair, jika penambahan zat pematat hanya 50% atau kurang dari seharusnya.

b. Menurut susunannya

1. Media alami, yaitu media yang disusun oleh bahan-bahan alami.
2. Media sintesis, yaitu media yang disusun oleh senyawa kimia.
3. Media semi sintesis, yaitu media yang tersusun oeh bahan-bahan alami dan bahan-bahan semi sintesis.

c. Menurut sifatnya

1. Media umum, media tersebut dapat digunakan untuk pertumbuhan dan perkembangan satu atau lebih kelompok mikroba.
2. Media kaya, untuk mendapatkan pertumbuhan jenis bakteri tertentu yang tidak tumbuh pada media sederhana.
3. Media selektif, yaitu media yang hanya ditumbuhi nol atau satu jenis mikroba tertentu, tapi akan menghambat atau mematikan untuk jenis lain yang tidak diinginkan. Misalnya media MSA (Manitol Salt Agar)/
4. Media diferensial, yaitu media yang digunakan untuk pembentukan miroba tertentu serta sifat-sifatnya. Misalnya media Nutrient agar, media gula-gula.

5. Media eksklusif, yaitu media yang hanya bakteri tertentu yang dapat hidup. Misalnya media BCSAB (Bacillus cereus selective agar base)
6. Media penguji, yaitu media yang digunakan untuk pengujian senyawa atau benda tertentu dengan bantuan mikroba.
7. Media perhitungan, yaitu media yang digunakan untuk menghitung jumlah mikroba pada suatu bahan. Misalnya media PCA (Plate Count agar), media PDA (Potatoes Dextrose agar)(Soleha 2015).

a. Media *Mueller Hinton Agar* (MHA)

Media MHA adalah media terbaik untuk pemeriksaan uji sensitivitas bakteri menggunakan metode *Kirby-Bauer* pada bakteri nonfastidious baik aerob maupun aerob fakultatif. Media ini ditemukan oleh *Mueller* dan *Hinton* tahun 1941, pada awalnya media *Mueller Hinton* digunakan untuk mengisolasi bakteri *Neisseria sp.* Komposisi media *Mueller Hinton Agar* adalah beef extract 2 gram, Acid Hydrolysate of Casein 17,5 gram, Starch 1,5 gram, Agar 17 gram, dan Aquadest 1 liter. Media MHA digunakan untuk tes sensitivitas bakteri karena :

1. Semua bakteri dapat tumbuh karena media ini bukan merupakan media selektif dan media differensial.
2. Mengandung starch (tepung padi) yang berfungsi untuk menyerap racun yang dikeluarkan bakteri, sehingga tidak mengganggu antibiotik.
3. Rendah *sulfonamide*, *trimethoprin* dan *tetracycline inhibitors*.
4. Mendukung pertumbuhan bakteri non-fastidious yang patogen.

5. Banyak data penelitian yang telah dikumpulkan tentang uji sensitivitas menggunakan media ini (Atmojo 2016).



b. Media *Nutrient Agar* (NA)

Media NA adalah media universal yang berwarna coklat muda, memiliki konsistensi yang padat dimana media ini berasal dari sintetik dan memiliki kegunaan sebagai media menumbuhkan bakteri. Komposisi media NA adalah Beef Extract 3 gram, peptone 5 gram, dan Agar 15 gram.

Pada media NA, ekstrak daging sapi dan peptone digunakan sebagai bahan dasar karena merupakan sumber protein, nitrogen, vitamin, serta karbohidrat yang sangat dibutuhkan oleh mikroorganisme untuk tumbuh dan berkembang. Pepton merupakan sumber utama dari nitrogen organik yang sebagian merupakan asam amino dan peptide rantai panjang, berfungsi sebagai pematat karena sifatnya yang mudah membeku. Mengandung karbohidrat yang tidak mudah diuraikan oleh mikroorganisme (Addina 2014).

2.5 Antibiotik

Antibiotik merupakan zat anti bakteri yang diproduksi oleh berbagai spesies mikroorganisme (bakteri, jamur, dan actinomycota) yang dapat menekan pertumbuhan dan atau membunuh mikroorganisme lainnya. Penggunaan umum sering meluas kepada agen antimikroba sintetik, seperti sulfonamide dan kuinolon (Pratama, 2014). Antimikroba berdasarkan struktur kimia dan mekanisme kerjanya sebagai berikut:

1. Antibiotik yang menghambat sintesis dinding sel bakteri, termasuk golongan β -laktam misalnya, penisilin, sefalosporin, dan carbapenem dan bahan lainnya seperti cycloserine, vankomisin, dan bacitracin.

2. Antibiotik yang bekerja langsung pada membrane sel mikroorganisme, meningkatkan permeabilitas dan menyebabkan kebocoran senyawa intraseluler, termasuk deterjen seperti polimiksin, nistasin dan amfeterisin B.
3. Antibiotik yang mengganggu fungsi subunit ribosom 30S atau 50S untuk menghambat sintesis protein secara reversibel, yang pada umumnya merupakan bakteriostatik misalnya, kloram fenikol, tetrasiklin, eritromisin, klindamisin, streptogramin, dan linezolid
4. Antibiotik berkaitan pada subunit ribosom 30S an mengganggu sintesis protein, yang pada umumnya adalah bakterisida. Misalnya aminoglikosida.
5. Antibiotik yang mempengaruhi metabolisme asam nukleat bakteri, seperti rifamycin misalnya, rifampisin dan rifabutin yang menghambat enzim topoisomerase.
6. Antimetabolit, seperti trimetoprin dan sulfonamida yang menahan enzim-enzim penting dari metabolisme folat

2.5.1 Mekanisme Kerja Antibiotik menurut(Nurmala et al. 2015).

Antibiotik dibagi menjadi lima kelompok berdasarkan cara kerjanya:

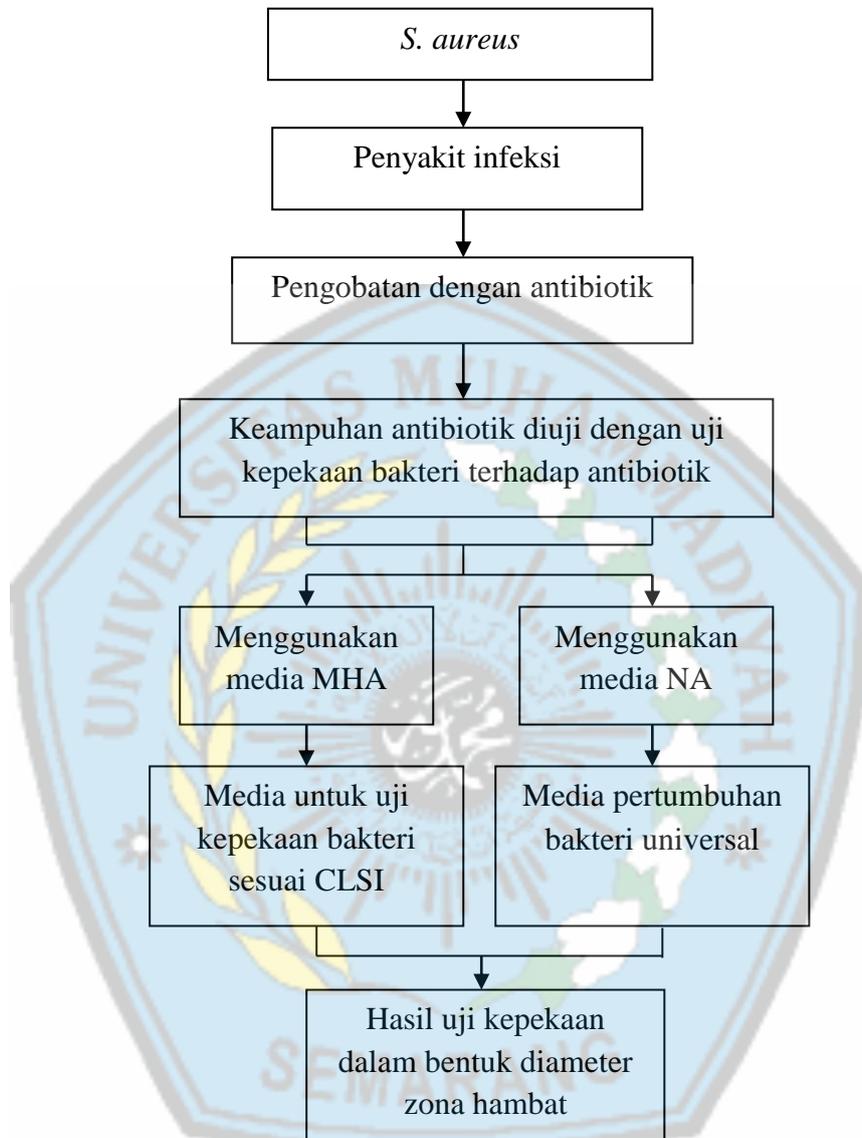
- a. Antibiotik yang menghambat sintesis dinding sel mikroba (contohnya penicillin, cephalosporin, vancomycin, bacitracin)
- b. Antibiotik yang bekerja mengganggu permeabilitas membran sel sehingga menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting sel (contohnya polymyxin)
- c. Antibiotik yang menghambat sintesis protein sel mikroba (contohnya

tetracycline, erythromycin, chloramphenicol dan aminoglycoside)
clindamycin,

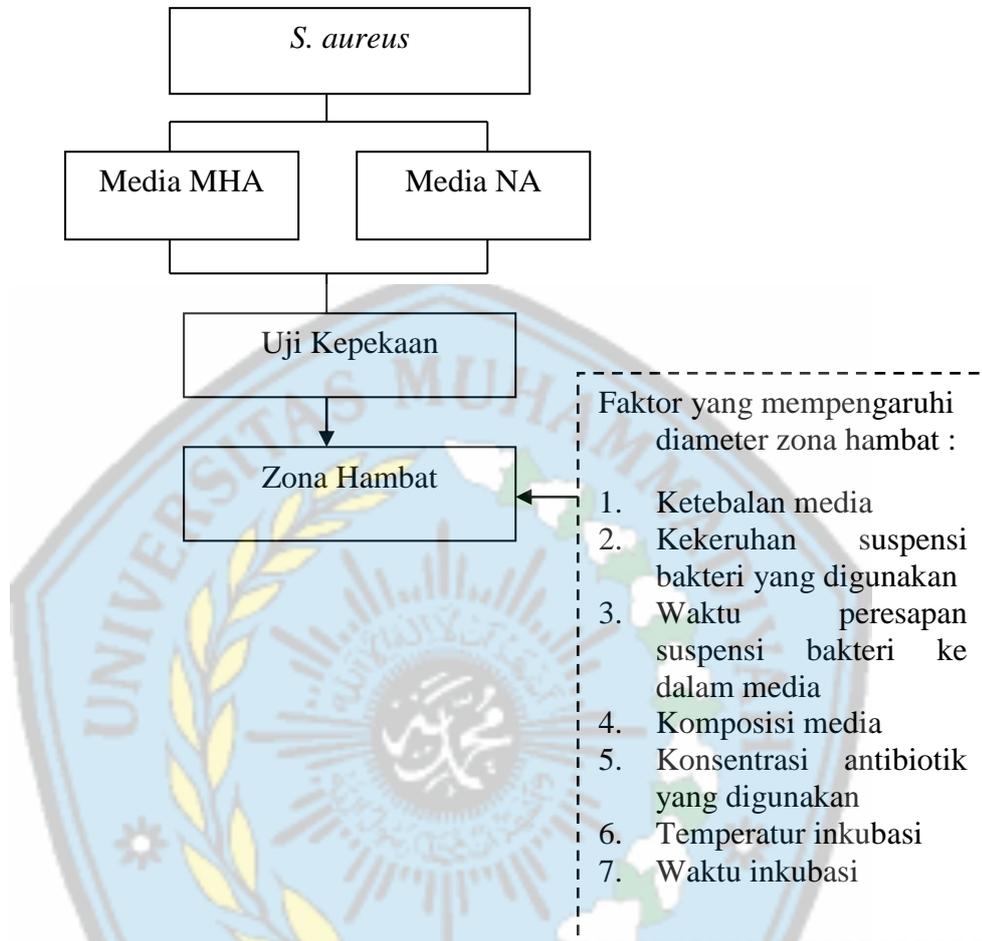
- d. Antibiotik yang menghambat sintesis asam nukleat (contohnya rifampin dan quinolone)
- e. Agen yang menghambat metabolime sel mikroba (contohnya trimethoprim dan sulfonamide)



2.3. Kerangka Teori



2.4. Kerangka Konsep



2.5. Hipotesis

Terdapat perbedaan hasil uji kepekaan bakteri *S. aureus* terhadap antibiotik *eritromisin*, *vancomysin*, dan *chloramphenicol* menggunakan media media *Muller Hinton Agar* dan media *Nutrient Agar*.

