

BAB II

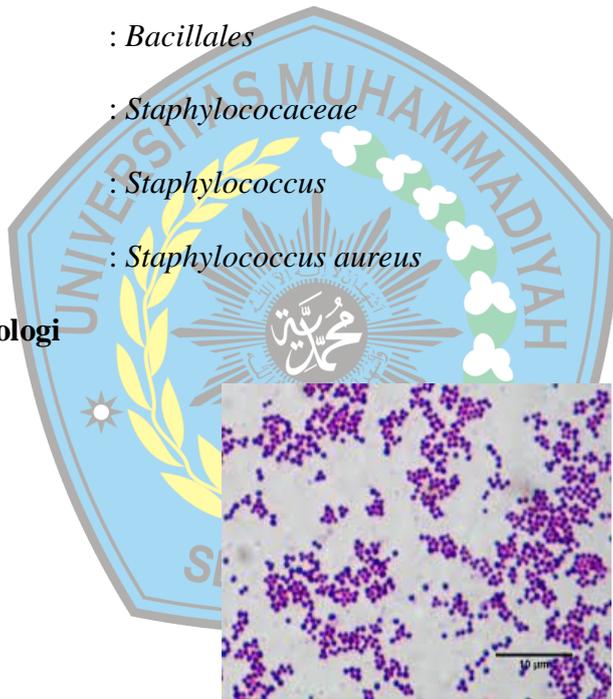
TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Staphylococcus aureus*

2.1.1. Taksonomi (Syahrurrahman *et al.*, 2010)

| | |
|---------|--------------------------------|
| Kingdom | : <i>Eubacteria</i> |
| Divisi | : <i>Firmicutes</i> |
| Class | : <i>Bacillales</i> |
| Ordo | : <i>Bacillales</i> |
| Famili | : <i>Staphylococaceae</i> |
| Genus | : <i>Staphylococcus</i> |
| Spesies | : <i>Staphylococcus aureus</i> |

2.1.2. Morfologi



Gambar 1. Gambaran mikroskopis bakteri *Staphylococcus aureus* perbesaran 1000x (Jawetz *et al.*, 2013).

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif berbentuk bulat berdiameter 0,7-1,2 μm , tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak. Bakteri ini tumbuh pada suhu optimal 37 $^{\circ}\text{C}$, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25 $^{\circ}\text{C}$). Koloni pada pembedahan padat berwarna abu-abu

sampel 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 (Jawet *et al.*, 2008).

2.1.3. Patogenitas

Staphylococcus aureus merupakan flora normal yang tumbuh pada manusia, sekitar 30%-50% orang dewasa terkolonisasi bakteri *Staphylococcus aureus* (Biantoro, 2008). Bakteri ini dapat ditularkan antarmanusia melalui kontak langsung dengan kulit yang terinfeksi maupun transmisi melalui udara (Brooks, 2007).

2.1.4. Faktor Virulensi

S.aureus dapat menimbulkan penyakit melalui kemampuannya tersebar luas dalam jaringan dan melalui 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* (Arief *et al.*, 2000).

b. Koagulase

Enzim ini dapat mengumpulkan plasma oksalat atau plasma sitrat, karena adanya faktor koagulase reaktif dalam serum yang bereaksi dengan enzim tersebut. Esterase yang dihasilkan dapat dapat meningkatkan aktivitas penggumpalan, sehingga terbentuk deposit fibrin pada permukaan sel bakteri yang dapat menghambat fagositosis (Jawet *et al.*, 2005).

c. Hemolisis

Hemolisis merupakan toksin yang dapat membentuk suatu zona hemolisis disekitar koloni bakteri. Hemolisis pada *S.aureus* terdiri dari α -hemolisin, β -hemolisin dan delta hemolisin (Arief *et al*, 2000).

d. Lekosidin

Kemampuan enzim membunuh sel darah putih pada berbagai binatang. Peran toksin dalam patogenitas tidak jelas, karena *Staphylococcus* yang patogenik tidak dapat membunuh sel darah putih dan dapat difagositosis efektif seperti yang nonpatogenik (Brooks *et al*, 2007).

e. Enterotoksin

Suatu protein dengan berat molekul 3×10^4 yang tahan terhadap pendidihan selama 30 menit. *S.aureus* merupakan penyebab dalam keracunan makanan. Enterotoksin dihasilkan ketika *S.aureus* tumbuh pada makanan yang mengandung karbohidrat dan protein (Arief *et al.*, 2000).

f. Eksotoksin

Pada manusia toksin ini menyebabkan demam, syok, ruam, kulit dan gangguan multisistem organ dalam tubuh (Rahmi *et al.*, 2015).

2.2. Methicillin Resistans *Staphylococcus aureus* (MRSA)

2.2.1. Pengertian

Methicillin Resistans Staphylococcus aureus (MRSA) adalah jenis *Staphylococcus aureus* yang telah resistens terhadap antibiotik metisilin. MRSA juga resistens terhadap antibiotik betalaktam, makrolida, tetrasiklin, kloramfenikol, dan kuinolon (Yuwono, 2012).

Infeksi *Methicillin Resistens Staphylococcus aureus* (MRSA) merupakan infeksi oportunistik, sama halnya dengan infeksi aureus (Amrullah, 2009). *Staphylococcus aureus* adalah bakteri gram positif, berbentuk bulat biasanya tersusun dalam bentuk kluster yang tidak teratur seperti anggur, bakteri ini tumbuh cepat pada beberapa tipe media dan dengan aktif melakukan metabolisme, beberapa *Staphylococcus aureus* bersifat koagulasi positif, yang membedakan dari spesie lain *Staphylococcus aureus* adalah patogen utama pada manusia. Hampir setiap orang pernah mengalami berbagai infeksi bakteri ini (Jawet *et al.*, 2001).

Lebih dari 80% Strain *Staphylococcus aureus* menghasilkan penisilinase, dan penisilinase-stable betalactam seperti methicillin, cloxacilin, dan fluoxacillin yang telah digunakan sebagai terapi utama dari infeksi *Staphylococcus aureus* selama lebih dari 35 tahun. Strain yang resisten terhadap kelompok penicillin dan betalactam ini muncul tidak lama setelah penggunaan agen ini untuk pengobatan (Biantaro, 2008).

2.2.2. Mekanisme Resistens

Staphylococcus aureus berubah jadi resistens terhadap methicillin karena mendapat sisipan suatu elemen DNA berukuran besar antara 20-100 kb yang berukuran SCC_{mes}. SCC_{mes} selalu mengandung meCA yaitu gen menyandi PBP2a yang mendasari terjadinya resistens *Methicillin Resistens Staphylococcus aureus* (MRSA). MRSA terhadap methicillin dan semua antimikroba golongan betalactam disebabkan perubahan pada PBP yang normal yaitu gen PBP2 menjadi PBP2a. PBP2a memiliki afinitas yang sangat rendah terhadap betalactam sehingga sekalipun bakteri ini dibiakkan pada media mengandung konsentrasi tinggi

betalactam, MRSA tetap dapat hidup dan mensintesa dinding sel. Pengamatan pada struktur PBP2a menunjukkan adanya perubahan pada tempat pengikatan yang menyakibatkan rendahnya afinitif. Faktor genetik lain seperti gen betalaktamase dan faktor eksternal seperti temperatur, tekanan oksigen, kandungan ion, osmolais dan cahaya juga mempengaruhi ekspresi resistensi (Yuwono, 2012).

2.3. Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn)

2.3.1. Taksonomi Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn)

Taksonomi Belimbing wuluh menurut (Parikesit, 2011)

Kingdong : *Plantae*
 Divisi : *Magnoliophyta*
 Class : *Magnoliopsida*
 Ordo : *Geraniales*
 Familia : *Oxalidaceae*
 Genus : *Averrhoa*
 Spesies : *Averrhoa bilimbi* L

2.3.2. Morfologi Buah Belimbing Wuluh



Gambar 2. Buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn)
 (Sumber : koleksi pribadi, februari 2018).

Buah belimbing wuluh berbentuk bulat lonjong bersegi dengan panjang 4-10 cm. Warna buah Belimbing Wuluh muda hijau, dengan sisa kelopak bunga menempel pada ujungnya, Jika dimasak buahnya berwarna kuning pucat, daging buahnya berair dan sangat asam. Kulit buah berkilap dan tipis, Bijinya berbentuk bulat telur dan berwarna coklat, serta tertutup lendir (Dalimartha, 2008).

2.3.3. Kandungan Kimia Buah Belimbing Wuluh

Buah belimbing wuluh (*Avverhoa bilimbi L*) memiliki kandungan kimia flavonoid, alkaloid, sulfur, asam format, kalsium oksalat, kalium sitrat, dan peroksidase (Sudarsono, 2002). Berdasarkan hasil pemeriksaan kandungan kimia buah belimbing wuluh mengandung golongan senyawa oksalat, minyak menyuap, fenol, flavonoid, dan pektin (Zakariat *et al.*, 2008).

Flavonoid merupakan senyawa aktif yang berfungsi untuk mengganggu sintesis dinding sel bakteri sehingga menyebabkan kebocoran plasma yang menyakitkan lisisnya bakteri (Chusnie, 2005). Sedangkan alkaloid berperan dalam mengganggu komponen penyusun bakteri. Sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh yang menyebabkan sel bakteri mudah mengalami lisis (Anggriani, 2016).

Mekanisme saponin sebagai antibakteri dengan merusak membran sel bakteri. Membran sel bakteri berfungsi sebagai jalan keluar masuknya bahan-bahan penting yang dibutuhkan bakteri. Apabila membran sel mengalami kerusakan akan menyakitkan sel bakteri tersebut mati (Ajizah, 2004). Sedangkan tanin berfungsi sebagai antibakteri adalah mampu mengkerutkan dinding sel bakteri sehingga mengganggu permeabilitas sel. Terganggunya permeabilitas sel dapat

menyebabkan sel tersebut tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat dan karena pengkerutan dinding sel bakteri sehingga bakteri mati (Anggriani & Saputra, 2016).

2.3.4. Manfaat Buah Belimbing

Di kalangan masyarakat belimbing wuluh (*Averrhoa blimbi* L.) Sangat baik untuk absupan kekurangan vitamin C. banyak hasil penelitian yang menyebabkan potensiuatu tanaman dalam mengobati penyakit tertentu ataupun sebagai antibakteri. Akan tetapi, penggunaan bahan antimikroba kimia, di lingkungan masyarakat dalam produk pangan lebih populer. Ini karena hasilnya sebagai pengawet lebih efektif dan biayanya relatif murah (Parikesit, 2011).

Manfaat buah belimbing wuluh yang lain adalah untuk dibuat manisan dan sirup, sebagai obat untuk sariawan, sakit perut, batuk rejam, jerawat, panu, hipertensi, sakit gigi berlubang, kelumpuhan, radang rektum gondongan, rematik, panu, memperbaiki fungsi pencernaan, untuk membersihkan noda pada pakaian, menghilangkan karat pada keris, membersihkan tangan yang kotor, menghilangkan bau amis, sebagai bahan kosmetik serta mengkilapkan barang-barang yang terbuat dari kuningan (Maryam, 2015).

2.4. Antibakteri

Bahan antibakteri diartikan sebagai bahan yang mengganggu pertumbuhan dan metabolisme bakteri, sehingga bahan tersebut dapat menghambat bahkan dapat membunuh bakteri. Cara kerja bahan antibakteri antara lain dengan merusak dinding sel, mengganggu permeabilitas sel, menghambat kerja enzim, serta menghambat proses sintesis protein dan asam nukleat (Pelezer dan Chan, 1998).

Golongan fenol dapat diketahui memiliki aktivitas antimikroba yang bersifat bakterisid. Senyawa turunan fenol yang dikenal sebagai senyawa fenolik mengandung molekul fenol yang secara kimiawi telah diubah untuk mengurangi mengiritasi kulit dan meningkatkan aktivitas antibakterinya. Aktivitas antimikroba fenolik yaitu dengan merusak lipid pada membran plasma mikroorganisme, sehingga menyebabkan isi sel keluar (Pratiwi, 2008). Flavonoid bersifat antibakteri karena dapat menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, kloroplast dan lisosom. Aktivitas antibakteri flavonoid juga dilakukan dengan pengurangan fluiditas membran pada sel bakteri dan penghambatan metabolisme energi pada bakteri (Cushine and Lamb, 2005). Mekanisme dari tanin yaitu menghambat kerja berbagai enzim pada mikroba, dan merusak membran sitoplasma dari bakteri (Akiyama *et al.*, 2001). Terpenoid memiliki mekanisme antibakteri dengan bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga dapat menyebabkan rusaknya porin. Rusaknya porin merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang akan menyebabkan sel bakteri kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Cowan, 1999).

2.5. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan menggunakan pelarut cair. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan minyak atsiri, alkaloida, flavonoida dan lain-lain. Dengan

diketuainya senyawa aktif yang dikandung simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (Depkes RI, 2000).

Maserasi merupakan metode Ekstraksi sederhana yang paling banyak digunakan. Cara ini sesuai, baik untuk skala kecil maupun skala industri (Agoes, 2007). Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu ruangan. Maserasi bertujuan untuk menarik zat-zat berkhasiat yang tahan pemanasan maupun yang tidak tahan pemanasan (Depkes RI, 2000).

Kloroform merupakan senyawa karbon yang berwujud cair dan mudah menguap pada suhu kamar. Kloroform atau triklorometana mempunyai rumus molekul CHCl_3 . Dimana pada tekanan dan suhu normal merupakan cairan bening dan berbau karakteristik. Kloroform lebih dikenal karena kegunaannya sebagai bahan pembius, walaupun pada kenyataannya kloroform lebih banyak digunakan sebagai pelarut nonpolar di laboratorium atau industri (Amonette *et al*, 2009). Kloroform dapat disintesi dengan cara mencampur etil alkohol atau etanol dengan kalsium hipoklorit. Kalsium hipoklorit merupakan donor unsur klor. Selain kalsium hipoklorit, penyumbang unsur klor yang dapat dipakai adalah pemutih pakaian. Pemutih pakaian memiliki senyawa aktif yaitu asam hipoklorit. Etil alkohol dipanaskan dan dicampurkan dengan kalsium hipoklorit (Sunarya, 2012). Menurut penelitian sebelumnya yang telah dilakukan untuk uji fitokimia ekstrak kloroform buah belimbing wuluh menunjukkan adanya senyawa flavonoid dan triterpenoid (Huda *at al.*, 2009).

2.6. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri merupakan metode untuk menentukan tingkat kerentanan bakteri terhadap senyawa atau antibakteri dan untuk mengetahui senyawa murni yang memiliki aktivitas antibakteri. Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode dilusi (Irianto, 2006).

Metode dilusi adalah senyawa antibakteri diencerkan hingga diperoleh beberapa macam konsentrasi. Kemudian masing-masing konsentrasi ditambahkan suspensi bakteri uji dalam media cair. Inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan diamati ada tidaknya pertumbuhan bakteri, yang diamati dengan terjadinya kekeruhan (Irianto, 2006).

Metode difusi merupakan metode pengujian kerentanan bakteri terhadap zat antibakteri atau sering disebut uji daya hambat. Metode difusi agar dilakukan dengan melarutkan zat antibakteri dengan pelarut yang sesuai, kemudian dimasukkan dalam sumuran media padat. Inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan diamati adanya zona bening di sekitar sumuran (Pratiwi, 2008).

2.7. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Bakteri

Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri antara lain :

2.7.1. Temperatur

temperatur mempengaruhi aktivitas enzim. Jika temperatur terlalu tinggi, maka enzim akan rusak karena terjadi denaturasi protein dan jika temperatur terlalu rendah, maka kerja enzim akan lambat bahkan terhenti. Suhu inkubasi yang optimal umumnya 35°C (Pratiwi, 2008).

2.7.2. pH

Hampir semua organimes tumbuh dengan baik pada pH 6,0-8,0 tetapi ada juga organisme yang lain memiliki pH optimal serendah 3,0 dan pH optimal setinggi 10,5 (Jawet et al, 2008).

2.7.3. Oksigen

Pertumbuhan bakteri tergantung pada pada oksigen. Berdasarkan kebutuhan oksigen, bakteri dapat dibedakan menjadi 3 yaitu, obligat aerob, anaerobik dan obligat anaerob. 1) Obligat aerob adalah bakteri yang menggunakan gas sebagai penerima elektron terakhir untuk membentuk ATP, 2) Anaerobik adalah bakteri yang tidak dapat menggunakan oksigen, 3). Obligat anaerob adalah bakteri yang mati jika ada oksigen (Jeffrey & Pommerville, 2010).

2.7.4. Tekanan osmosis

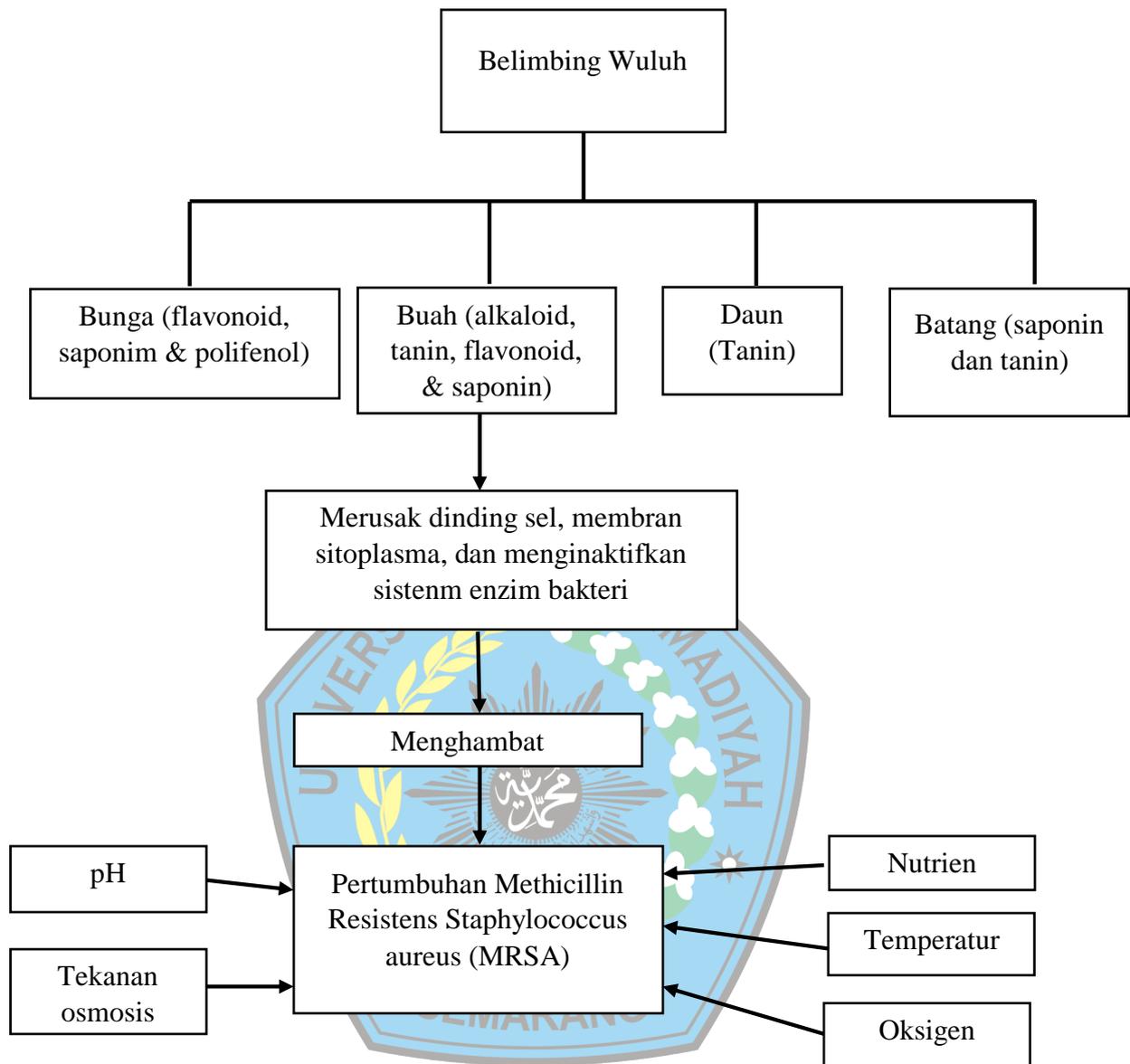
Bakteri membuntuhakn air untuk pertumbuhannya. Air masuk ke dalam sel bakteri dengan cara osmosis. Apabila sel bakteri berada dalam larutan hipertonik, air akan keluar dari dalam sel sehingga menyebabkan plasmolisis pada bakteri. Organisme membutuhkan konsentrasi garam tinggi disebut halofilik. Organisme yang membutuhkan tekanan osmotik tinggi disebut osmolofik (Pratiwi, 2008).

2.8. *Minimum Inhibitor Concentration (MIC) dan Minimum Bactericidal Concentration (MBC)*

MIC dari ekstrak tumbuhan ditentukan secara steril 96-well microplates menggunakan metode microdilution kaldu Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2009). Ekstrak kloroform buah belimbing dilakukan pengenceran serial dari konsentrasi 100 mg/mL hingga 0,04 mg/mL. MH Bort digunakan sebagai pengencer. Pengenceran serial dengan 1:1 dengan Mueller-Hinton Broth. Tabung mikrotube sebanyak 12 lubang diisi 100 µl MH Broth, kemudian disiapkan konsentrasi 100 mg/mL dan setelah itu tambahkan 10 µl kultur/suspensi yang telah disesuaikan dengan standar 0,5 standar kekeruhan McFarland, yang diperkirakan $1,5 \times 10^8$ CFU / mL. Diinkubasi pada 37°C selama 16-20 jam dalam inkubator. MIC ditentukan dengan memilih konsentrasi terendah ekstrak tumbuhan yang benar-benar menghambat pertumbuhan organisme dalam wells yang dideteksi oleh mata telanjang. Untuk menentukan titik akhir pertumbuhan, pertumbuhan dalam sumur yang mengandung ekstrak kloroform buah belimbing dibandingkan dengan jumlah pertumbuhan dalam kontrol pertumbuhan dengan baik (tidak ada ekstrak kloroform buah belimbing).

MBC ditentukan mengikuti metode yang dijelaskan oleh Irobi dan Daramola dengan sedikit modifikasi (Irobi, 1994). Wells tanpa pertumbuhan yang terlihat dalam tes MIC disubkultur dalam media BAP pada suhu 37°C selama 16-20 jam inkubasi. MBC didefinisikan sebagai konsentrasi terendah dari ekstrak yang tidak memungkinkan pertumbuhan apa pun.

2.8. Kerangka Teori



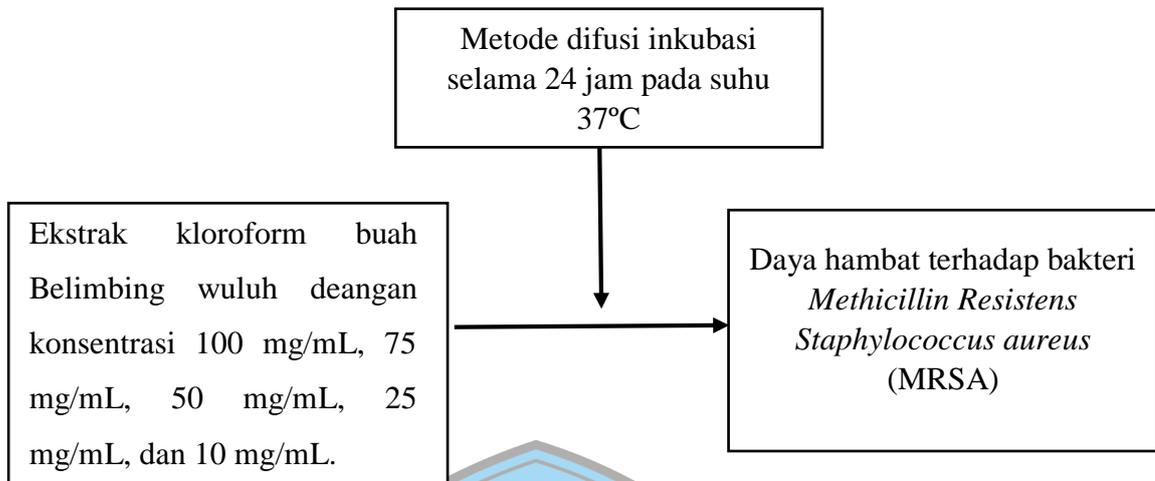
Gambar 3. Skema Kerangka Teori

Keterangan :

→ : Mempengaruhi

— : Terdiri dari

2.9. Kerangka Konsep



Gambar 4. Skema Kerangka Konsep

2.10. Hipotesis

Ekstrak kloroform buah belimbing konsentrasi 100 mg/mL, 75 mg/mL, 50 mg/mL, 25 mg/mL, dan 10 mg/mL dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistens Staphylococcus aureus* (MRSA).