

BAB II

KAJIAN PUSTAKA

2.1. Bakteri *Staphylococcus aureus*

Bakteri *S. aureus* adalah berbentuk bulat, bersifat grampositif, biasanya tersusun dalam rangkaian tidak beraturan atau seperti buah anggur. Bakteri tumbuh dengan cepat pada beberapa tipe media dan dengan aktif melakukan metabolisme, fermentasi karbohidrat dan menghasilkan bermacam-macam pigmen dari warna putih hingga kuning gelap. *S. aureus* mengandung polisakarida dan protein yang berfungsi sebagai antigen merupakan substansi penting didalam struktur dinding sel, tidak membentuk spora dan tidak membentuk flage (Jawetz dkk., 2005).

Klasifikasi *S. aureus* dalah sebagai berikut:

Kingdom : Procaryotae
Divisio : Bacteria
Kelas : Eubacteria
Ordo : Eubacteriales
Genus : Staphylococcus
Spesies : *Staphylococcus aureus*
(Bergey's DH., 1994)

1. Sifat biakan

S. aureus tumbuh dengan baik pada berbagai media bakteriologi dibawah suasana aerobik ataupun mikro-aerobik. Tumbuh dengan cepat pada temperatur 37⁰C namun pembentukan pigmen yang terbaik pada temperatur kamar (20 - 35⁰C). Koloni pada media yang padat akan berbentuk bulat, halus, menonjol, dan berkilau-kilau, membentuk berbagai pigmen berwarna kuning keemasan (Jawetz dkk, 2005).

2. Faktor Virulensi *S. aureus*

Bakteri *S. aureus* dapat menyebabkan penyakit karena kemampuannya berkembang biak dan menyebar luas dalam jaringan tubuh serta memiliki beberapa toksin dan enzim yang dapat merusak organisme lain. *S. aureus* dapat menimbulkan penyakit melalui kemampuannya tersebar luas dalam jaringan dan melalui pembentukan berbagai zat ekstraseluler. Berbagai zat berperan sebagai faktor virulensi dapat berupa protein, termasuk enzim dan toksin.

a. Toksin

Toksin adalah zat yang dibuat oleh organisme hidup (tanaman, hewan dan bakteri tertentu) yang beracun bagi manusia. Beberapa toksin dapat menjadi obat yang bermanfaat bila diambil dalam dosis yang tepat, tetapi beracun bila digunakan dalam jumlah berlebih. Kebanyakan toksin yang menyebabkan masalah pada manusia dihasilkan oleh bakteri.

b. Enzim

S.aureus dapat menimbulkan penyakit melalui kemampuan berkembang biak dan menyebar luas dalam jaringan dan melalui pembentukan berbagai zat ekstraseluler. Beberapa zat ini adalah enzim, sedangkan yang lain diduga toksin, meskipun berfungsi sebagai enzim kebanyakan toksin berada di bawah pengendalian genetik plasmid atau DNA yang berbentuk cekuler yang terdapat dalam kromosom. Zat yang disebut enzim ekstraseluler, antara lain :

- **Koagulase**

Protein yang menyerupai enzim dan dapat menggumpalkan plasmasitrat dengan bantuan suatu faktor yang terdapat dalam banyak serum. Bakteri yang membentuk koagulasi dianggap menjadi patogen invasif (Jawetz dkk, 2005).

- **Katalase**

Enzim ini dibuat oleh *Staphylococcus* dan *Micrococcus* sedangkan *Pneumococcus* dan *Streptococcus* tidak. Adanya enzim ini dapat diketahui apabila koloni dituangi H₂O₂ 3 % akan timbul gelembung-gelembung udara, yang berarti menghasilkan katalase yaitu mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen (Arif dkk, 2000).

- **Eksotoksin**

Bahan ini dapat ditemukan dalam filtrat hasil pemisahan dari kuman dengan jalan menyaring kultur. Bahan ini bersifat tidak tahan pemanasan termolabil) dan

bila disuntikan pada hewan percobaan dapat menimbulkan kematian dan nekrosis kulit.

- **Lekosidin**

kemampuan enzim membunuh sel darah putih pada berbagai binatang. Peran toksin dalam pathogenesis tidak jelas, karena *Staphylococcus* yang patogenik tidak dapat membunuh sel darah putih dan dapat difagositosis seefektif seperti yang non patogenik (Brooks dkk, 2005). *S. aureus* dapat di bedakan menjadi 3 hemolisa yang di sebut alfa,beta dan gama. Semua hemolisa ini antigennya berbeda.

a). Alfa hemolisa : suatu protein dengan berat molekul 3×10^4 yang dapat melarutkan eritrosit kelinci, merusak trombosit dan dapat mempengaruhi otot polos pada pembuluh darah.

b). Beta hemolisa : suatu protein yang dapat menghancurkan eritrosit kambing tetapi tidak pada eritrosit kelinci dalam 1 jam pada temperatur 37°C .

c). Gamma hemolisa : suatu protein yang dapat menghancurkan lekosit dan eritrosit.

- **Enterotoksin**

Suatu protein dengan berat molekul 3×10^4 yang tahan terhadap pendidihan selama 30 menit. *S. aureus* merupakan penyebab penting dalam keracunan

makanan. Enterotoksin dihasilkan ketika *S. aureus* tumbuh pada makanan yang mengandung karbohidrat dan protein (Arif dkk.,2000).

3. Patogenitas

Bakteri *S. aureus* yang patogenik dan bersifat invasif menghasilkan koagulase dan cenderung untuk menghasilkan pigmen kuning dan menjadi hemolitik. Gambaran infeksi lokal *S. aureus* adalah suatu infeksi folikel rambut, atau suatu abses biasanya suatu infeksi peradangan yang hebat, terlokalisir, sakit, yang mengalami penanahan sentral dan yang sembuh dengan cepat bila nanah kemudian dikeluarkan. Beberapa diantaranya tergolong sebagai flora normal pada kulit dan selaput mukosa manusia, menyebabkan penanahan, abses, berbagai infeksi piogen dan bahkan septikimia yang fatal. *S. aureus* mengandung polisakarida dan protein yang berfungsi sebagai antigen dan merupakan substansi penting didalam struktur dinding sel, tidak membentuk spora, dan tidak membentuk flagel (Jawetz dkk, 2005).

Staphylococcus mengandung polisakarida dan protein yang bersifat antigenik dan merupakan substansi penting di dalam struktur dinding sel. Dinding sel bakteri tersusun atas subunit-subunit polimer polisakarida yang disebut dengan peptidoglikan. Peptidoglikan dirusak oleh asam kuat atau lisozim. Hal tersebut penting dalam patogenesis infeksi, yaitu merangsang pembentukan interleukin-1 (pirogen endogen) dan antibodiopsonik, juga dapat menjadi penarik kimia(kemotraktan) leukosit polimorfonuklear, mempunyai aktifitas mirip endotoksin dan mengaktifkan komplemen (Jawetz dkk., 2005).

S. aureus adalah patogen agresif yang bertanggung jawab terhadap beragam penyakit dari infeksi kulit ringan hingga kondisi yang mengancam jiwa seperti bakteremia, radang paru-paru, dan endokarditis (Plata, dkk ; 2009). Munculnya resistensi multidrug pada *S. aureus* adalah masalah kesehatan masyarakat yang sangat besar dan ada kebutuhan mendesak akan target terapeutik tambahan dan alternatif untuk infeksi yang disebabkan oleh bakteri ini (River dkk, 2011).

2.2. MRSA (Metchilin Resisten *Staphylococcus aureus*)

S. aureus yang resisten Methicillin (MRSA) adalah penyebab utama infeksi yang didapat di rumah sakit yang menjadi semakin sulit untuk diperjuangkan karena resistensi yang muncul terhadap semua kelas antibiotik saat ini. Asal usul MRSA yang evolusioner kurang dipahami, tidak ada nomenklatur yang rasional, dan tidak ada konsensus mengenai jumlah klon MRSA utama atau keterkaitan klon yang dijelaskan dari berbagai negara.

MRSA adalah galur *S. aureus* yang resisten terhadap metisilin, antibiotik golongan β -laktam. MRSA pertama kali ditemukan pada tahun 1961. Galur MRSA dibagi menjadi dua yaitu HA-MRSA dan CA-MRSA. HA-MRSA didefinisikan sebagai infeksi MRSA yang terdapat pada individu yang pernah dirawat di rumah sakit atau menjalani tindakan operasi dalam satu tahun terakhir, memiliki alat bantu medis permanen dalam tubuhnya, bertempat tinggal di fasilitas perawatan jangka panjang, atau individu yang menjalani dialisis. HA-MRSA memiliki resistensi yang sangat tinggi dan merupakan penyakit nosokomial yang penting. CA-MRSA merupakan galur MRSA yang

sama sekali tidak berhubungan dengan infeksi nosokomial atau infeksi di rumah sakit. *CA-MRSA* berbeda dengan *HA-MRSA* secara fenotip, genotip dan virulensi. *CA-MRSA* memiliki virulensi lebih tinggi dan resistensi terhadap antimikroba non β -laktam lebih rendah jika dibandingkan *HA-MRSA*. Penelitian yang lain menyebutkan bahwa *CA-MRSA* hanya resisten terhadap antimikroba golongan β -laktam dan secara genotip tidak membawa gen resisten tambahan selain gen resisten terhadap metisilin (Ray, dkk; 2011).

2.3. Resistensi Antibiotik

Pemberian antibiotik sesuai dengan indikasi dan spektrumnya berdasarkan jenis mikroorganisme. Tidak selayaknya memberikan antimikroba berspektrum luas tanpa mengetahui pasti kasusnya. Pemeriksaan kultur dan sensitivitas terhadap antibiotik masih menjadi *gold standard*. Pola bakteri dibagian-bagian tubuh manusia juga diperlukan untuk dasar pertimbangan pemberian antibiotik. (Disyadi., 2009).

Resistensi mikroba terhadap antibiotik atau biasa disebut *antibiotic resistance* atau *drug resistance* adalah suatu sifat tidak terganggunya kehidupan sel mikroba oleh antibiotik. Akibat terjadinya resistensi mengakibatkan semakin sulit memberantas mikroba penyebab penyakit tertentu, misalnya TBC, gonorrhea (kencing nanah), malaria dan infeksi telinga pada anak-anak bila dibanding beberapa dekade yang lalu. Sifat resistensi ini dapat merupakan suatu mekanisme alamiah dari suatu mikroba untuk bertahan hidup. Resistensi mikroba ini dapat terjadi karena berbagai hal yaitu :

1. **Mutasi spontan** adalah DNA mikroba mengalami perubahan/mutasi spontan akibat penggunaan antibiotik atau faktor lain. *tuberculosis* penyebab penyakit TBC yang resisten terhadap antibiotik tertentu terjadi karena mutasi spontan
2. **Transformasi** adalah proses pemindahan DNA dari suatu sel yang mengalami lisis (sel donor) ke sel lainnya (sel resipien) dan selanjutnya terjadi rekombinasi. Mikroba penyebab gonorrhea merupakan suatu contoh mikroba yang resisten melalui transformasi
3. **Konjugasi** merupakan perpindahan isi sel terutama plasmid pembawa faktor resistensi dari suatu sel ke sel lainnya melalui “hubungan langsung”. *Shigella* sp, penyebab diare merupakan contoh mikroba yang resisten terhadap 4 jenis antibiotik melalui proses ini.
4. **Transduksi** suatu proses pemindahan plasmid pembawa faktor resistensi dari suatu sel ke sel lainnya melalui perantara bakteriofag.

Secara umum ada 5 mekanisme resistensi mikroba terhadap antibiotik sebagai berikut:

1. Perubahan tempat kerja (*target site*) antibiotik pada mikroba
2. Mikroba menurunkan permeabilitasnya sehingga antibiotik sulit masuk ke dalam sel
3. Inaktivasi antibiotik oleh mikroba
4. Mikroba membentuk jalan pintas untuk menghindari tahap yang dihambat oleh antibiotik

5. Mikroba meningkatkan produksi enzim yang menghambat aktivitas antibiotik

Beberapa faktor penyebab terjadinya resistensi mikroba terhadap antibiotik dan obat antara lain: (1) Dosis dan jenis antibiotik yang kurang tepat; (2) Kesalahan dalam menetapkan etiologi/penyebab penyakit; (3) Perilaku pasien misalnya kurang/tidak teratur mengkonsumsi obat yang diberikan, tidak menghabiskan antibiotik atau obat sesuai yang disarankan dan lain-lain.(Pato., 2016). *S. aureus* berubah menjadi galur resisten metisilin (MRSA) karena mendapat sisipan suatu elemen DNA berukuran besar antara 20-100 kb yang disebut SCCmec. SCCmec selalu mengandung *mecA*, yaitu gen yang menyandi PBP2a.

2.4. Protein

Protein dapat memerankan fungsi sebagai bahan struktural karena seperti halnya polimer lain, protein memiliki rantai yang panjang dan juga dapat mengalami cross-linking dan lain-lain. Selain itu, protein juga dapat berperan sebagai biokatalis untuk reaksi-reaksi kimia dalam sistem makhluk hidup. Makromolekul ini mengendalikan jalur dan waktu metabolisme yang kompleks untuk menjaga kelangsungan hidup suatu organisme. Suatu sistem metabolisme akan terganggu apabila biokatalis yang berperan di dalamnya mengalami kerusakan (Hertadi, 2008).

Protein merupakan kelompok biomakro molekuler yang sangat heterogen. Ketika berada diluar makhluk hidup/sel, protein sangat tidak stabil. Demi untuk mempertahankan fungsinya, setiap jenis protein membutuhkan kondisi tertentu ketika di

ekstraksi dari normal biological milieu. Protein yang di ekstraksi hendaknya dihindarkan dari proteolisis / dipertahankan aktifitas protein. Untuk menganalisa protein yang ada didalam sel, diperlukan prosedur fraksinasi sel, yaitu : (1) Memisahkan sel dari jaringannya; (2) Menghancurkan membrane sel untuk mengambil kandungan sitoplasma dan organelnya; (3) Memisahkan organel-organel dan molekul penyusunnya (Fatchiyah,dkk : 2011).

Protein adalah molekul yang sangat vital untuk organisme dan terdapat di semua sel. Protein merupakan polimer yang disusun oleh 20 macam asam amino standar. Rantai asam amino dihubungkan dengan ikatan kovalen yang spesifik. Struktur & fungsi ditentukan oleh kombinasi, jumlah dan urutan asam amino sedangkan sifat fisik dan kimiawi dipengaruhi oleh asam amino penyusunnya. Penggolongan protein dibedakan menjadi beberapa macam, antara lain: Struktur primer menunjukkan jumlah, jenis dan urutan asam amino dalam molekul protein. Maka dari itu ikatan asam amino ialah ikatan peptida, yang urutan ikatan peptidanya dapat diketahui. Struktur sekunder merupakan struktur protein yang dihasilkan oleh adanya interaksi hidrogen, struktur sekunder terdiri dari α -heliks (spiral), dan β -sheet (lembaran berlipat). Struktur tersier menunjukkan kecenderungan polipeptida membentuk lipatan atau gulungan, dan membentuk struktur yang lebih kompleks. Struktur kuartener menunjukkan adanya interaksi intermolekul antara unit-unit protein (Ikmalia, 2008).

Kebanyakan molekul protein berada dalam sel, dan kemungkinan berada diorganela pada sel, pada penelitian cara yang digunakan untuk membuka sel dan organela dengan metode sonikasi frekuensi tinggi. Sonikasi frekuensi tinggi adalah

metode yang banyak digunakan untuk menghancurkan sel dan organela. Gelombang suara dengan frekuensi tinggi adalah metode yang efektif untuk merusak sel yang bisa digunakan pada mikroorganisme. Efisiensi perusakan sel dipengaruhi oleh kekuatan yang dipakai pada instrument, durasi pemaparan dan volume material proses. Pendinginan untuk mencegah peningkatan panas (Koolman dkk, 2005).

2.5. Elektroforesa

Elektroforesis adalah teknik pemisahan komponen atau molekul bermuatan berdasarkan perbedaan tingkat migrasinya dalam sebuah medan listrik. Prinsip dasar dari teknik elektroforesis adalah pemanfaatan muatan listrik yang ada pada makromolekul (Wiley, dkk., 2004).

Elektroforesis gel agarosa adalah teknik paling baik yang pernah dibuat dan secara rutin digunakan di laboratorium klinis untuk analisis protein dan DNA pada berbagai cairan biologis (serum, urin, CSF). Teknik ini merupakan teknik yang menggunakan prinsip elektroforesis zona. Seperti yang diketahui, molekul protein bermigrasi pada medium padat/gel yang direndam dengan suatu larutan penyangga di bawah pengaruh medan listrik. Migrasi ini tergantung pada muatan listrik, titik isoelektrik bersih dan massa molekul protein (Jean dkk, 2010).

Ada tiga jenis gel yang dapat digunakan dalam elektroforesis DNA, yaitu:

1. Gel poliakrilamida denaturasi, berfungsi untuk memurnikan penanda oligonukleotida dan menganalisis hasil ekstensi primer.
2. Gel alkalin agarosa, berfungsi untuk memisahkan rantai DNA yang berukuran besar.

3. Gel agarose formaldehid denaturasi, berfungsi untuk menyediakan sistem elektroforesis yang digunakan untuk fraksi RNA pada ukuran standar. (Davis dkk. 1994).

Elektroforesis gel memisahkan makromolekul berdasarkan laju perpindahannya melewati suatu gel di bawah pengaruh medan listrik. Elektroforesis gel memisahkan suatu campuran molekul DNA menjadi pita-pita yang masing-masing terdiri atas molekul DNA dengan panjang yang sama (Campbell dkk, 2002). Namun disamping itu, elektroforesis gel juga memiliki kekurangan yaitu pada deteksi atau identifikasi ampikon. Penggunaan elektroforesis gel ini dirasakan kurang efisien karena lama pengerjaannya dan terbatasnya jumlah sampel yang dapat diperiksa. Disamping itu, kadang kadang hasil PCR dalam gel muncul pita yang tidak berbentuk (ghost atau smeary bands) atau pita yang terlampaui banyak sehingga hasilnya sulit diinterpretasikan (Tarigan, 2011).

2.6. Sodium Dodecyl Sulphate Polycrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE)

Menurut Fatchiya dkk tahun 2011, elektroforesis merupakan suatu metode pemisahan molekul yang menggunakan medan listrik sebagai penggerak molekul dan matriks penyangga berpori. Metode ini sangat banyak digunakan untuk memisahkan molekul yang bermuatan atau dibuat bermuatan, dengan menggunakan elektroforesis, protein bisa dipisahkan berdasarkan berat molekulnya dengan SDS-PAGE atau berdasarkan isoelektriknya dengan IEF. Kecepatan molekul yang bergerak pada medan listrik tergantung pada muatan, bentuk, dan ukuran, maka dari itu elektroforesis dapat digunakan untuk pemisahan makromolekul (protein dan asam nukleat). Elektroforesis

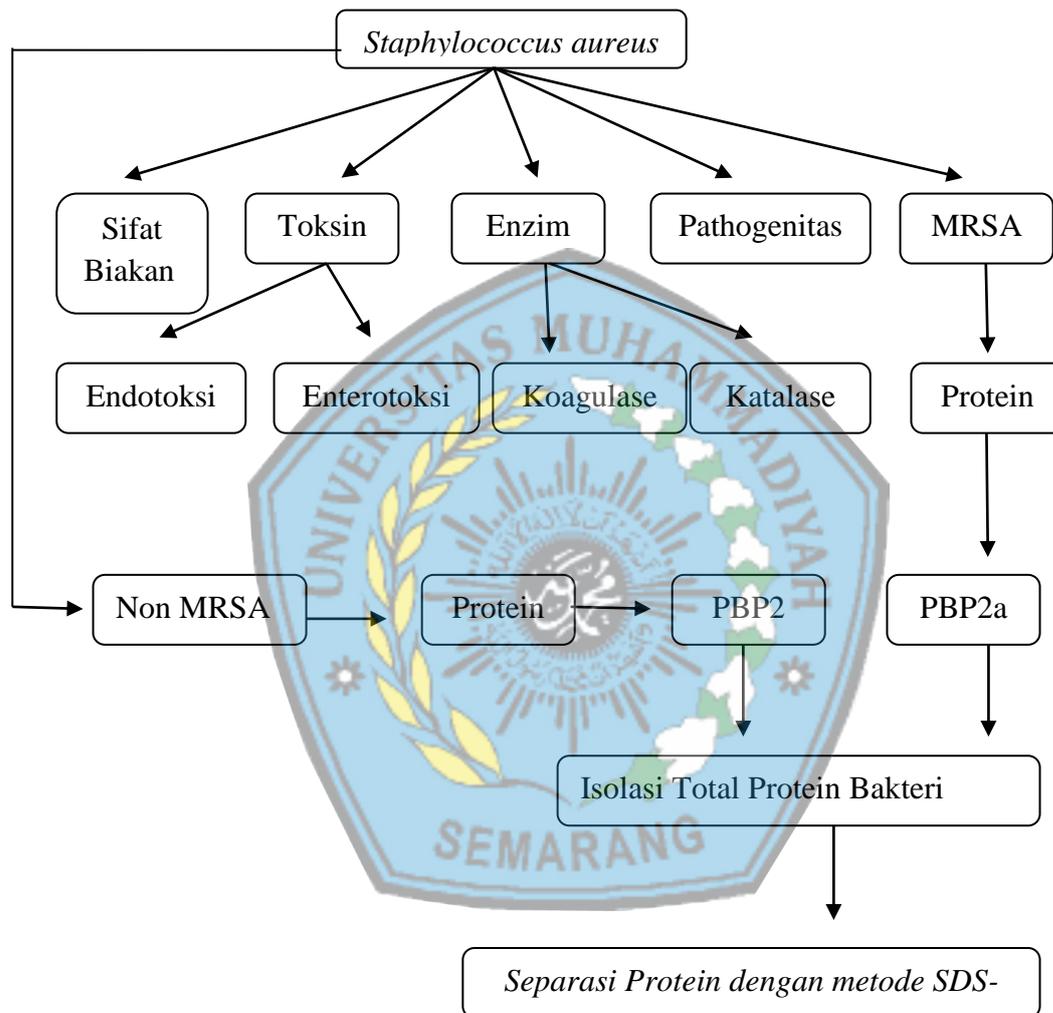
makromolekul memerlukan matriks penyangga untuk mencegah terjadinya difusi karena timbulnya panas dari arus listrik, maka dari itu dibutuhkan gel poliakrilamida dan agarosa yang merupakan matriks penyangga yang berfungsi untuk pemisahan.

Gel poliakrilamida biasanya digunakan dalam proses pemisahan protein dengan metode SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamide Gel Electrophoresis*). SDS-PAGE merupakan prosedur dasar dalam aplikasi analisis protein, pada Western blotting, SDS-PAGE merupakan tahap awal untuk separasi protein sebelum protein ditransfer pada membran PVDF.



2.7. Kerangka Teori

Antibiotik merupakan penghambat efektif terhadap sintesis DNA (*Deoxribo Nuclei Acid*) atau AND (*Asam Deoxsiribo Nukleat*). Sintesis protein merupakan hasil akhir dari dua proses utama, yaitu transkripsi dan translasi.



Gambar 1. Kerangka Teori