

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

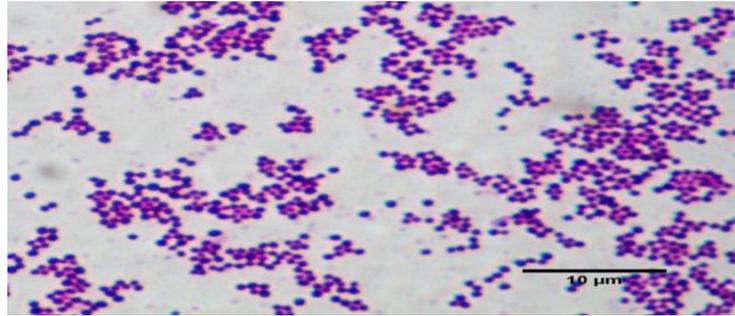
2.1. *Staphylococcus aureus*

2.1.1 Taksonomi (Garrity, et al., 2007)

Kingdom	: Eubacteria
Division	: Firmicutes
Class	: Bacili
Order	: Bacillales
Family	: Staphylococaceae
Genus	: Staphylococcus
Species	: <i>Staphylococcus aureus</i>

2.1.2 Morfologi

S. aureus merupakan bakteri gram (+) berbentuk bulat, tersusun dalam kelompok-kelompok tidak teratur seperti buah anggur, berdiameter 0,8-12 μm , mudah tumbuh pada media pertumbuhan dalam keadaan aerob tidak berspora 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 (Jawetz *et al.*, 2008).



Gambar 1. Morfologi Bakteri *Staphylococcus aureus* (Todar, 2008)

2.1.3 Faktor virulensi

Berbagai zat yang berperan sebagai faktor virulensi dapat berupa protein termasuk enzim dan toksin :

a. Katalase

Katalase adalah enzim yang dapat memecah H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 . Hasil positif jika ada gelembung-gelembung gas setelah ditetesi H_2O_2 3%. Tes adanya aktivitas katalase menjadi pembeda genus *Staphylococcus* dari *Streptococcus* (Tirnata, 2007)

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 (Tirnata, 2007).

c. Hemolisin

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

d. Leukosidin

Toksin ini dapat mematikan sel darah putih pada beberapa hewan. Tetapi perannya dalam fagositosis pada manusia tidak jelas, karena *Staphylococcus* patogen tidak dapat mematikan sel-sel darah putih manusia dan dapat difagosit (Jawetz *et al.*, 2008).

e. Enterotoksin

Enterotoksin adalah enzim yang tahan panas dan tahan terhadap suasana basa di dalam usus. Enzim ini merupakan penyebab utama dalam keracunan makanan, terutama pada makanan yang mengandung karbohidrat dan protein (Arif *et al*, 2000)

2.2 *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)

S. aureus pertama kali menjadi patogen penting rumah sakit pada tahun 1940-an. Pengobatan infeksi ini menggunakan penisilin G (benzil penisilin) merupakan antimikroba golongan β -lactam. Satu dekade kemudian muncul strain resisten penisilin. Strain ini menginaktivasi antimikroba yang memiliki cincin enzim β -lactam. Enzim ini menghidrolisis ikatan amida siklik yang berikatan dengan cincin β -lactam sehingga menimbulkan hilangnya aktivitas antibakterisidal antimikroba tersebut, oleh karena itu dikembangkanlah usaha untuk mendapatkan obat yang tahan terhadap β -lactamase (Salmenlina, 2002).

Metisilin merupakan penisilin modifikasi yang diperkenalkan pada tahun 1960-an. Antibiotik ini digunakan untuk mengobati infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap sebagian besar penisilin. Pada tahun 1961 strain *S. aureus* yang resisten terhadap metisilin ditemukan (Jutti, 2004). Faktor-faktor resiko terjadinya MRSA antara lain lingkungan, populasi, kontak olahraga, kebersihan individu, riwayat perawatan, riwayat operasi, riwayat infeksi dan penyakit, riwayat pengobatan, serta kondisi medis (Biantoro, 2008).

Ditemukan adanya kejadian MRSA maupun infeksi luka operasi karena bakteri lainnya di rumah sakit besar di Indonesia termasuk di bangsal perawatan pasien bedah (Nurkusuma, 2009). Data dari Pusat Program Surveilans Antimikroba juga menunjukkan terjadinya peningkatan MRSA di antara *Staphylococcus aureus* yang diisolasi dari pasien Intensive Care Unit (ICU) di seluruh dunia.

Beberapa antibiotik yang telah resisten terhadap MRSA :

1. Penisilin

Saat ini diketahui lebih dari 90 isolat *S. aureus* memproduksi penisilinase. *Staphylococcus* yang resisten terhadap penisilin dimediasi oleh *blaZ*. Gen ini mengkode enzim yang disintesis ketika *S. aureus* diberikan antibiotik β -lactam. Enzim ini mampu menghidrolisis cincin β -lactam, yang menyebabkan terjadinya inaktivasi β -lactam (Lowy, 2003).

2. Metilisin

Resistensi metisilin terjadi karena adanya perubahan protein pengikat penisilin (PBP). Hal ini disebabkan karena gen *mecA* mengkode 78 –kDa

penicilin pengikat protein 2a (PBP2a) yang memiliki afinitas yang kecil terhadap semua antibiotik β -lactam. Hal ini memudahkan *S. aureus* bertahan pada konsentrasi yang tinggi dari zat tersebut, resistensi terhadap metisilin menyebabkan 12 resistensi terhadap semua agen β -lactam, termasuk cephalosporin (Juuti, 2004).

3. Kuinolon

Fluorokuinolon pertama kali dikenalkan untuk pengobatan infeksi bakteri gram positif pada tahun 1980. Resistensi terhadap fluorokuinolon sangat cepat dibandingkan dengan resisten terhadap metisilin. Hal ini menyebabkan kemampuan fluorokuinolon sebagai anti bakteri menurun. Resistensi terhadap fluorokuinolon berkembang sebagai hasil mutasi kromosomal spontan dalam target terhadap antibiotik atau dengan induksi pompa effluks berbagai obat (Lowy, 2003).

4. Vankomisin

Vankomisin menjadi meningkat penggunaannya untuk mengobati Infeksi yang disebabkan oleh MRSA. Pada tahun 1997, laporan pertama vankomisin Intermediet Resisten *S. aureus*, dilaporkan di Jepang, dan berkembang di negara lain. Penurunan sensitifitas vankomisin terhadap *S. aureus* terjadi karena adanya perubahan dalam biosintesis peptidoglikan bakteri tersebut (Lowy, 2003).

5. Kloramfenikol

Resistensi terhadap kloramfenikol disebabkan karena adanya enzim yang menginaktivasi kloramfenikol dengan mengkatalisis proses asilasi terhadap

gugus hidroksi dalam kloramfenikol menggunakan donor gugus etil berupa asetil koenzim A. Akibatnya dihasilkan derivat asetoksi kloramfenikol yang tidak mampu berikatan dengan ribosom bakteri (Lowy, 2003).

2.3 Faktor Pertumbuhan bakteri

2.3.1 Nutrien

Semua bakteri memerlukan nutrisi yang tepat, dimana bakteri membutuhkan sumber karbon, nitrogen belerang, fosfor dan mineral. Kekurangan sumber dapat menyebabkan kematian pada bakteri (Pratiwi, 2008).

2.3.2 Konsentrasi Ion Hidrogen

Kebanyakan organisme dapat tumbuh dengan baik pada pH 6,0-8,0 meski beberapa organisme yang lain memiliki pH optimal serendah 3,0 dan pH optimal setinggi 10,5 (Jawetz *et al*, 2008).

2.3.3 Suhu

Bakteri digolongkan menjadi tiga bagian besar berdasarkan perbedaan suhu tumbuh, yaitu hidup di udara dingin (*psychrophilic*) pada suhu 15-20 °C. Hidup di udara bersuhu sedang (*mesophilic*) pada suhu 30-37° C dan hidup di udara panas (*thermophilic*) pada suhu 50-60° C (Jawetz *et al*, 2008).

2.3.4 Oksigen

Berdasarkan kebutuhan O₂ mikroorganisme dibagi menjadi dua yaitu, aerob dan anaerob. Mikroorganisme aerob memerlukan O₂ untuk bernafas yaitu O₂ digunakan sebagai syarat utama untuk metabolisme, sedangkan mikroorganisme anaerob tidak memerlukan dan tidak mentoleransi adanya O₂ untuk bernafas (Lutfihani, Aizar & Purnomo, 2015).

2.3.5 Kekuatan Ionik dan Tekanan Osmotik

Faktor-faktor pertumbuhan bakteri seperti tekanan osmotik dan konsentrasi garam harus dikontrol. Bakteri memperoleh semua nutrisi dari cairan disekitarnya, bakteri membutuhkan air untuk pertumbuhan. Organisme membutuhkan konsentrasi garam tinggi disebut halofilik. Organisme yang membutuhkan tekanan osmotik tinggi disebut osmolofik.

2.4 Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L)

Belimbing wuluh merupakan salah satu spesies dalam keluarga belimbing (*Averrhoa*). Tanaman ini berasal dari Amerika Tripok. Tanaman ini tumbuh baik di negara asalnya sedangkan di Indonesia banyak dipelihara di pekarangan kadang-kadang tumbuh secara liar di ladang atau tepi hutan (Thomas, 2007).



Gambar 2. Buah Belimbing Wuluh (Dokumen Pribadi)

Belimbing wuluh merupakan tanaman berbentuk pohon kecil, tinggi mencapai 10 % dengan batang yang tidak begitu besar dan mempunyai garis tengah hanya sekitar 30 cm. Ditanam sebagai pohon buah, kadang tumbuh liar dan ditemukan dari dataran rendah sampai 500 m. Belimbing wuluh mempunyai batang kasar berbenjol-benjol, percabangan sedikit yang cenderung naik ke atas.

Cabang muda berambut halus seperti beludru, warnanya coklat muda. Daun berupa daun majemuk menyirip ganjil dengan 21-45 pasang anak daun, puncak daun berwarna coklat muda. Anak daun bertangkai pendek bentuknya bulat telur sampai lonjong, ujung runcing, pangkal membulat, tepi rata, panjang 2-10 cm, lebar 1-3 cm warnanya hijau. Perbungaan berupa malai, berkelompok, keluar dari batang atau percabangan yang besar, bunga kecil-kecil berbentuk bintang warnanya ungu kemerahan. Buah belimbing wuluh berbentuk bulat lonjong persegi hingga seperti torpedo, panjangnya 4-10 cm. Warna buah ketika muda hijau dengan sisa kelopak bunga menempel pada ujungnya. Apabila buah sudah masak maka buah berwarna kuning atau kuning pucat, daging buahnya berair banyak dan rasanya asam. Kulit buahnya berkilat dan tipis dan biji bentuknya bulat telur (Iptek, 2007; Anonymous, 2007).

2.4.1 Taksonomi

Taksonomi Belimbing Wuluh (Muhlisan, 2007)

Kingdom	: Plantae
Division	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Order	: Geraniales
Family	: Oxalidaceae
Genus	: <i>Averrhoa</i> Adans
Species	: <i>A. bilimbi</i> L.

2.4.2 Kandungan Kimia

Buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) mengandung banyak vitamin C alami yang dapat digunakan sebagai penambah daya tahan tubuh dan perlindungan terhadap berbagai penyakit. Belimbing wuluh mempunyai kandungan unsur kimia yang disebut asam oksalat dan kalium. Buah belimbing diketahui positif mengandung senyawa golongan flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin (Samad, 2008)

Senyawa flavonoid dan saponin adalah senyawa kimia yang berfungsi merusak membran sitoplasma yang menyebabkan bocornya metabolit penting dan menginaktifkan sistem enzim bakteri (Ardananuridin, Winarsih & Widayat, 2004). Kemudian alkaloid berperan dalam mengganggu komponen penyusun sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh yang menyebabkan sel bakteri mudah mengalami lisis (Anggraini, Febrianti & Ismanto, 2016).

Mekanisme kerja tanin sebagai anti bakteri adalah mampu mengerutkan dinding sel bakteri sehingga dapat mengganggu permeabilitas sel. Terganggunya permeabilitas sel dapat menyebabkan sel tersebut tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat dan karena pengerutan dinding sel bakteri menyebabkan bakteri mati (Anggraini & Saputra, 2016).

2.4.3 Manfaat buah Belimbing Wuluh

A. *bilimbi* telah digunakan dalam pengobatan tradisional untuk mengobati berbagai penyakit. Infus dan desinfeksi daun digunakan sebagai obat pelindung antibakteri, antiscorbutic, astringent, postpartum, dalam pengobatan demam, radang rektum, dan diabetes. Pasta daun digunakan dalam pengobatan gatal, bisul,

letusan kulit, gigitan makhluk beracun, rematik, batuk, dingin, gondok, dan sifilis (Samuel *et al*, 2010). Buah dengan sedikit ditambahkan garam dioleskan pada wajah untuk mengobati jerawat. Jus buah digunakan dalam pengobatan penyakit kudis, batuk rejan, hipertensi, obesitas, dan diabetes (Alsarhan *et al*, 2012).

Di kalangan masyarakat belimbing wuluh ternyata sangat populer, bahkan melebihi belimbing manis. Perasan air buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) sangat baik untuk asupan kekurangan vitamin C. banyak hasil penelitian yang menyebutkan potensi suatu 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 relative murah (Parkesit, 2011).

Ada yang memanfaatkan buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) untuk dibuat manisan dan sirup, sebagai obat untuk sariawan, sakit perut, gondongan, rematik, batuk rejan, gusi berdarah, sakit gigi berlubang, memperbaiki fungsi pencernaan, untuk membersihkan noda pada kain, menghilangkan bau amis, sebagai bahan kosmetik serta mengkilapkan barang-barang yang terbuat dari kuningan.

2.5 Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan sari pekat tumbuh-tumbuhan atau hewan yang diperoleh dengan cara melepaskan zat aktif dari masing-masing bahan obat menggunakan pelarut yang cocok, diuapkan semua atau hampir semua dari pelarutnya dan sisa endapan dari serbuk diatur untuk ditetapkan standarnya. Proses ekastraksi akan dipengarui oleh sifat pelarut yang digunakan dan pemilihan

pelarut ditentukan oleh kelarutan bahan volatil dan kemudian pemisahan pelarut. Suatu senyawa akan mudah larut dalam pelarut yang mempunyai polaritas yang sama atau mirip dengan senyawa zat tersebut (Iman, 2009).

Dalam metode ekstraksi dari bahan alam dikenal suatu metode maserasi. Maserasi merupakan cara ekstraksi yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam pelarut. Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif sehingga zat aktif akan larut (Ahmad, 2006).

Ekstraksi dapat menggunakan macam-macam pelarut salah satunya adalah metanol. Metanol merupakan senyawa hidrokarbon dengan gugus fungsi berupa hidroksil (OH) yang termasuk ke dalam golongan alkohol. Senyawa ini adalah bentuk alkohol yang paling sederhana dengan rumus molekul CH_3OH , berat molekul 32,04 g/mol dan titik didih $64,5^\circ \text{C}$ (147°F). Zat ini bersifat ringan, mudah menguap, tak berwarna, mudah terbakar, beracun dan berbau khas (Kraut, 2008). Metanol juga dikenal sebagai metil alkohol, wood alcohol atau spiritus. Menurut Kusumaningtyas *et al.*, (2008) metanol merupakan pelarut polar yang dapat melarutkan senyawa-asenyawa yang bersifat polar seperti golongan fenol.

Saponin pada umumnya berada dalam bentuk glikosida sehingga cenderung bersifat polar (Harbone, 1987). Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang dapat menimbulkan busa jika dikocok dalam air. Hal tersebut terjadi karena saponin memiliki gugus polar dan non polar yang akan membentuk misel. Pada saat misel terbentuk maka gugus polar akan menghadap ke luar dan gugus

nonpolar menghadap ke dalam dan keadaan inilah yang tampak seperti busa (Robinson, 1991; Santi dkk., 2008).

Flavonoid umumnya lebih mudah larut dalam air atau pelarut polar dikarenakan memiliki ikatan dengan gugus gula (Markham, 1988). Flavonoid terutama berupa senyawa yang larut dalam air dan senyawa aktifnya dapat diekstraksi dengan etanol 70% (Harbone 1987).

Alkaloid dapat tertarik pada pelarut etanol karena senyawa alkaloid bersifat polar. Reaksi positif yang terjadi pada uji alkaloid adalah terbentuknya endapan jingga pada pereaksi dragendorff dan endapan kuning pada pereaksi mayer, hal tersebut terjadi karena adanya reaksi penggantian ligan. Alkaloid yang memiliki atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas dapat mengganti ion iodo dalam pereaksi-pereaksi tersebut (Santi dkk., 2008).

Golongan tanin yang merupakan senyawa fenolik cenderung larut dalam air sehingga cenderung bersifat polar (Harbone, 1987). Pengujian tanin menunjukkan bahwa tanin yang terkandung di dalam ekstrak etanol merupakan tanin kondensasi karena terbentuk warna hijau kehitaman setelah ditambahkan dengan $FeCl_3$ (Santi dkk., 2008).

Pemilihan pelarut untuk ekstraksi harus mempertimbangkan banyak faktor. Pelarut harus memenuhi syarat-syarat sebagai berikut : murah dan mudah diperoleh, bereaksi netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, selektif dan tidak mempengaruhi zat berkhasiat (Ahmad, 2006).

2.6 Aktivitas Antibakteri

Bahan antibakteri diartikan sebagai bahan yang mengganggu pertumbuhan dan metabolisme bakteri, sehingga bahan tersebut dapat menghambat pertumbuhan atau bahkan membunuh bakteri. Cara kerja bahan antibakteri antara lain dengan merusak dinding sel, merubah permeabilitas sel, merubah molekul protein dan asam nukleat, menghambat kerja enzim serta menghambat sintesis asam nukleat dan protein (Lenny, 2006). Pemakaian antibakteri yang berlebihan menyebabkan mikroba yang semula sensitif terhadap antibiotik menjadi resisten. Oleh karena itu, senyawa antibakteri diperlukan untuk mengatasi bakteri resisten tersebut (Lenny, 2006).

Davis Stout dan Arsiansyah (2005) mengemukakan bahwa ketentuan kekuatan antibakteri adalah sebagai berikut :

1. Daerah hambata 21 mm atau lebih berarti sangat kuat
2. Daerah hambatan 10-20 mm berarti kuat
3. Daerah hambatan 5 mm atau kurang berarti lemah.

Penentuan kepekaan bakteri patogen terhadap antimikroba dapat dilakukan dengan salah satu dari dua metode pokok yakni dilusi atau difusi. Penting sekali untuk menggunakan metode standar untuk mengendalikan semua faktor yang mempengaruhi aktivitas antimikroba (Jawetz et al., 2008).

a. Metode Dilusi

Metode ini menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap, baik dengan media cair atau padat. Kemudian media diinokulasi bakteri uji dan dieramkan. Tahap akhir metode ini, antimikroba dilarutkan

dengan kadar yang menghambat atau mematikan. Uji kepekaan cara dilusi agar memakan waktu dan penggunaannya dibatasi pada keadaan tertentu saja. Uji kepekaan cara dilusi cair dengan menggunakan tabung reaksi, tidak praktis dan jarang dipakai, namun kini ada cara yang lebih sederhana dan banyak dipakai, yakni menggunakan microdilution plate (Jawetz et al., 2008).

b. Metode Difusi

Metode yang paling sering digunakan adalah metode difusi agar. 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 disekitar sumuran (Pratiwi, 2008).

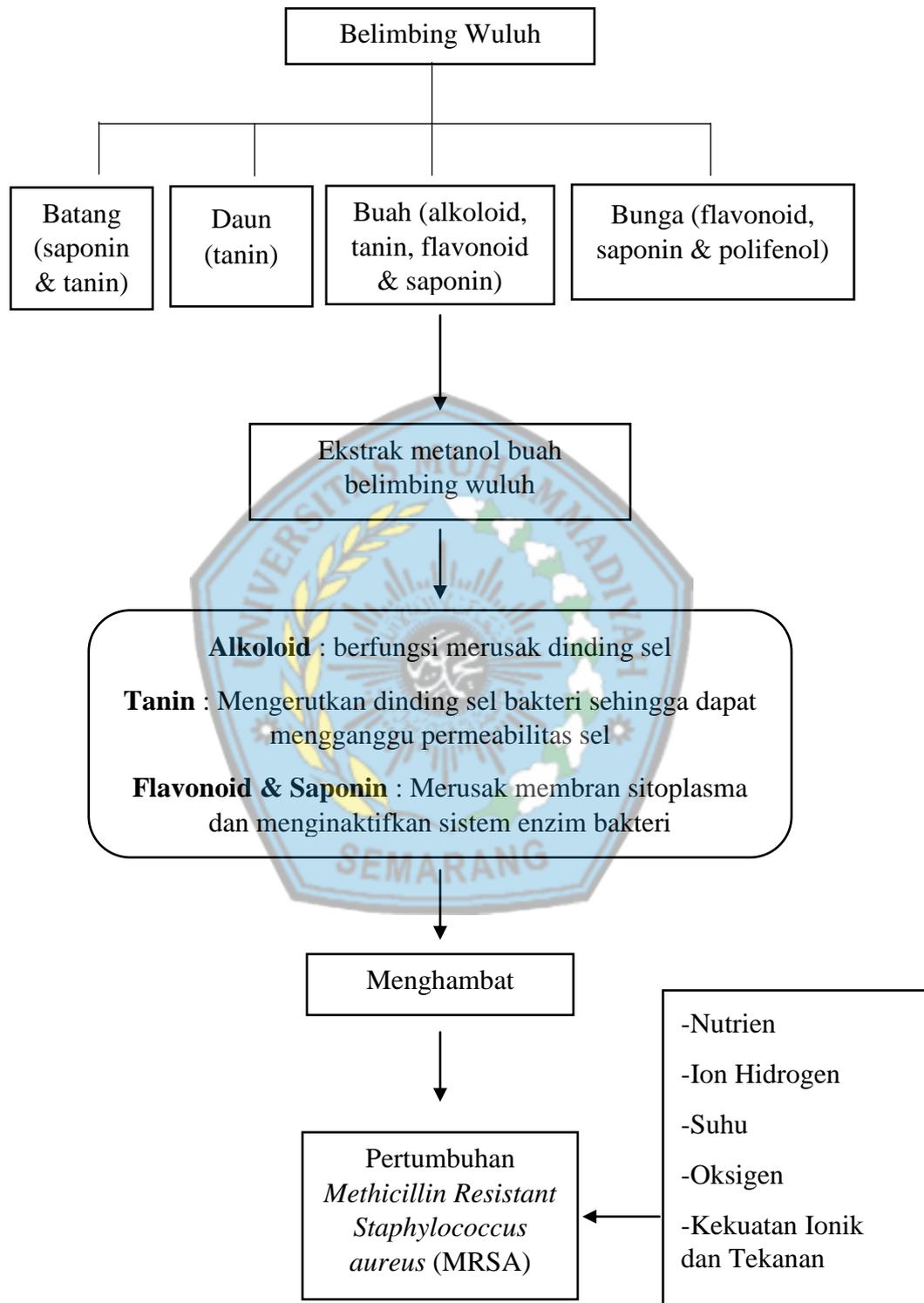
2.7 *Minimum Inhibitor Concentration (MIC) dan Minimum Bactericidal Concentration (MBC)*

MIC dari ekstrak tumbuhan ditentukan secara steril menggunakan microwell 96 sumuran dengan metode microdilution kaldu (Clinical and Laboratory Standards Institute, M07-A9). Tujuan dari metode microdilution kaldu adalah untuk menentukan konsentrasi terendah dari agen antimikroba yang diuji (konsentrasi penghambatan minimal, MIC dan MBC) menghambat pertumbuhan bakteri yang diamati yang sedang diselidiki. Nilai MIC digunakan untuk menentukan kerentanan bakteri terhadap obat dan juga untuk mengevaluasi aktivitas agen antimikroba baru. Media pengenceran melibatkan penggabungan konsentrasi yang berbeda dari ekstrak dalam

medium agar nutrien (MH Broth), bakteri diinokulasi ke media pertumbuhan dengan adanya konsentrasi yang berbeda dari agen antimikroba. Pertumbuhan dinilai setelah inkubasi selama jangka waktu tertentu (16–20 jam) dan nilai MIC dibaca (Kahlmeter, 2003). MBC ditentukan dengan cara mensubkultur tes MIC menggunakan media BAP. MBC didefinisikan sebagai konsentrasi terendah dari ekstrak yang tidak memungkinkan pertumbuhan apa pun (Irobi, 1994).

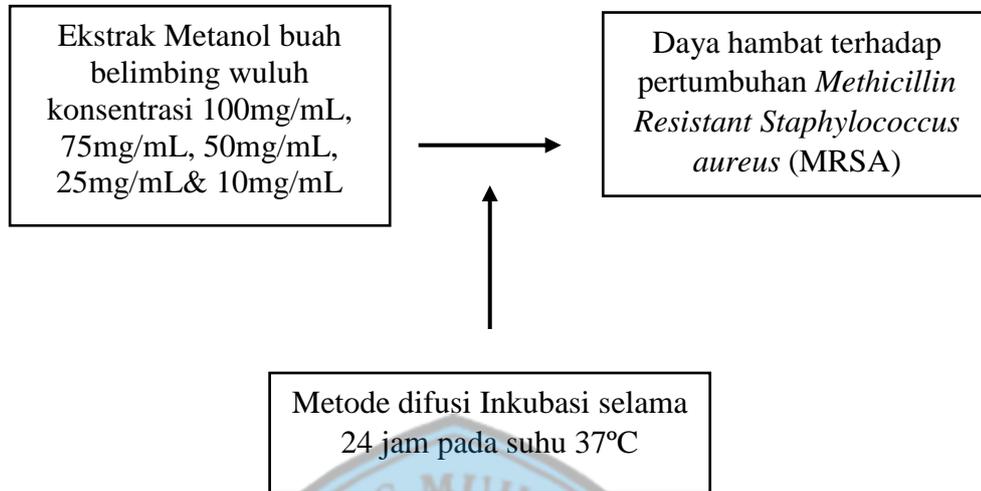


2.8 Kerangka Teori



Gambar 3. Kerangka Teori

2.9 Kerangka Konsep



Gambar 4. Kerangka Konsep

2.10 Hipotesis

Ekstrak metanol buah belimbing wuluh dengan konsentrasi 100 mg/mL, 75 mg/mL, 50 mg/mL, 25 mg/mL dan 10 mg/mL. mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).