BAB II

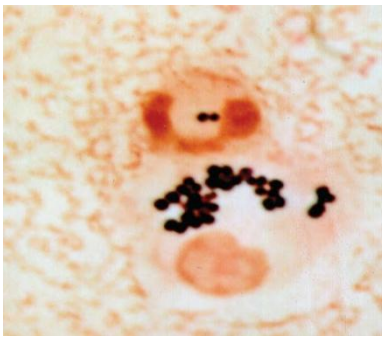
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bakteri *Staphylococcus aureus*

2.1.1 Definisi *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif, bersifat fakultatif anaerob, tidak memiliki spora dan biasanya tersusun tidak beraturan seperti buah anggur. Bakteri ini tumbuh dengan suhu 37ºC, tetapi memiliki pigmen yang baik pada suhu (20-25ºC). Pertumbuhan koloni pada media padat akan berbentuk bulat, menonjol, halus, pigmen berwarna kuning keemasan, dan berkilau. Lebih dari 90% isolat klinik menghasilkan *S.aureus* yang mempunyai kapsul polisakarida atau selaput tipis yang berperan dalam virulensi bakteri (Jawetz *et al*., 2008).

Bakteri *S.aureus* tumbuh dalam suasana anaerob dan pH optimum 7,4. Pada lempeng agar, koloni bulat memiliki diameter sekitar 1-2mm, mengkilat, konsistensi lunak, cembung dan buram. Jika *S.aures* tumbuh pada lempeng agar darah koloni akan lebih besar dan pada varietas tertentu koloninya dikelilingi zona hemodialisis (Sari, 2012)



Gambar 1. Bentuk Mikroskopis *S.aureus* dalam sampel dahak (Lowy, 2014)

http://repository.unimus.ac.id

2.1.2 Klasifikasi S.aureus adalah sebgai berikut :

Domain	: *Bacteria*
Kingdom	: *Eubacteria*
Filum	: *Firmicutes*
Kelas	: *Bacilli*
Ordo	: *Bacillales*
Famili	: *Staphylococcace*
Genus	: *Staphylococcus*
Spesies	: *S.aureus*
Nama binominal	: *Staphylococcus aureus*

(Lowy, 2014)

2.2 Patogenitas

Staphylococcus aureus merupakan flora normal pada kulit, saluran pernafasan, saluran pencernaan makanan pada manusia juga ditemukan di udara dan lingkungan sekitar. *S.aureus* pathogen bersifat *invasive*, menyebabkan hemolisis, membentuk koagulase, dan meragikan manitol. Penyakit infeksi oleh *S.aureus* ditandai dengan adanya kerusakan jaringan yang disertai abses. Beberapa penyakit infeksi yang disebabkan oleh *S.aureus* adalah jerawat, impetigo, bisul, dan infeksi luka paska operasi. Infeksi yang lebih berat diantaranya pneumonia, meningitis, endokarditis, dan osteomielitis. *S.aureus* juga merupakan penyebab utama infeksi nosokomial, keracuanan makanan, dan sindroma syok toksik (Kusuma, 2009).

http://repository.unimus.ac.id

Toksin yang dihasilkan oleh *S.aureus* (staphilotoksin, staphylococcal enterotoxin, dan exfoliatin) memungkinkan organisme ini masuk pada jaringan dan dapat tinggal dalam waktu yang lama pada daerah infeksi, menimbulkan infeksi kulit (Bowersox, 2007). *S.aureus* menyebabkan sindrom infeksi yang luas. Infeksi kulit dapat terjadi pada kondisi hangat yang lembab atau kulit terbuka akibat eksim, luka pembedahan, dan alat intravena (Gillespie, 2008).

Staphylococcus aureus mengandung protein dan polisakarida yang bersifat antigenik dan merupakan substansi yang paling penting dalam struktur dinding sel. Dinding sel tersusun atas makromolekul peptidoglikan yang terletak di luar membran sitoplasmik. Peptidoglikan dirusak oleh lisozim atau asam kuat, hal tersebut sangat penting dalam patogenesis infeksi, karena merangsang pembentukan interleukin-1 (priogen endogen) dan antibodiopsonik, juga dapat menjadi penarik kimia leukosit polimorfonuklear, mempunyai aktifitas mirip endotoksin dan mengaktifkan komplemen (Jawetz *et al*, 2005).

2.3 Enzim Retriksi

Enzim restriksi merupakan protein yang dihasilkan oleh bakteri dan juga merupakan enzim yang berperan memperoleh suatu urutan DNA dengan memotong genom DNA menjadi fragmen dengan cara memotong ikatan fosfodiester pada DNA. Fungsi dari enzim restriksi adalah menjaga sel bakteri dari bakteriofage (Liu, 2007). Ciri utama enzim restriksi yaitu setiap enzim mampu mengenali urutan spesifik molekul DNA yang akan dipotong dan tidak akan memotong daerah lainnya (Fatchiyah *et al*., 2011).

http://repository.unimus.ac.id

Enzim restriksi memiliki tiga tipe yaitu tipe I, tipe II, dan tipe III. Enzim restrikisi tipe I dan III hasil pemotongannya tidak tepat dengan sekuens yang diinginkan maka jarang untuk digunakan, sedangkan enzim restriksi tipe II mampu memotong sekuens yang diinginkan. Salah satu enzim restriksi tipe II adalah *HindIII*, enzim yang diisolasi dari *Haemophielus influenza* yang memotong DNA dengan sekuens pengenal AAGCTT.

2.4 *Metichilin Resisten Staphylococcus aureus* (MRSA)

Penyebab infeksi nosokomial yang telah menyebar luas yaitu *Methicilin Resistant Staphylococcus aures* (MRSA). MRSA merupakan strain dari *Staphylococcus aures* yang resisten terhadap antimikroba golongan β-laktam, diantaranya dari golongan penisilin (Ariami *et al*., 2017). MRSA mengalami resistensi karena perubahan genetik yang disebabkan oleh paparan antibiotik yang tidak rasional (Nurkusuma, 2009). Pada beberapa dekade belakangan, infeksi MRSA meningkat di berbagai dunia. Di Asia, presentase infeksi MRSA mencapai 70%, sedangkan di Indonesia berada pada angka 23,5% pada tahun 2006 (Sulistyaningsih, 2010).

Lebih dari 80% strain *S.aureus* menghasilkan penicilinase, dan *penicillinase-stable* β-laktam seperti Methicilin, cloxacilin, dan fluoxacilin yang telah digunakan sebagi terapi dari infeksi S.aureus selama 35 tahun. Strain yang resisten terhadap golongan penicillin dan β-laktam muncul tidak lama setelah penggunaan agen tersebut untuk pengobatan (Biantoro, 2008). Penularan MRSA adalah melalui kontak langsung orang per orang, biasanya dari orang terinfeksi. Faktor lain resiko terjadinya MRSA diantaranya melalui pemakaian handuk

http://repository.unimus.ac.id

bersama-sama, alat-alat mandi, baju, alat-alat olahraga, alat-alat pengobatan atau ketika adanya wabah yang berasal dari makanan (Anonim, 2005).

Resistensi terhadap bakteri patogen dengan penggunaan antibiotik dalam waktu jangka panjang dapat merugikan penderita yang mengakibatkan bakteri resistensi terhadap antibiotik. Kejadian ini menjadi masalah besar dalam bidang kesehatan. Beberapa bakteri Gram negatif dan Gram positif yang patogen opertunis menjadi resisten terhadap semua antibiotik (Sulistyani, 2013).

2.5 Mekanisme Resistensi MRSA

Mekanisme resistensi MRSA terjadi karena *Staphylococcus aureus* menghasilkan Penicillin Binding Protein (PBP2 dan PBP2a) yang dikode gen mecA terhadap semua golongan antibiotik. Fungsi dari PBP2 yang berhenti karena pemberian β-laktam dikompensasi oleh PBP 2a sehingga sintesis dinding sel pada MRSA berlangsung. Resistensi MRSA terhadap berbagai antimikroba yang diperankan oleh dua kelompok gen diantaranya yaitu gen kelompok utama yang berperan sebagai pendasar resistensi terhadap antimikroba β-laktam dan gen kelompok lainnya resisten terhadap antimikroba non β-laktam (Fuda *et al*., 2004).

Resistensi terhadap β-laktam menjelaskan bahwa *S.aureus* berubah menjadi galur resisten metisilin (*MRSA*) karena mendapatkan elemen DNA yang berukuran 20 – 100 kb disebut *staphylococcus cassette mec* (*SCCmec*). *SSCmec* mengandung gen mecA yaitu gen penyandi PBP2a yang mendasari resistensi MRSA. Resistensi MRSA terhadap metisilin dan antimikroba golongan β-laktam lainnya disebabkan oleh perubahan *protein binding penicillin* (PBP) yang normal disebut PBP 2 menjadi PBP 2a. PBP 2a memiliki afinitas yang rendah terhadap β-

http://repository.unimus.ac.id

laktam sehingga bakteri ini dapat dibiakan pada media yang mengandung β-laktam berkonsentasi tinggi, MRSA tetap hidup dan tumbuh pada dinding sel (Memmi *et al*., 2008).

Menurut Yuwono (2010) tentang mekanisme resistensi terhadap antimikroba non β-laktam diduga didasari dengan adanya bukti SCCmec mengandung transposon dan *insertion sequences* seperti Tn554 diujung 5' mecA dan IS431 diujung 3' mecA. IS431 mampu merekombinasi dan dapat menjadi determinan resisten terhadap merkuri, kadmium dan tetrasikin. Gen penyandi lain berada di sekitar SCCmec seperti halnya dengan gen gyrA yang diperkirakan juga berinteraksi dengan SCCmec yang dapat mengakibatkan resisten terhadap kunolon.

2.6 Aktvasi Gen Resistensi MRSA

Banyak gen penyandi sifat resistensi *S.aureus* yang telah teridentifikasi dan berkarakteristerisasi, diantaranya yaitu mecA (metisilin/oxacilin), blaZ (penisilin G), aacA-D (aminoglikosida), tetK dan tetM (tetrasiklin) (Kumar *et al*., 2010). Resistensi antibiotik diketahui terjadi akibat adanya pengaruh gen mecA pada bakteri *S.aureus.* Secara umum, gen mecA telah diteliti dan diketahui dapat menyebabkan resistensi antibiotik pada bakteri *S.aureus.* Oleh karena itu, perlu diketahui secara spesifik peran dari gen mecA terhadap kerja dari suatu antibiotik (Duarte *et al*., 2011 dalam Prasetio dkk 2016).

Gen mecA mengkode transpeptidase spesifik yang dapat meyebabkan bakteri resisten terhadap penggunaan metisilin. Gen ini juga menghasilkan *Penicilin Binding Protein* (PBP) 2A (Hiramatsu, 2004). Bakteri yang

http://repository.unimus.ac.id

menghasilkan protein ini memiliki kemampuan untuk resisten terhadap semua golongan obat tersebut. Resistensi bakteri gen MRSA dipengaruhi oleh gen mecA yang menghasilkan agen resistensi, dimana golongan antibiotik β-laktamase menjadi golongan yang spesifik dihambat gen mecA sehingga tingkatan resistensi tinggi dari bakteri MRSA tersebut terhadap antibiotik golongan *penicillin* (Prasetio *et al*., 2016). Gen mecA ditemukan sebagian besar di elemen genetik yang aktif disebut SCCmec.

2.7 Plasmid

Plasmid merupakan molekul DNA yang berada pada sitoplasma bakteri dengan ukuran yang bervariasi. Tidak semua plasmid dapat mengkodekan fungsi yang penting untuk pertumbuhan sel tersebut. Plasmid biasanya dinamai sesuai dengan sifat plasmid tersebut, diantaranya plasmid virulensi, plasmid resistensi, plasmid degradatif, sek-plasmid dan Kol-plasmid (Wibowo *et al*., 2011).

Plasmid bakteri yang resisten terhadap antibiotik membawa satu atau lebih gen resisten. Plasmid bakteri merupakan unsur yang memindahkan gen bakteri dari satu bakteri ke bakteri lainnya yang disebut dengan konjugasi gen horizontal. Plasmid bertanggung jawab akan penyebaran dan munculnya resistensi terhadap antibiotik (Kusumawardani *et al*., 2016).

Hubungan plasmid dengan fenotip yaitu plasmid sebagai vektor kloning DNA yang sering digunakan untuk memperbanyak gen target yang mengekspresikan fenotip tertentu seperti kemampuan resistensi terhadap antibiotik, resisten terhadap logam berat, produksi antibiotik, fermentasi gula, produksi enterotoksin, serta mampu untuk menginduksi tumor pada tanaman

http://repository.unimus.ac.id

(Prinrose *et al*., 2001). Menurut Anonim (2000) fenotip dari gen resisten terhadap antibiotika baik digunakan untuk menseleksi sel – sel yang ditransformasi dengan plasmid tersebut dan menseleksi vektornya sendiri yang mengandung DNA rekombinasi. Plasmid juga sebagai alat yang efisien untuk mengamplifikasi kloning DNA karena plasmid memiliki kopi yang banyak per selnya.

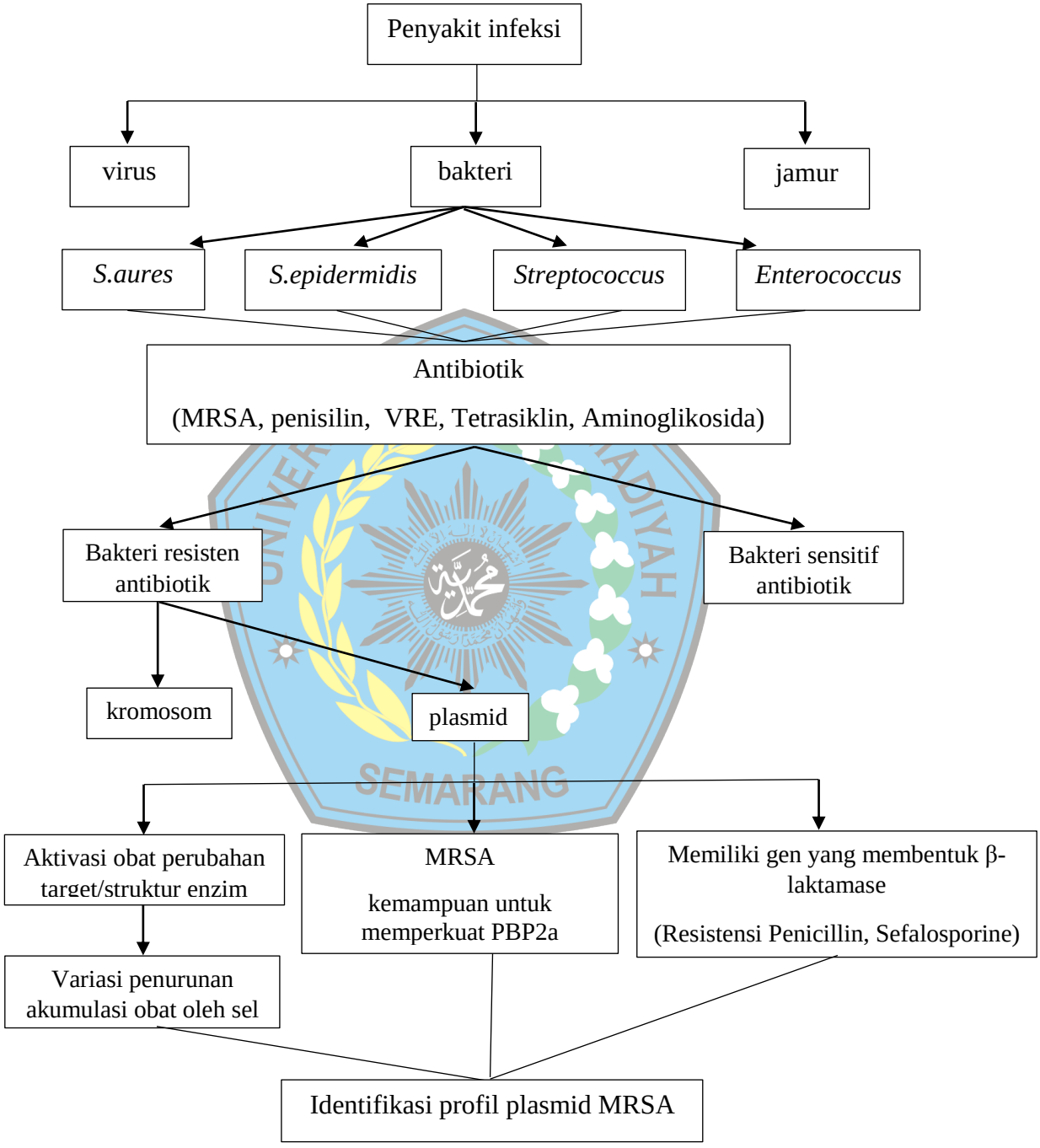
2.8 Elektroforesis

Elektroforesis merupakan teknik pemisahan komponen atau molekul bermuatan berdasarkan perbedaan tingkat migrasi dalam aliran listrik yang disebabkan oleh perbedaan ukuran, berat suatu molekul dan muatan listrik yang dimiliki oleh molekul yang akan dipisah (Yahya *et al*., 2016).

Elekroforesis gel agarosa adalah teknik yang baik dan digunakan secara rutin di laboratorium klinis untuk menganalisis protein dan berbagai cairan biologis (serum, CSF dan urin). Hal tersebut berdasarkan prinsip – prinsip zona elektroforesis. Molekul bermuatan migrasi dalam medium padat direndam dibawah pengaruh medan listrik. Migrasi tergantung pada muatan listrik yang bersih dan massa molekul protein. Pergerakan molekul – molekul yang bermuatan negatif (anion) bergerak menuju kutub positif (anoda), sedangkan molekul bermuatan positif (kation) bergerak menuju kutub negatif (katoda). Hasil dari elektroforesis yaitu elektroforegram. Elektroforesis gel dapat memisahkan campuran molekul DNA menjadi pita – pita yang terdiri dari molekul DNA dengan pnjang yang sama (Giot, 2010).

http://repository.unimus.ac.id

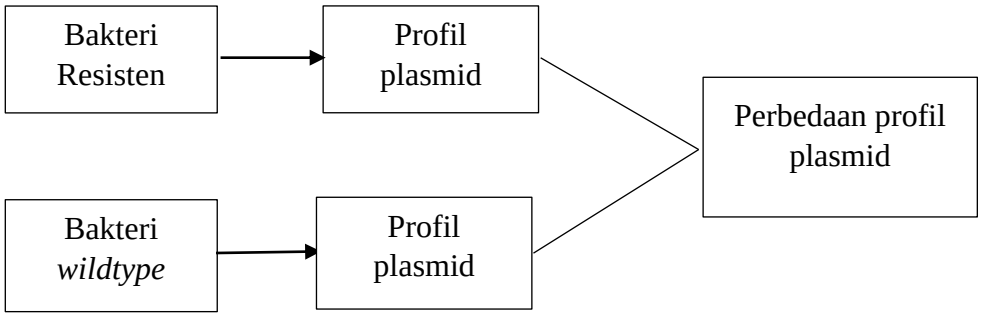
2.9 Kerangka Teori



Gambar 2. Kerangka Teori Profil Plasmid MRSA

http://repository.unimus.ac.id

2.10 Kerangka Konsep



Gambar 3. Kerangka Konsep Profil Plasmid MRSA

http://repository.unimus.ac.id