

BAB II

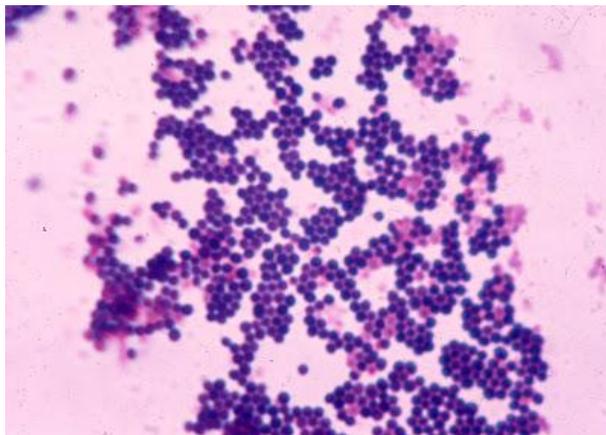
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bakteri *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus adalah bakteri aerob yang bersifat gram positif berbentuk bulat berdiameter 0,7 – 1,2 μm , berbentuk kokus dan tersusun seperti buah anggur, non motil, tidak berspora, mampu membentuk kapsul, dapat tumbuh pada berbagai media aerob dan memproduksi katalase yang merupakan bakteri patogen pada manusia. Bakteri ini tumbuh pada media optimum 37° C, tetapi dapat membentuk pigmen yang baik pada suhu kamar (20-25 ° C) (Prayoga, 2013)

Klasifikasi *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut :

Divisi : Protophyta
Kelas : Schizomycetes
Ordo : Eubacteriales
Famili : Micrococcaceae
Genus : *Staphylococcus*
Spesies : *Staphylococcus aureus*



Gambar 1. Bakteri *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus membentuk pigmen lipochrom yang menyebabkan koloni berwarna kuning keemasan. Protein A termasuk dalam komponen permukaan *S. aureus* yang virulen. Makrokapsul polisakarida pada *S. aureus* yang berfungsi sebagai fagosit dapat mencegah bakteri dari respon peradangan (Dewi, 2013). *S. aureus* mengandung polisakarida antigenik dan protein pada struktur dinding sel. Peptidoglikan, polimer sakarida, yang mengandung subunit-subunit terangkai, merupakan eksosilet yang kaku pada dinding sel (Jawetz, 2008).

2.2 Infeksi

Infeksi menyebabkan kerugian fisik dan finansial. Penyebaran sumber infeksi dapat melalui berbagai perantara atau vektor, yaitu udara, binatang, benda-benda, dan juga manusia. *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu flora normal manusia pada kulit dan selaput mukosa. *Staphylococcus aureus* merupakan patogen utama pada manusia dan hampir setiap orang pernah mengalami infeksi *S. aureus* yang bervariasi dalam beratnya, mulai dari keracunan makanan hingga infeksi kulit yang ringan sampai berat. Jika *S. aureus* menyerang dan terjadi bakterimia, maka kemungkinan bisa terjadi endocarditis, osteomyelitis, hematogenus akut, meningitis, dan infeksi paru-paru (Istiantora, 1995 dalam Triana, 2014).

2.3 Antibiotik

Antibiotik adalah obat yang berasal dari seluruh atau sebagian mikroorganisme dan digunakan untuk mengobati infeksi bakteri. Antibiotik tidak efektif untuk melawan virus (Robert, 2011). Antibiotik sebagai obat untuk menanggulangi penyakit infeksi, penggunaannya harus rasional, tepat dan aman. Penggunaan antibiotik yang tidak rasional akan mengakibatkan dampak negatif, seperti terjadinya kekebalan mikroorganisme terhadap beberapa antibiotik. Penggunaan antibiotik dikatakan tepat apabila efek terapi mencapai maksimal sementara efek toksik yang berhubungan dengan obat menjadi minimum (WHO, 2008).

Antibiotik dibagi menjadi dua tipe, yaitu antibiotik yang bersifat bakteristatik dengan aktivitas menghambat perkembangan bakteri dan memungkinkan sistem kekebalan inangnya mengambil alih sel bakteri yang dihambat. Tipe yang kedua ialah antibiotik yang bersifat bakterisidal yang dapat membunuh bakteri dengan cara menghambat pembentukan dinding sel dan bersifat toksik pada sel bakteri (Laurence & Bennet, 1987 dalam Rina, 2017).

Methicillin resistant Staphylococcus aureus (MRSA) merupakan strain *Staphylococcus aureus* yang telah resisten terhadap aktivitas antibiotik golongan β -laktam, termasuk golongan *penicillinase-resistant penicilline* (*oxacillin*, *methicillin*, *nafcillin*, *cloxacillin*, *dicloxacillin*), *cephalosporin* dan *carbapenem*. Selain itu, resistensi silang juga terjadi pada antibiotik non β -laktam, seperti eritromisin, klindamisin, gentamisin, kotrimoksazol, dan ciprofloxacin (Yuwono, 2012).

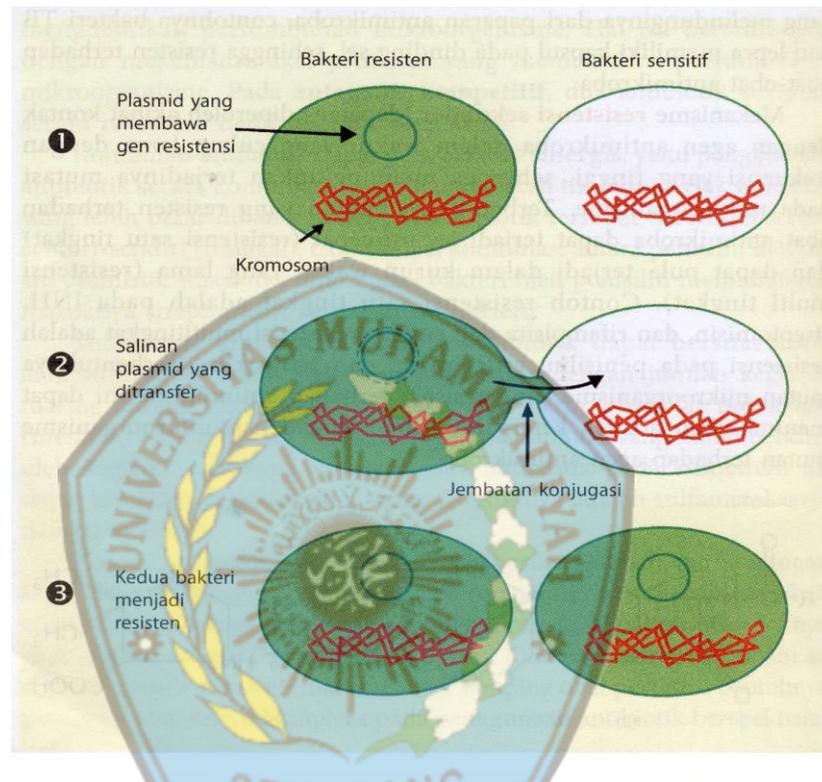
Antibiotik yang digunakan untuk pengobatan akibat infeksi *Staphylococcus aureus* diantaranya yaitu *ciprofloxacin*. *Ciprofloxacin* termasuk antibiotik golongan dari *fluoroquinolones* yang terikat pada subunit β enzim DNA girase, dan memblok aktivitas enzim esensial dalam menjaga supercoiling DNA dan dibutuhkan dalam proses replikasi DNA. Mutasi pada gen pengkode DNA girase memproduksi enzim yang aktif namun tidak dapat diikat oleh *fluoroquinolones* (Pratiwi, 2008).

2.4 Resistensi

Resistensi adalah berkurangnya pengaruh obat anti infeksi terhadap bakteri atau secara alamiah bakteri tidak sensitif terhadap antibiotika (Black, 1999, dalam Wibowo, 2011) diantaranya dengan memperoleh gen resistensi melalui mutasi atau pertukaran plasmid (transfer gen) antar spesies bakteri yang sama. Resistensi muncul karena penggunaan berlebihan dari antibiotik berspektrum luas atau penggunaan antibiotik yang ditujukan pada tanaman dan hewan dalam jangka waktu yang lama sehingga berimbas pada manusia (Mulyani, 2013).

Ada tiga tipe resistensi yang diketahui yaitu resistensi non genetik, resistensi genetik, dan resistensi silang. Resistensi non genetik terdapat pada bakteri dalam keadaan inaktif atau istirahat, resistensi genetik merupakan mutasi gen yang bersifat spontan tanpa dipengaruhi antibakteri, sedangkan resistensi silang adalah resistensi bakteri terhadap suatu antibiotika tertentu dan antibiotika lain yang mempunyai struktur hampir sama (Gan, 1983 dalam Wibowo, 2011). Mekanisme resistensi antibiotik dapat melalui berbagai cara yaitu penurunan

permeabilitas terhadap antibiotik, adanya proses enzimatik, modifikasi letak reseptor obat, dan peningkatan sintesis metabolit terhadap antibiotik (Erviani, 2013).



Gambar 2. Transfer resistensi antibiotik

Resistensi antibiotik diklasifikasikan menjadi dua, yaitu resistensi alami dan resistensi yang didapat. Resistensi alami merupakan resistensi yang tidak aktif terhadap suatu bakteri dan bersifat diturunkan. Resistensi yang didapat apabila bakteri sebelumnya sensitif terhadap suatu antibiotik kemudian berubah menjadi resisten. Terdapat dua mekanisme, yaitu karena adanya mutasi pada kromosom DNA bakteri, dan terdapat materi genetik baru yang spesifik dapat menghambat mekanisme kerja antibiotik (Yulika, 2009).

2.5 Aktivasi gen resistensi *multidrug resisten*

Multidrug resisten yaitu resistensi terhadap dua atau lebih obat maupun klasifikasi obat. Dampak negatif akibat penggunaan antibiotik yang tidak rasional, terlalu sering dan dalam jangka waktu yang lama akan mengakibatkan timbulnya resistensi mikroorganisme terhadap berbagai antibiotik (*multidrug resisten*) (Rina, 2017).

Terdapat beberapa gen penyandi sifat resistensi *Staphylococcus aureus* diantaranya, yaitu blaZ (penisilin G), aacA-D (aminoglikosida), tertK dan terM (tetrasiklin) (Martineau *et al.*, 2000). Gen pengkode penisilinase blaZ dibawa melalui plasmid yang memfasilitasi penyebaran yang cepat antar *Staphylococcus*. Secara struktural gen blaZ mempunyai reseptor gen blaI dan protein sinyal transduser yang disandi oleh blaRI. Gen blaZ mempunyai 4 tipe, yaitu A, B, C dan D yang dapat dibedakan dengan serotyping dan perbedaan dalam hidrolisis substrat beta-laktam tertentu. Tipe A, C dan D berada di plasmid dan tipe B berada di dalam kromosom (Olsen *et al.*, 2006 dalam Aziz, 2016).

2.6 Plasmid

Plasmid adalah elemen genetik DNA yang stabil untuk diturunkan dan bereplikasi secara independen dari kromosom bakteri. Plasmid mempunyai berat molekul dari 1 MDa sampai ratusan MDa. Ukuran plasmid bervariasi, dari 2,1 kb atau berat 1,8 MDa sampai 213 atau berat 142 MDa (Black, 1999 dalam Michael, 2011). Plasmid akan terlihat apabila gen yang dikandungnya memberikan sifat-sifat baru pada inang. Plasmid dinamai sesuai sifat plasmid tersebut, misalnya :

plasmid resistensi, plasmid virulensi, plasmid degradatif, seks-plasmid dan Kol-plasmid. Sel bakteri dapat mempunyai satu jenis atau lebih DNA ekstra kromosomal atau plasmid. Plasmid membawa gen yang penting bagi bakteri tetapi bukan gen yang esensial untuk pertumbuhan dan pembelahan sel bakteri (Nicklin, 1999 dalam Wibowo, 2011).

Faktor penentu resistensi bakteri terhadap antibiotik terdapat pada elemen yang bersifat genetik, yang terdiri dari resistensi kromosomal dan ekstra kromosomal. Resistensi ekstra kromosomal disandi oleh plasmid, dimana plasmid dapat menularkan resistensi kepada bakteri lain. Faktor R adalah kelompok plasmid yang membawa gen resistensi terhadap satu atau beberapa obat antimikrobia dan logam berat. Gen plasmid untuk resistensi untuk antimikrobia mengontrol pembentukan enzim yang mampu merusak antimikrobia (Jawetz *et al.*, 2001 dalam Wasitaningrum, 2009) Analisis plasmid dapat digunakan sebagai sarana memberikan informasi tambahan dalam mendeteksi dan mengavaluasi penyebaran *multidrug resisten* (MDR) (Saputri, 2015).

Secara alamiah bakteri menghasilkan enzim endonuklease untuk mempertahankan dirinya dari keberadaan DNA asing yang masuk kedalam sel bakteri. Jika ada DNA asing yang masuk kedalam sel bakteri melalui proses transfer genetik yang terjadi secara alamiah maka akan mempertahankan dirinya dari keberadaan DNA asing tersebut, sel bakteri melepaskan enzim endonuklease yang dapat memotong DNA asing pada situs yang sangat spesifik dan restriksi. Setiap enzim endonuklease restriksi memiliki situs pengenalan pemotongan yang berbeda dan sangat spesifik. Sekuens basa DNA pada situs pemotongan memiliki

urutan basa yang sama pada untai DNA heliks ganda, yang dikenal dengan sekuens *palindromik*. (Radji, 2011).

Enzim restriksi endonuklease mempunyai tiga tipe, yaitu tipe I, II dan III. Enzim restriksi endonuklease tipe I dan III jarang digunakan, karena hasil pemotongannya tidak tepat pada sekuens yang diinginkan, sedangkan enzim restriksi endonuklease tipe II dapat memotong dekat atau tepat dengan sekuens yang diinginkan. HindIII adalah enzim restriksi endonuklease tipe II yang diisolasi dari *Haemophilus influenza* yang memotong DNA dengan sekuens pengenalan AAGCTT. Sekuens pengenalan merupakan sejumlah urutan basa nitrogen tertentu yang oleh enzim restriksi sebagai bagian yang akan dipotong. Ujung *blunt* atau *flush* menghasilkan fragmen yang double stranded, sedangkan ujung sticky atau kohesif menghasilkan ujung 5' atau ujung 3'. Fragmen DNA yang dipotong dengan enzim restriksi endonuklease dapat ditentukan ukurannya dengan menggunakan teknik elektroforesis gel agarosa (Hirma *et al.*, 2008).

2.7 Elektroforesis DNA

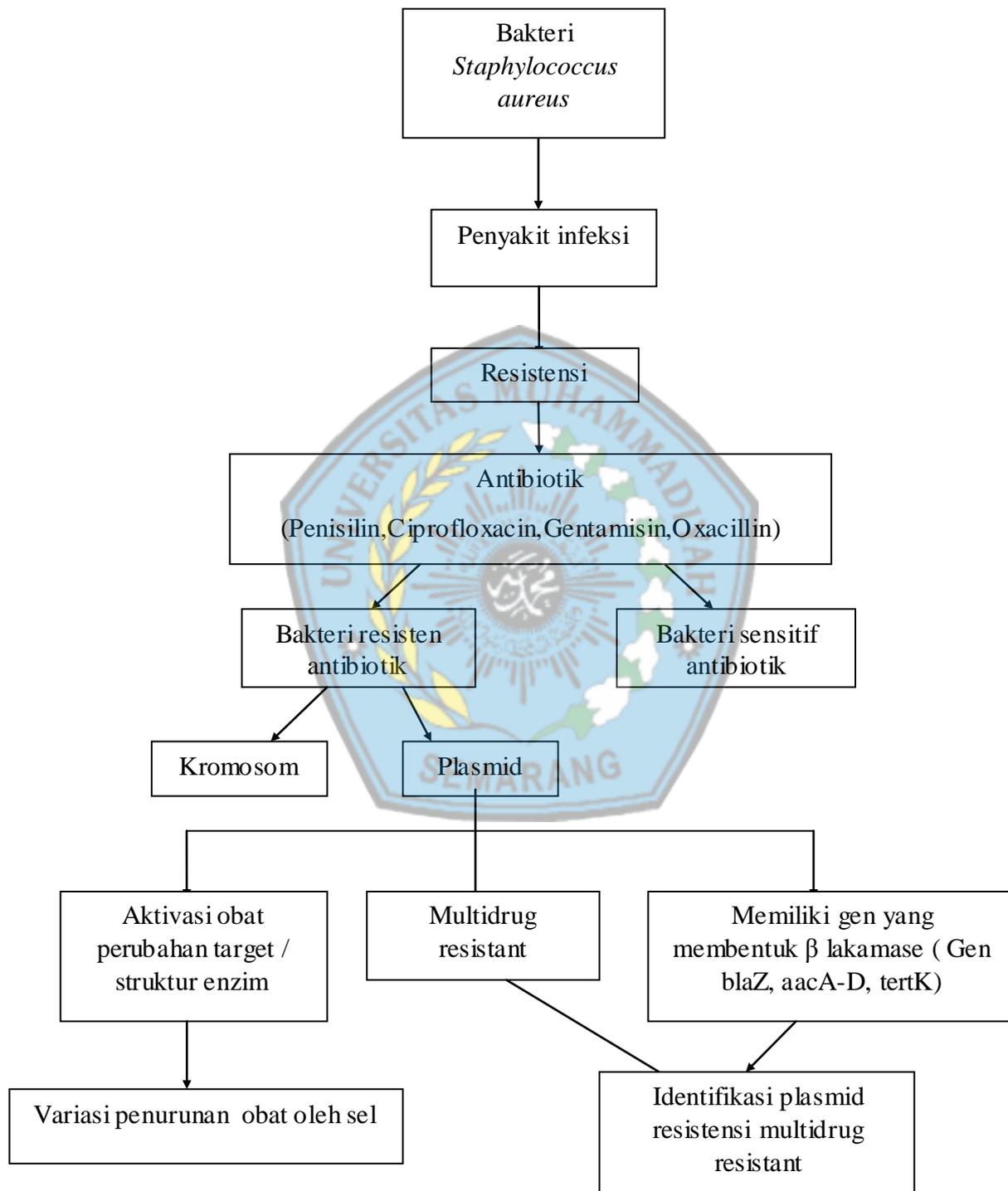
DNA memiliki komponen, yaitu gula pentosa (deoksiribosa), gugus fosfat, dan pasangan basa. Pasangan basa pada DNA terdiri dari dua macam yaitu, basa purin dan pirimidin. Basa purin terdiri dari adenin (A) dan guanin (G) yang memiliki struktur cincin ganda, basa pirimidin terdiri dari sitosin (C) dan timin (T) yang memiliki struktur cincin tunggal. Kemurnian DNA yang dihasilkan akan mempengaruhi hasil yang akan diperoleh nantinya sehingga dibutuhkan teknik isolasi DNA. Langkah untuk mendapatkan DNA plasmid yaitu dengan cara

menumbuhkan sel-sel bakteri yang mengandung plasmid rekombinan, kemudian sel dipanen, dinding serta membran sel dipecah sehingga isi sel (ekstra sel) keluar. Ekstra sel kemudian dipurifikasi sehingga diperoleh DNA plasmid yang murni. DNA plasmid yang telah murni dapat diuji dengan menggunakan metode Elektroforesis (Faatih, 2009).

Elektroforesis adalah suatu proses yang dapat memisahkan atau memigrasikan fragmen DNA pada matriks berpori dibawah pengaruh medan listrik. Pergerakan molekul dalam medan listrik dipengaruhi oleh ukuran, bentuk, besar muatan, dan sifat kimia dari molekul. Elektroforsis dilakukan untuk menentukan keutuhan DNA total. (Dede, 2014).

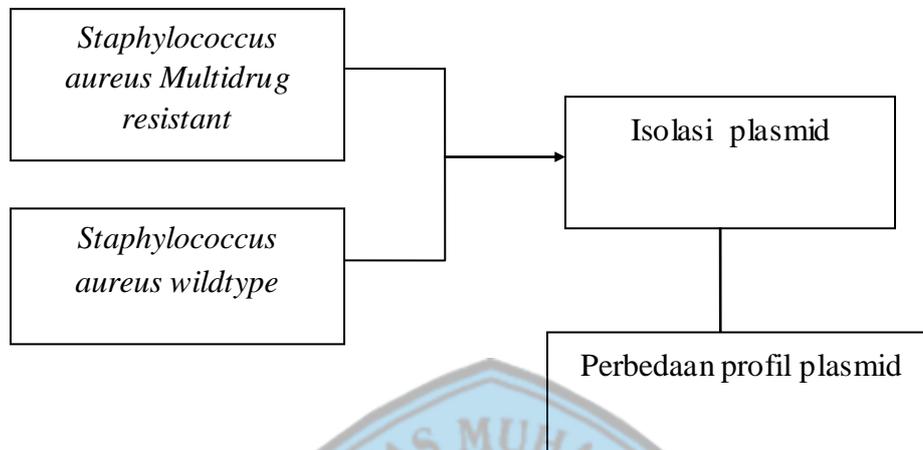
Elektroforesis memiliki prinsip kerja memanfaatkan muatan listrik pada DNA yang bermuatan negatif. DNA yang dialiri arus listrik dari satu kutub ke kutub yang berlawanan muatannya, maka molekul tersebut akan bergerak dari kutub negatif menuju kutub positif (Yuwono, 2005 dalam Hikmatyar, 2015). Hasil uji DNA yang baik dengan elektroforesis ditunjukkan dengan pita DNA yang tebal dan tampak sedikit atau tidak ada *smear* jika divisualisasikan di atas sinar Ultraviolet (Sauer *et al*, 1998 dalam Hikmatyar, 2015)

2.8 Kerangka Teori



Gambar 3. Kerangka teori Profil Plasmid pada *S. aureus Multidrug resistant*

2.9 Kerangka Konsep



Gambar4. Kerangka konsep Profil Plasmid pada *Staphylococcus aureus* Multidrug resistant