

## BAB 2

## TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif berbentuk kokus yang hidup secara individu, berpasangan, maupun bergerombol (Tolan, 2012). Kebanyakan bakteri ini tidak berbahaya dan secara normal berada di saluran nafas, kulit dan membran mukosa pada manusia dan organisme lain. Bahkan sebagian bakteri *Staphylococcus* merupakan komponen mikroba dari flora tanah (Madigan *et al.*, 2006). Meskipun *S. aureus* tidak selalu patogenik, bakteri ini merupakan penyebab paling umum infeksi kulit, penyakit pernafasan, dan racun pada makanan (Mitchell *et al.*, 2012).

2.1.1 Taksonomi *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus* adalah genus dari bakteri Gram positif. Genus *Staphylococcus* terdiri dari 40 spesies. Sembilan jenis di antaranya memiliki dua subspecies dan satu jenis memiliki tiga subspecies (Harris *et al.*, 2002). Berikut adalah taksonomi dari bakteri *S. aureus*

Domain	: <u>Bacteria</u>
Kingdom	: <u>Eubacteria</u>
Phylum	: <u>Firmicutes</u>
Kelas	: <u>Bacilli</u>
Ordo	: <u>Bacillales</u>
Family	: <u>Staphylococcaceae</u>
Genus	: <u>Staphylococcus</u>
Species	: <i>Staphylococcus aureus</i> (Domrachev <i>et al.</i> , 2008)

## 2.1.2 Karakteristik Bakteri

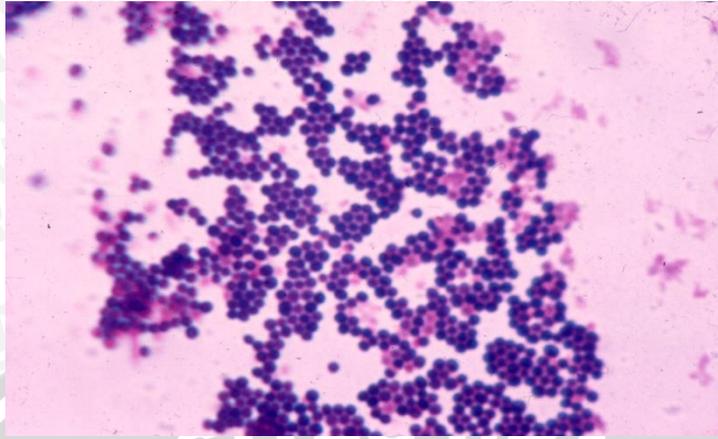
### 2.1.2.1 Ciri-ciri *Staphylococcus aureus*

*S. aureus* merupakan bakteri gram positif, tidak bergerak, tidak berspora dan mampu membentuk kapsul. Pada pemeriksaan mikroskopis, bakteri ini berbentuk bulat (kokus) dan bergerombol seperti anggur (Nickerson *et al.*, 2009). *S. aureus* memiliki diameter 0,5 hingga 1,0 mm dengan koloni berwarna kuning apabila ditumbuhkan pada media agar seperti yang terlihat pada Gambar 2.1.



**Gambar 2.1 Koloni *Staphylococcus aureus* pada Media *Blood Agar* (Siegrist, 2011)**

Langkah awal yang direkomendasikan untuk mengidentifikasi bakteri ini adalah melihat bentuknya di bawah mikroskop dan pewarnaan Gram (Siegrist, 2011). Pada pewarnaan Gram, bakteri *S. aureus* akan memperlihatkan warna biru atau ungu akibat mempertahankan zat warna kristal violet (Madigan *et al.*, 2006) seperti yang terlihat pada Gambar 2.2. Hal ini terjadi karena struktur dinding sel dari *S. aureus* yang mengandung peptidoglikan sekitar 90% dan sedikit kandungan lemak (Cooper and Hausman, 2007). Langkah berikutnya adalah menggunakan tes katalase dan tes imunologis (Siegrist, 2011).



**Gambar 2.2** Morfologi *Staphylococcus aureus* dengan Pewarnaan Gram x1000 (Hogan, 2011)

#### 2.1.2.2 Biakan

*S. aureus* adalah bakteri anaerob fakultatif yang dapat hidup pada media yang mengandung 7,5%-10% NaCl dan dapat tetap terlihat selama beberapa bulan pada media agar yang disimpan pada suhu 4° C (Ryan and Ray, 2004). *S. aureus* dapat hidup pada rentang suhu antara 6.5° C hingga 46° C dan pH 4.2-9,3. Namun, suhu optimum untuk pertumbuhan *S. aureus* adalah 35°-37° C dan pH optimum 7,0-7,5 (Food Doctors, 2008).

Pada umumnya *staphylococcus* dapat tumbuh pada medium seperti *Nutrient Agar Plate* (NAP) dan *Blood Agar Plate* (BAP) (Harris, 2002). NAP merupakan medium yang penting untuk mengetahui adanya pembentukan pigmen *S. aureus* yang berwarna kuning keemasan. Koloni yang tumbuh berbentuk bulat (1-2 mm), konveks dengan tepi rata, permukaan mengkilat dan konsistensinya lunak. Sedangkan BAP merupakan medium yang dipakai secara rutin. Koloni akan tampak lebih besar dan pada galur ganas biasanya memberikan zona hemolisa yang jernih (Brooks *et al.*, 2007).

*S. aureus* membutuhkan asam nikotinat dan thiamin untuk tumbuh. Pada keadaan anaerobik, bakteri ini juga membutuhkan urasil. Untuk pertumbuhan

optimum diperlukan sebelas asam amino yaitu valin, leusin, threonin, fenil alanin, tirosin, sistein, metionin, lisin, prolin, histidin dan arginin. Bakteri ini tidak dapat tumbuh pada media sintetik yang tidak mengandung asam amino atau protein (Madigan, 2008).

### 2.1.2.3 Sifat Pertumbuhan

*S. aureus* bereproduksi secara aseksual dengan *binary fusion*. Kedua anak tidak dapat berpisah secara penuh dan tetap melekat satu sama lain. Hal ini lah yang menyebabkan *S. aureus* terlihat bergerombol (Kraus and Preschel, 2006).

*Staphylococcus* memfermentasikan banyak karbohidrat secara lambat, menghasilkan asam laktat tetapi tidak menghasilkan gas. Aktivitas proteolitik pada masing-masing jenis sangat bervariasi. *Staphylococcus* relatif resisten terhadap pengeringan, panas (tahan pada suhu 50°C selama 30 menit) serta natrium klorida 9% tetapi mudah dihambat oleh bahan kimia tertentu, seperti heksaklorofen 3%. Bakteri ini juga dapat memfermentasikan manitol menjadi asam dan toleran terhadap media dengan 7,5% NaCl sehingga terdapat perubahan indikator pH dari merah menjadi kuning seperti terlihat pada Gambar 2.3.



**Gambar 2.3** Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada *Mannitol Salt Agar* (Brooks et al., 2007)

### 2.1.3 Metabolit Bakterial

*Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan penyakit baik melalui kemampuannya untuk berkembang biak, menyebar luas di jaringan serta dengan cara menghasilkan berbagai substansi ekstraseluler seperti enzim yang dianggap sebagai toksin (Jawetz and Levinson, 2008). *Staphylococcus* menghasilkan bahan metabolit yang dapat diklasifikasikan dalam tiga bentuk, yaitu metabolit non-toksik, eksotoksik, dan enterotoksik (Foster, 2005).

#### 2.1.3.1 Metabolit Non Toksik

Sebagian besar substansi ekstraseluler yang dihasilkan oleh *Staphylococcus aureus* bersifat antigenik yang menstimulasi pembentukan antibodi (Duran *et al.*, 2012).

##### 2.1.3.1.1 Antigen Permukaan

Antigen permukaan bakteri *S. aureus* merupakan materi kapsul yang berfungsi untuk mencegah fagositosis, mencegah reaksi koagulasi, dan mencegah melekatnya bakteriofaga (Foster, 2005).

Dinding sel *S. aureus* mengandung asam teikoat, yaitu sekitar 40% dari berat kering dinding selnya. Asam teikoat adalah beberapa kelompok antigen dari *staphylococcus* yang terkait dengan peptidoglikan dan mengandung aglutinogen dan N-asetilglukosamin. Antibodi asam teikoat dapat ditemukan pada pasien dengan endokarditis aktif yang disebabkan oleh *S. aureus* (Jawetz and Levinson, 2008).

*S. aureus* mengandung polisakarida antigenik dan protein. Peptidoglikan adalah polimer polisakarida yang memberikan sifat eksoskeleton yang kaku pada dinding sel, dapat dihancurkan oleh paparan asam kuat dan lisosim, merangsang

produksi IL-1 dan antibodi opsonik, serta memiliki aktivitas endotoksin (Duran *et al.*, 2012).

Protein A adalah komponen dinding sel dari jenis *S. aureus* yang berikatan dengan bagian Fc dari molekul imunoglobulin G. Bagian Fab pada IgG yang terikat pada protein A bebas berikatan dengan antigen spesifik. Protein A ini dikeluarkan ke dalam medium selama pertumbuhan sel. Protein A ini memicu terjadinya berbagai efek biologis. Protein ini bersifat kemotaksis, anti komplementer, anti fagosit, dan memicu reaksi hipersensitivitas dan perlukaan platelet (Wu *et al.*, 2003).

Protein pada dinding sel yang lain adalah *clumping factor*, *fibronectin-binding protein*, dan *collagen-binding protein*, yaitu protein yang khusus melekat pada fibrinogen dan fibronektin. Protein-protein ini berperan dalam proses adhesi pada jaringan (Kayser *et al.*, 2005). Fibrinogen dapat berikatan secara non-enzimatik dengan koagulasi yang menyebabkan bakteri beragregasi (Jawetz *and* Levinson, 2008).

Pada bagian dalam dari dinding sel terdapat membran plasma yang keduanya dipisahkan oleh ruang periplasmik. Protein pada membran sel yang berfungsi untuk membangun lapisan peptidoglikan adalah *penicilin binding proteins* (Arrecubieta *et al.*, 2006).

#### 2.1.3.1.2 Koagulasi

*S. aureus* memproduksi enzim koagulasi yang menyerupai protein. Enzim ini dapat menggumpalkan plasma manusia atau kelinci yang telah diberi oksalat atau sitrat dengan bantuan serum faktor. Serum faktor akan bereaksi dengan koagulasi dan menghasilkan aktivitas pembekuan. Enzim ini mengubah fibrinogen menjadi fibrin. Fibrin disimpan pada permukaan bakteri untuk

membentuk dinding di sekitar bakteri yang mempunyai peranan penting dalam melindungi bakteri dari fagositosis dan mencegah aksi antibiotik. Bakteri yang membentuk koagulasi dianggap mempunyai potensi menjadi patogen invasif (Makgotlho, 2009).

Koagulasi terjadi dalam dua bentuk yaitu koagulasi terlarut yang diproduksi di luar sel bakteri dan koagulasi terikat yang melekat pada sel bakteri yang biasa disebut *clumping factor* (Mitchell, 2012).

#### 2.1.3.1.3 Hialuronidase

Hialuronidase atau *spreading factor* adalah enzim yang dihasilkan oleh bakteri jenis koagulasi positif. Enzim ini dapat membantu bakteri menyebar di dalam jaringan karena dapat memecah asam hialuronat yang penting dalam ikatan jaringan sel bersama. Hialuronidase yang menyebabkan sifat invasif bakteri terjadi pada fase awal dari infeksi tetapi dapat secara cepat dinetralkan pada reaksi peradangan (Wu *et al.*, 2003).

#### 2.1.3.1.4 Stafilokinase (Fibrinolisin)

Enzim ini bekerja sebagai aktivator enzim protease dalam plasma untuk menghasilkan agen lisis. Enzim ini bersifat antigenik dan tidak tahan panas. Enzim ini dapat melisis bekuan darah dalam pembuluh darah yang sedang meradang, sehingga bagian-bagian dari bekuan yang penuh kuman terlepas dan menyebabkan terjadinya lesi metastatik di tempat lain (Mitchell, 2012).

#### 2.1.3.1.5 Protease

Enzim ini bersifat proteolitik atau pemecah material protein sehingga dapat menyebabkan nekrosis pada jaringan yang mengalami invasi, termasuk jaringan tulang (Arrecubieta *et al.*, 2006).

#### 2.1.3.1.6 Lipase

Lipase terutama dihasilkan oleh jenis bakteri koagulase positif dan bersifat antigenik (Wu *et al.*, 2003). Enzim ini berfungsi untuk memecah lipid di kulit dan lipoprotein di darah. Inokulasi *staphylococcus* koagulase positif galur tertentu pada BAP menunjukkan adanya bercak-bercak lemak yang tersusun dari asam oktadekanoat. Hal ini terjadi karena lipase memutus ikatan asam oktadekanoat dengan lipid (Jawetz *and* Levinson, 2008).

#### 2.1.3.1.7 Fosfatase

Terdapat korelasi antara aktivitas asam fosfatase, patogenitas kuman dan pembentukan koagulase, tetapi pemeriksaan asam fosfatase jauh lebih sulit untuk dilakukan dan kurang khas jika hendak dipakai sebagai petunjuk virulensi (Madigan *et al.*, 2006).

#### 2.1.3.1.8 DNAase

DNAase merupakan suatu protein yang terdiri dari rantai polipeptida tunggal dan terdapat pada permukaan sel. Enzim ini dapat memecah DNA menjadi fosfomononukleatida. DNAase tahan terhadap pemanasan dan diproduksi oleh 90-96% galur *staphylococcus* koagulase positif sehingga dapat dipakai untuk menentukan spesies dari *staphylococcus* (Nickerson *et al.*, 2009).

#### 2.1.3.1.9 Katalase

Enzim katalase adalah enzim yang dapat memecah hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) menjadi oksigen ( $O_2$ ) dan air ( $H_2O$ ). Keuntungan enzim katalase bagi bakteri adalah untuk mendegradasi  $H_2O_2$  yang bersifat toksik (Ryan *and* Ray, 2004). Uji katalase sering digunakan untuk membedakan *staphylococcus* dengan *streptococcus* (Jawetz *and* Levinson, 2008).

#### 2.1.3.1.10 $\beta$ -Lactamase

Enzim ini berfungsi untuk memecah cincin  $\beta$ -lactam dari *penicillin* (Wu *et al.*, 2003).

#### 2.1.3.2 Eksotoksin

Toksin yang dibentuk oleh *S. aureus* adalah hemolisin alfa, beta, gamma, delta, dan epsilon. *S. aureus* mengandung *lysostaphin* yang dapat menyebabkan lisisnya sel darah merah (Arrecubieta *et al.*, 2006).

##### 2.1.3.2.1 Toksin Alfa ( $\alpha$ -toksin)

Toksin alfa adalah eksotoksin yang sangat beracun. Toksin alfa adalah protein heterogen yang dapat melisis eritrosit, merusak trombosit, leukosit, makrofag, dan diduga identik dengan faktor letal dan dermonekrotik. Toksin ini dapat dipakai untuk menentukan virulensi (Mitchell *et al.*, 2012).

##### 2.1.3.2.2 Toksin Beta ( $\beta$ -toksin)

Toksin beta terdiri dari hemolisin, yaitu suatu komponen yang dapat menyebabkan lisis pada sel darah merah. Toksin beta merusak spingomyelin dan bersifat racun untuk berbagai jenis sel. Toksin ini bersifat toksik untuk hewan dan terbukti berperan dalam lisisnya eritrosit biri-biri (Arrecubieta *et al.*, 2006).

##### 2.1.3.2.3 Toksin Delta ( $\delta$ -toksin)

Toksin delta bersifat non toksik dan dapat merusak eritrosit manusia dan kuda (Wu *et al.*, 2003).

##### 2.1.3.2.4 Eksofoliatin

Eksofoliatin mengencerkan matriks mukopolisakarida pada epidermidis sehingga mengakibatkan epidermiolisis. Eksofoliatin mengandung setidaknya

dua protein yang dapat menyebabkan deskuamasi general pada kulit yang umum terjadi pada anak (Wu *et al.*, 2003). Sindrom ini dikenal dengan *scalded skin syndrome* (Makgothlo, 2009).

### 2.1.3.3 Enterotoksin

Enterotoksin dari bakteri dapat menyebabkan keracunan makanan. Enterotoksin dihasilkan ketika *Staphylococcus aureus* tumbuh pada makanan yang mengandung karbohidrat dan protein. Grup enterotoksin terdiri dari protein sederhana yaitu toksin terlarut (A, B, C, D, E, dan F) yang stabil terhadap pemanasan, resisten dengan enzim lambung dan keasaman, menyebabkan mual, muntah, dan diare. Efek muntah ini diduga akibat perangsangan sistem syaraf pusat setelah toksin bekerja pada reseptor-reseptor dalam usus (Jawetz *and* Levinson, 2008).

### 2.1.3.4 Toksin Lain

#### 2.1.3.4.1 Toxic Shock Syndrome Toxin

Toksin ini diproduksi oleh sekitar 1% dari galur *staphylococcus*. Toksin ini berhubungan dengan terjadinya *toxic shock syndrome* yang dapat menyebabkan infeksi sistemik dengan ciri-ciri demam tinggi, hipotensi, ruam kulit dan shock. *Toxic Shock Syndrome Toxin-1* merupakan superantigen yang memicu mitosis limfosit T sehingga terjadi produksi sitokin dan memunculkan gejala syok toksik (Wu *et al.*, 2003).

### 2.1.4 Patogenesis

*Staphylococcus aureus* yang berada pada kulit orang sehat merupakan patogen oportunistik yang hanya menginfeksi jaringan atau bagian tubuh yang rusak atau pada orang dengan imunitas yang rendah. *S. aureus* yang patogen

dilengkapi dengan enzim dan toksin untuk dapat hidup bertahan pada jaringan inang. Lesi yang disebabkan *S. aureus* dikarenakan invasi pada folikel rambut dan kelenjar lemak oleh enzim lipase, esterase, koagulase, toksin alfa dan leukosidin sehingga dapat melawan reaksi fagositosis dari inang. Setelah proses fagositosis, destruksi intraseluler yang difasilitasi oleh komplemen berlangsung tidak sempurna. Resistensi ini dapat menyebabkan infeksi kronis (Gordon and Lowy, 2008).

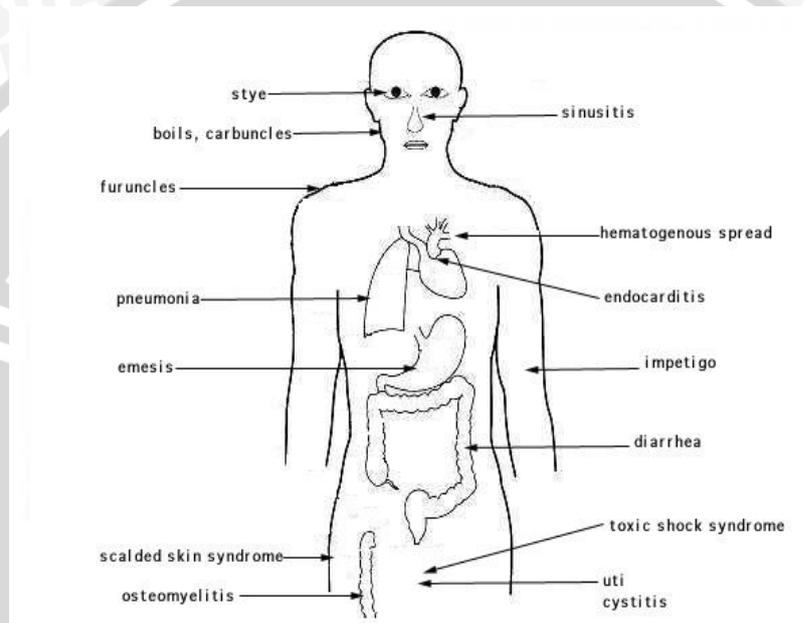
Kelompok *S. aureus* yang tinggal dalam folikel rambut menimbulkan nekrosis jaringan. Enzim koagulase akan menggumpalkan fibrin di sekitar lesi dan pembuluh limfe lalu mengakibatkan pembentukan dinding yang membatasi proses tersebut dan diperkuat oleh penumpukan sel radang dan jaringan fibrosis. Sedangkan di tengah lesi terjadi pencairan jaringan nekrotik dan abses yang mengarah pada daerah yang daya tahannya paling kecil. Setelah cairan di tengah jaringan nekrotik mengalir keluar, rongga secara pelan-pelan diisi dengan jaringan granulasi kemudian akhirnya sembuh (Duran *et al.*, 2012).

### 2.1.5 Patologi

Pernanahan lokal adalah sifat khas infeksi *S. aureus*. Organisme ini dapat menyebar melalui saluran getah bening dan aliran darah ke bagian tubuh lainnya. Pernanahan vena yang disertai trombosis sering terjadi pada penyebaran tersebut. Pada osteomyelitis, fokus primer pertumbuhan *S. aureus* secara khas terjadi di pembuluh darah terminal pada metafisis tulang panjang yang mengakibatkan nekrosis tulang dan pernanahan menahun (Jawetz and Levinson, 2008).

*S. aureus* dapat menyebabkan pneumonia, meningitis, empiema, endokarditis atau sepsis dengan pernanahan pada bagian tubuh mana saja

seperti yang terlihat pada Gambar 2.4 (Brooks *et al.*, 2007). Penyakit-penyakit yang berhubungan dengan produksi toksin *S. aureus* adalah keracunan makanan karena menelan enterotoksin dari *S. aureus*, *Toxic Shock Syndrome Toxin* yang berhubungan dengan TSST-1, dan *Scaled Skin Syndrome (Retter's Disease)* yang berhubungan dengan toksin eksfoliatin (Makgotlho, 2009).



**Gambar 2.4 Lokasi Infeksi dan Penyakit karena *Staphylococcus aureus* (Todar, 2008)**

### 2.1.6 Epidemiologi

Lebih dari 100 tahun *S. aureus* dikenal sebagai patogen penting dan juga penyebab infeksi nosokomial yang paling sering. Menurut *National Nosocomial Infection Surveillance System* di Amerika, infeksi *S. aureus* selalu meningkat dari 2,4% pada tahun 1974, 5% pada tahun 1981, 29% pada tahun 1991, dan 43% pada tahun 1997 (Gardam, 2000). Angka kejadian infeksi nosokomial akibat *S.aureus* juga meningkat mencapai angka 19,4% pada tahun 1985-1988. Jumlah ini terus meningkat mencapai angka rata-rata 44,3% dari kejadian bakteremia di

Bostwana sepanjang tahun 2000-2007 (Wood *et al.*, 2009). Peningkatan ini diduga akibat meningkatnya kasus resistensi antibiotik pada *S. aureus*, peningkatan frekuensi prosedur bedah invasif, penggunaan alat intravaskuler, dan peningkatan jumlah pasien *immunocompromise* akibat transplantasi atau pengobatan kanker (Naber, 2013).

## 2.1.7 Diagnosis Laboratorium

### 2.1.7.1 Bahan

Bahan isolat *Staphylococcus aureus* berasal dari usapan permukaan, nanah, darah, aspirat trakea, atau cairan serebrospinal. Pemilihan bahan untuk biakan bergantung pada lokasi proses infeksi (Jawetz *and* Levinson, 2008).

### 2.1.7.2 Biakan

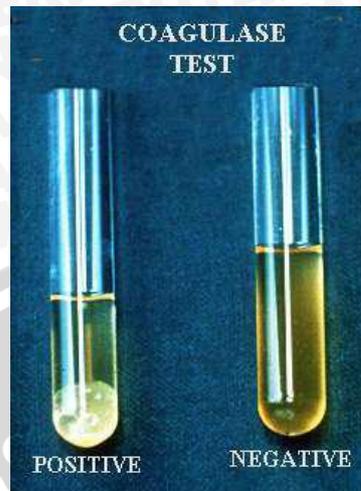
Bahan yang ditanam pada *Blood Agar Plates* akan menghasilkan koloni yang khas dalam 18 jam pada 37°C. Aktivitas hemolisis dan pembentukan pigmen dapat terlihat secara optimal pada suhu kamar tapi mungkin tidak dapat diamati sampai beberapa hari sesudahnya (Cooper *and* Hausman, 2007)

Bahan yang terkontaminasi flora campuran dapat ditanam dalam perbenihan yang mengandung NaCl 7,5% karena garam akan menghambat pertumbuhan flora normal selain *Staphylococcus aureus*. Jika bahan pemeriksaan mengandung bermacam-macam kuman, dapat dipakai suatu perbenihan yang mengandung NaCl 10%. Untuk memindai *S. aureus* yang berasal dari hidung biasanya digunakan agar garam manitol (Brooks *et al.*, 2007).

### 2.1.7.3 Tes Koagulase

Plasma kelinci atau manusia yang telah diberi sitrat dan diencerkan 1:5 dicampur dengan biakan bakteri dalam medium yang sama banyaknya dan kemudian diinkubasi pada suhu 37<sup>o</sup> C. Sebagai kontrol, dalam satu tabung lainnya dicampurkan plasma dan medium steril, kemudian diinkubasi. Jika terjadi pembekuan dalam waktu 1-4 jam, menandakan tes itu positif. Kepentingan dari tes ini adalah untuk membedakan antara *staphylococcus* koagulase positif dan *staphylococcus* koagulase negatif. Semua *staphylococcus* yang bersifat koagulase positif dianggap patogen bagi manusia (Jawetz and Levinson, 2008).

Ada 2 cara tes koagulase yaitu cara *slide test* dan cara *tube test*. Faktor yang dicari pada *slide test* ialah *bound coagulase* atau *clumping factor*. Cara ini tidak dianjurkan untuk pemeriksaan rutin karena banyak faktor yang dapat mempengaruhinya. Pemakaiannya terutama untuk pemeriksaan *staphylococcus* dalam jumlah yang besar, misalnya untuk *screening test*. Sedangkan faktor yang dicari pada metode *tube test* ialah adanya koagulase bebas dan biasanya cukup mempergunakan plasma kelinci. Hasilnya positif kuat apabila saat tabung tes dibalik, gumpalan plasma tidak terlepas dan tetap melekat pada dinding tabung (Brooks *et al.*, 2007).

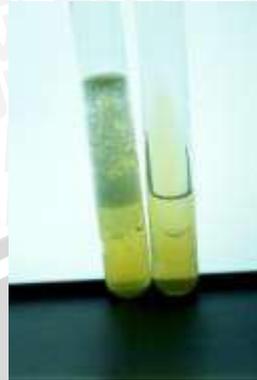


**Gambar 2.5 Hasil Tes Koagulasi Positif dan Negatif Menggunakan *Tube Test* (Brooks et al., 2007)**

#### 2.1.7.4 Tes Katalase

Tes katalase dibutuhkan untuk membedakan anggota genus *Staphylococcus aureus* dengan genus *streptococcus* dan *enterococcus* (Ryan, 2004). *S. aureus* menghasilkan hasil positif pada tes katalase karena dapat memproduksi enzim katalase yang dapat mengubah hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) menjadi  $H_2O$  dan  $O_2$  (Hogan, 2011).

Tes ini dilakukan dengan cara meneteskan hidrogen peroksida 3% sebanyak 0,2 mL ke dalam tabung reaksi. Sedikit biakan bakteri diambil dengan menggunakan ose, dan dipaparkan ke atas permukaan  $H_2O_2$  dalam tabung reaksi. Tabung reaksi kemudian digoyangkan dengan pelan dan diamati dalam waktu 10 detik. Timbulnya gelembung menandakan hasil uji katalase positif seperti yang terlihat pada gambar 2.6.



**Gambar 2.6 Hasil Tes Katalase Positif dan Negatif (Health Protection Agency, 2010)**

#### 2.1.7.5 Tes Kepekaan Antibiotika

Resistensi *Staphylococcus aureus* terhadap antibiotika dapat terjadi dengan berbagai mekanisme yang berbeda, di antaranya: (1) sering membentuk enzim  $\beta$ -lactamase di bawah kendali plasmid sehingga resisten terhadap antibiotika  $\beta$ -lactam, (2) terjadinya perubahan genetik pada kromosom yang mengubah reseptor *PBP2* (*Penicillin Binding Protein 2*) menjadi *PBP2a* sehingga sulit dicapai oleh antibiotika, (3) obat dapat menghambat *S. aureus* tapi tidak dapat mematikannya, artinya terdapat perbedaan yang sangat besar antara kadar hambat minimal dan kadar letal minimal suatu obat antimikroba, (4) plasmid membawa gen resistensi terhadap tetrasiklin, eritromisin, dan aminoglikosida (Kiran *et al.*, 2008).

Tes kepekaan antibiotika dapat dilakukan dengan menggunakan uji sensitivitas lempeng difusi (*disk diffusion*). Uji sensitivitas ini dilakukan dengan menggunakan agar *plate* dan suatu disk yang berisi antimikroba. Jika bakteri diletakan pada agar kemudian tidak terjadi pertumbuhan bakteri di sekitar disk tersebut, maka bakteri tersebut sensitif terhadap antimikroba yang diberikan (Brooks *et al.*, 2007). Pola kepekaan antibiotika dapat membantu untuk melacak

infeksi *Staphylococcus aureus* dan menentukan apakah isolat bakteri dari biakan darah mewakili bakteremia yang disebabkan strain yang sama, yang berasal dari satu tempat infeksi (Kiran *et al.*, 2008).

### 2.1.7.6 Tes Serologis dan Penentuan Tipe

Antibodi terhadap asam teikoat dapat dideteksi pada infeksi *Staphylococcus aureus* yang kronis misalnya endokarditis. Penentuan tipe faga hanya dipakai untuk melacak infeksi dalam penelitian epidemiologi pada wabah infeksi *Staphylococcus aureus* yang luas di rumah sakit (Jawetz *and* Levinson, 2008). Hasil tes karakteristik bakteri *S. aureus* terangkum pada tabel 2.1.

### 2.1 Karakteristik Profil Bakteri *Staphylococcus aureus*

Karakteristik	Hasil	Tes
Kandungan peptidoglikan yang lebih tinggi dan lemak yang lebih rendah pada dinding sel	+	Pewarnaan Gram
Katalase	+	Tes H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Anaerob fakultatif	+	TSA <i>Deeps</i>
Oksidase	-	
Koagulase	+	<i>Cloating</i> menggunakan fibrinogen
Protein A	+	Imunologis
Kapsular Polisakarida ( <i>serotype</i> 5)	+	Imunologis
Lecithinase	+	<i>Egg yolk-lecithinase reaction</i>
Reduksi Telurit	+	Reduksi tellurium
DNase	+	DNase <i>test</i>
Fermentasi manitol	+	
β-Hemolysis	+	<i>Blood agar</i>
Fosfatase	+	<i>Phenolphthalein Phosphate Agar</i>
Enzim proteolitik	+	<i>Nutrient Gelatin</i>

Sumber: Siegrist, 2011,1

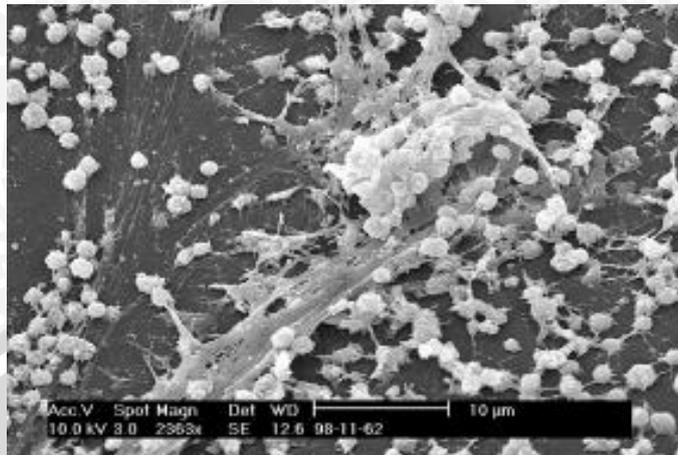
## 2.2 Biofilm

Biofilm adalah suatu istilah yang digunakan untuk menggambarkan suatu lingkungan kehidupan khusus dari sekelompok mikroorganisme yang melekat ke suatu permukaan padat dalam lingkungan perairan (Madigan, 2002). Mikroorganisme dalam biofilm berbeda secara struktural maupun fungsional dengan yang hidup bebas (Kumar, 2006).

Biofilm dapat tumbuh di berbagai permukaan, termasuk batu dan air, gigi, makanan, pipa, alat-alat medis dan jaringan implan. Biofilm memiliki efek menguntungkan seperti untuk memurnikan air dengan cara menguraikan senyawa-senyawa berbahaya dalam perairan (Ito, 2003). Namun, efek negatif biofilm dapat menyebabkan infeksi yang kronis, kolonisasi pada alat-alat medis, serta menimbulkan plak pada gigi (Jamillah, 2003).

### 2.2.1 Definisi Biofilm

Definisi baru biofilm yang telah ada saat ini yaitu sebuah komunitas mikroorganisme kompleks yang menempel pada permukaan substrat yang diliputi oleh matriks eksopolisakarida mikroba dan berbentuk sebuah struktur tiga dimensi yang terorganisir. Biofilm dapat menyebabkan perubahan fenotip pada pertumbuhan dan transkripsi gen (Donlan *and* Costerton, 2002). Biofilm terbentuk khususnya secara cepat jika suplai nutrisi tersedia secara teratur bagi bakteri. Pertumbuhan bakteri secara ekstensif disertai oleh sejumlah besar polimer ekstraseluler menyebabkan pembentukan biofilm yang dapat dilihat dengan mata telanjang (Jamillah, 2003). Pengamatan menggunakan mikroskop elektron untuk struktur biofilm *Staphylococcus aureus* pada kateter menunjukkan adanya ciri khas biofilm yaitu matriks eksopolisakarida yang berbentuk benang halus yang menghubungkan bakteri *S. aureus* satu sama lain maupun *S. aureus* dengan permukaan kateter (Kumar, 2006), seperti yang terlihat pada Gambar 2.7.

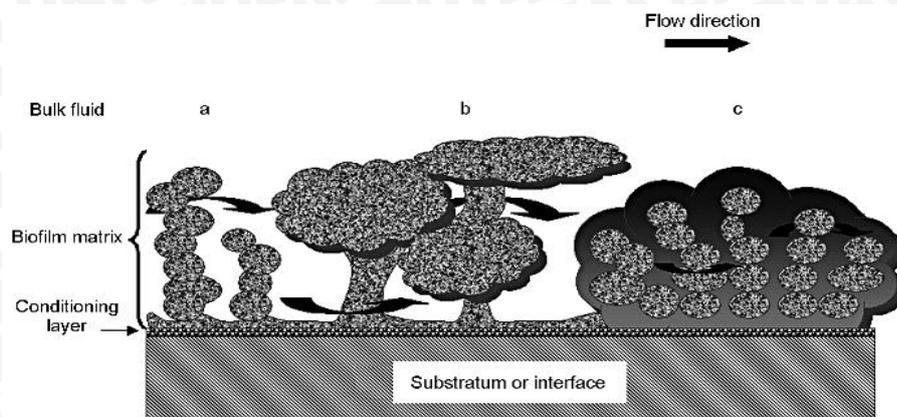


**Gambar 2.7 Pengamatan Struktur Biofilm *Staphylococcus aureus* pada Kateter menggunakan Mikroskop Elektron (Kumar, 2006)**

### 2.2.2 Struktur Biofilm

Terdapat keberagaman struktur dan arsitektur biofilm. Hal ini dipengaruhi oleh kondisi fisik (jenis permukaan dan pH), kondisi lingkungan (suhu dan kelembaban), nutrisi dan status fisiologis mikroorganisme. Terdapat tiga variasi struktur matriks biofilm seperti yang dapat terlihat pada Gambar 2.8 yaitu biofilm yang berbentuk mosaik heterogen, biofilm dengan matriks yang berongga (*porous*) dan biofilm dengan konstituen yang tebal (Fox *et al.*, 2003).

Mosaik heterogen adalah biofilm dengan bakteri yang membentuk lapisan basal setebal 5 mm dan struktur pilar besar setebal 100 mm. Biofilm seperti ini muncul pada kondisi rendah nutrisi dan mengandung bakteri patogen seperti *Legionella pneumoniae*. Pada matriks biofilm yang *porous* akan terbentuk struktur seperti jamur dengan kanal-kanal air. Struktur seperti ini memudahkan perpindahan materi dan nutrisi dari medium sekitar ke dalam biofilm. Variasi ketiga adalah biofilm dengan konstituen tebal, struktur ini biasanya ditemukan pada plak gigi (Jass *et al.*, 2003).

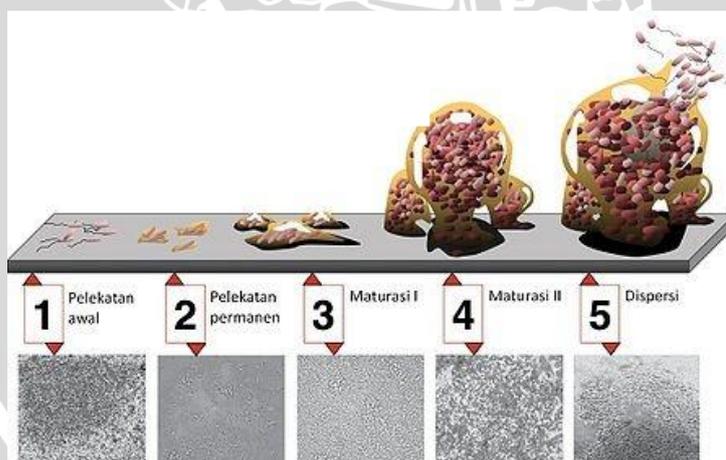


**Gambar 2.8 Ilustrasi Tiga Varian Struktur Matriks Biofilm (Jass et al., 2003)**

Ket: (a) biofilm yang berbentuk mosaik heterogen, (b) biofilm dengan matriks yang berongga (*porous*) dan (c) biofilm dengan konstituen yang tebal

### 2.2.3 Pembentukan Biofilm

Pembentukan biofilm terdiri dari 5 tahap yaitu pelekatan awal, pelekatan permanen, maturasi I, maturasi II, dan dispersi, seperti yang terlihat pada gambar 2.9.



**Gambar 2.9 Siklus Pembentukan Biofilm (Jass et al., 2003)**

#### 2.2.3.1 Perlekatan Reversibel

Keadaan fisik, kimia, dan biologi berperan penting pada interaksi awal sel bakteri pada permukaan substrat. Pada permukaan abiotik, perlekatan utama

antara bakteri dan permukaan substrat diperantarai oleh interaksi non-spesifik seperti ikatan elektrostatik, hidrofobik, dan van der Waals, sedangkan perlekatan pada permukaan biotik seperti jaringan tubuh diperantarai oleh ikatan molekul yang spesifik (lektin atau adhesin). Sel planktonik diduga turut melakukan kontak dengan permukaan substrat melalui mekanisme kemotaksis dan motilitas. Penelitian terdahulu menyebutkan bahwa jumlah perlekatan bakteri dipengaruhi oleh hidrofobisitas yang diperankan oleh protein permukaan bakteri (Pace *et al.*, 2006).

#### **2.2.3.2 Perlekatan Ireversibel**

Setelah melekat pada permukaan, bakteri membentuk matriks ekso-polimerik sehingga terjadi perlekatan ireversibel, proliferasi, dan akumulasi sel kluster. Matriks ekstraseluler yang terdiri dari polisakarida, protein, asam nukleat, dan substansi lainnya yang berfungsi untuk memadatkan sel-sel bakteri menjadi biofilm, membantu penangkapan nutrisi, dan melindungi sel dari dehidrasi dan antibiotika (Wu *et al.*, 2003).

#### **2.2.3.3 Maturasi Biofilm**

Setelah bakteri melekat secara irreversibel, sel-sel mulai melakukan perubahan fenotip, dan proses maturasi biofilm pun dimulai. Sel-sel yang telah melekat mengeluarkan sejumlah komponen ekstraseluler yang berinteraksi dengan molekul organik dan inorganik yang berasal dari lingkungan, selanjutnya terbentuklah glikokaliks. Pada pemeriksaan mikroskopis terlihat bahwa biofilm membentuk struktur tiga dimensi yang kompleks. Nutrisi pada biofilm disalurkan melalui kanal air ini dengan kecepatan aliran yang lambat sehingga dapat dimanfaatkan secara optimal (Pace *et al.*, 2006).

#### 2.2.3.4 Pelepasan atau *Detachment* Biofilm

Setelah membentuk biofilm, sel bakteri akan melepaskan diri dan kembali menjadi bentuk planktonik. Bakteri yang terlepas ini kemudian dapat menyebar dan menempel kembali pada permukaan lain yang masih steril dan membentuk biofilm yang baru. Proses pembentukan dan pelepasan biofilm merupakan sebuah siklus yang terus berjalan. Tekanan hidrodinamik atau aliran cairan yang melintasi biofilm merupakan salah satu faktor penyebab terjadinya pelepasan biofilm. Selain itu faktor penyebab lainnya antara lain adalah kurangnya nutrisi sel, ekspresi *alginate lyase* yang berlebihan, hilangnya eksopolisakarida (EPS), dan komunikasi antar sel (Jass *et al.*, 2003).

#### 2.2.4 Faktor yang Mempengaruhi Pembentukan Biofilm

Pembentukan biofilm juga dipengaruhi oleh beberapa faktor dari lingkungan yang bisa berpotensi menjadi toksik untuk sel bakteri seperti terpapar osmolaritas dan suhu yang tinggi, detergen, urea, dan MIC (*Minimal Inhibitory Concentration*) atau konsentrasi dari antibiotik tertentu. Glukosa dan stress oksidatif menunjukkan peningkatan pembentukan biofilm (Nuryastuti, 2010).

#### 2.2.5 *Quorum Sensing Staphylococcus aureus*

*Quorum sensing* adalah komunikasi sel satu dengan sel lainnya melalui sinyal ekstraseluler yang dihasilkan bakteri saat densitas sel tinggi. Sistem *quorum sensing* menunjukkan cara mengatur dan koordinasi ekspresi faktor-faktor virulensi pada sejumlah organisme dan berimplikasi pada formasi dan maturasi biofilm (Pace *et al.*, 2006).

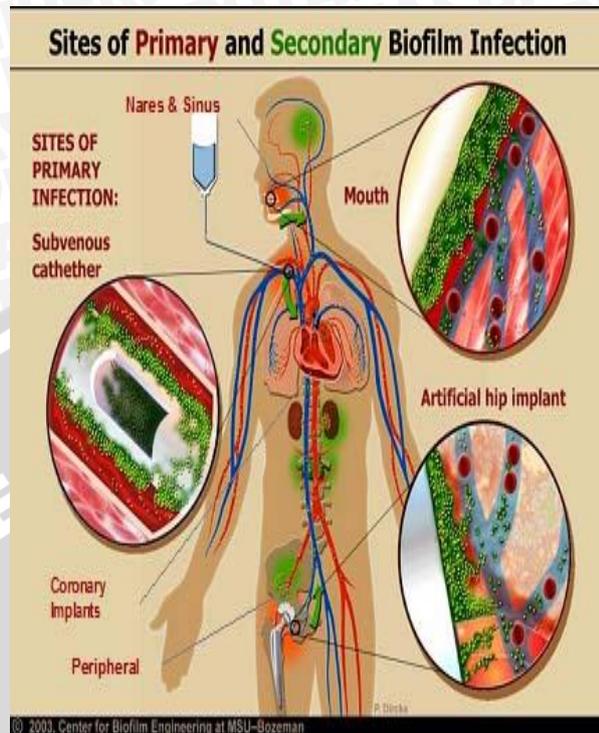
Bakteri Gram positif meregulasi berbagai proses selulernya melalui *peptide-mediated quorum sensing*. Protein yang mendorong terjadinya adhesi

dan kolonisasi diekspresikan pada awal fase pembelahan. Ketika pertumbuhan sel mencapai densitas yang tinggi, protein melakukan kerusakan pada inang, predominasi metabolisme dan diseminasi. Sebagian besar kejadian tersebut dikontrol oleh *accessory gene regulator (agr)* dan *staphylococcal gene regulator (sar)*. *Agr* diaktivasi selama transisi dari fase pembelahan menjadi fase perkembangan. Ekspresi *agr* ini menunjukkan korelasi negatif terhadap kemampuan adhesi ke *polystyrene* dan pembentukan biofilm. Oleh karena itu, *agr* tidak esensial untuk pembentukan biofilm (Kiran *et al.*, 2008).

### 2.2.6 Pembentukan Biofilm pada Alat Medis

Biofilm yang menempel pada alat medis bisa berasal dari bakteri Gram positif, Gram negatif atau yeast. Bakteri Gram positif yang biasa menempel adalah *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Streptococcus viridans*; sedangkan bakteri Gram negatif adalah *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. Bakteri ini dapat berasal dari kulit pasien atau petugas kesehatan, keran air, atau sumber lain di lingkungan tersebut (Donlan *and* Costerton, 2002).

Biofilm berkembang ketika mikroorganisme menempel secara ireversibel pada sebuah permukaan, baik permukaan pada makhluk hidup maupun benda mati dan memproduksi EPS. Beberapa jenis tertentu dari bakteri ini mampu membentuk biofilm pada alat-alat medis seperti kateter urin, *central venous catheters (CVC)*, sendi prostetik, *prosthetic heart valve*, *pacemaker*, dan *endotracheal tube* seperti yang terlihat pada Gambar 2.10 (Wood *et al.*, 2009).



**Gambar 2.10 Tempat Infeksi Primer dan Sekunder dari Struktur Biofilm (Samarayanake, 2006)**

### 2.2.7 Resistensi Bakteri terhadap Antibiotika

Resistensi antibiotika yang diperantarai oleh biofilm saat ini telah menjadi fenomena baru. Paska pemberian antibiotika dengan dosis bakteriosidik, sebuah populasi kecil bakteri yang selamat dapat berkoloni pada permukaan substrat dan membentuk galur bakteri yang lebih resisten terhadap terapi antibiotika (Wood *et al.*, 2009). Organisme pada biofilm sangat sulit dieradikasi. Substansi biosidik membutuhkan konsentrasi 50-600 kali lebih besar dibandingkan dengan konsentrasi bakteriosidik minimal (Kumar, 2006).

Bakteri pembentuk biofilm mempunyai kelebihan dibandingkan bakteri lain. Dengan struktur biofilm, bakteri dapat terlindung dari agen topikal, mencegah migrasi dan proliferasi dari sel keratinosit, dan terlindung dari antibiotik sistemik (Wood *et al.*, 2009) seperti yang terlihat pada Gambar 2.11.



**Gambar 2.11 Perlindungan Struktur Biofilm terhadap Bakteri (Wood *et al.*, 2009)**

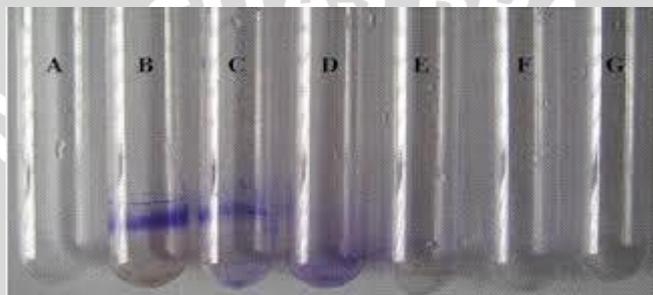
Biofilm dapat menimbulkan resistensi antibiotika tiga kali lebih banyak dibandingkan sel bakteri planktonik. Namun, bila sel bakteri tersebut melepaskan diri dari biofilm, maka sel bakteri berubah kembali menjadi sel yang sensitif terhadap antibiotika. Sejumlah faktor yang mungkin menyebabkan resistensi telah diteliti, di antaranya adalah pembentukan penahan difusi terhadap bahan kimia yang diperantarai oleh glikokaliks, interaksi eksopolimer dengan antibiotika, pertumbuhan lambat sel bakteri, hipermutasi sel, keadaan multiseluler dan ekspresi gen resistensi tertentu (Pace *et al.*, 2006).

## 2.2.8 Uji Pembentukan Biofilm

### 2.2.8.1 Metode Tabung

*S. aureus* yang sudah teridentifikasi ditanam dalam *Nutrient Broth* dan diinkubasi pada suhu 37°C semalam. Bakteri yang sudah tumbuh pada *Nutrient Broth* ditanam kembali pada NAP kemudian diinkubasi pada suhu 37°C semalam. Mikroba kultur semalam dimasukkan ke tabung TSBglu (10mL) dan

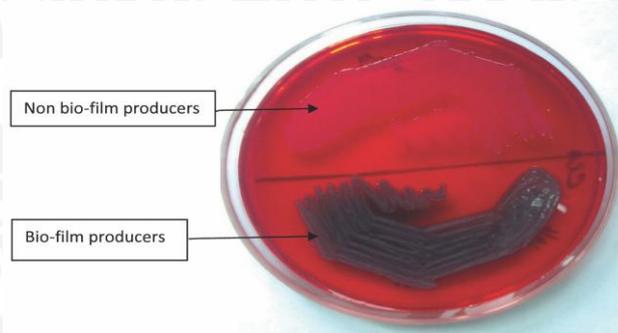
diinkubasikan 37°C selama 24 jam. Lalu tabung dicuci dengan PBS (pH 7,3) dan dikeringkan airnya. Tabung yang sudah dikeringkan diberi kristal violet (0,1%) dan kelebihan warna dibuang dan tabung dicuci dengan *deionized water*. Tabung dikeringkan dan dilihat pembentukan biofilm (Christensen *et al.*, 2000). Terbentuknya biofilm ditandai dengan adanya cincin biru di dinding tabung seperti yang terlihat pada Gambar 2.12 (Lu *et al.*, 2011)



**Gambar 2.12 Hasil Pembentukan Biofilm Bakteri *Salmonella enterica* Positif pada Tabung B dan C (Lu *et al.*, 2011)**

#### 2.2.8.2 Metode *Congo Red Agar*

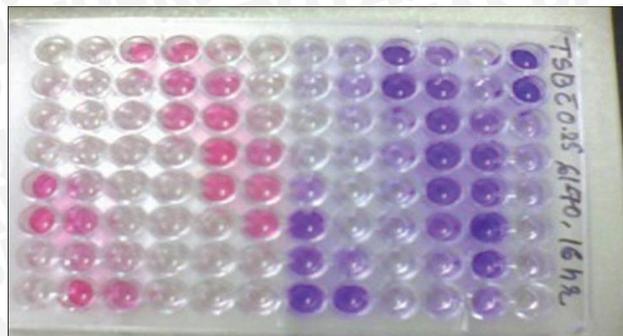
Metode ini digunakan untuk mengetahui kemampuan bakteri memproduksi biofilm. *Agar plate* diberi 5% sukrosa dan *stain Congo Red* (0,8 g/L). Setiap *plate* diinkubasi selama 24 sampai 72 jam dalam suhu 37°C. Hasil yang positif akan ditunjukkan dengan adanya koloni berwarna hitam dengan konsistensi *dry crystalline*. Jika terdapat koloni yang menghitam dan terletak di tengah dari *plate* dengan atau tanpa morfologi *dry crystalline* adalah bentukan non biofilm (Moore and Elizabeth, 2009) seperti yang terlihat pada Gambar 2.13.



**Gambar 2.13 Hasil Pembentukan Biofilm dan Non Biofilm Bakteri *Staphylococcus epidermidis* pada Congo Red Agar (Niveditha et al., 2012)**

### 2.2.8.3 Metode *Microtiter Plate-Test*

Untuk melakukan tes terhadap pembentukan biofilm oleh bakteri *S. aureus* dapat digunakan *microtiter plate-test*. Langkah-langkahnya adalah dengan memindahkan sebanyak 200  $\mu$ l bakteri yang telah dikultur sebelumnya ke dalam *sterile 96-well flat-bottomed plastic tissue culture plate*. *Well* yang sebagai kontrol negatif hanya diisi oleh *fresh broth*. Kemudian semua plates diinkubasi secara aerobik selama 24 jam dalam suhu 37°C. Setelah itu, isi setiap *well* di aspirasi dan dicuci tiga kali menggunakan 250  $\mu$ l *sterile physiological saline*. *Well-plates* dikocok secara kuat untuk menghilangkan seluruh bakteri yang tidak menempel. Sisa bakteri yang menempel difiksasi dengan 200  $\mu$ l 99% metanol di setiap *well* selama 15 menit kemudian dikosongkan dan dikeringkan. Kemudian setiap *well* dilakukan proses pewarnaan dengan menggunakan 0,2 ml 2% *crystal violet* selama 5 menit. Lalu dilakukan pembilasan dengan menggunakan air keran dan dikeringkan. Untuk menganalisis secara kuantitatif pembentukan biofilm, ditambahkan 200  $\mu$ l dari 1 M HCl isopropanol di setiap *well*. Kemudian dilakukan pengukuran *Optical Density* (OD) pada 595 nm menggunakan spektrofotometer (Nuryastuti, 2010).



**Gambar 2.14 Perbedaan Intensitas Warna Bakteri Pembentuk Biofilm dan Non Biofilm pada *Microtiter Plate* (Mulla et al., 2011)**

### 2.3 Jahe merah

#### 2.3.1 Klasifikasi Tanaman Jahe

Berdasarkan ukuran, bentuk, dan warna rimpang, jahe dibedakan menjadi tiga jenis yaitu:

##### 2.3.1.1 Jahe Putih atau Kuning Besar atau Jahe Gajah atau Jahe Badak

Jahe ini ditandai dengan ukuran rimpangnya yang besar dan gemuk, warna kuning muda atau kuning, berserat halus dan sedikit. Aroma jahe gajah kurang tajam. Jahe jenis ini baik dikonsumsi untuk orang berumur muda maupun tua, dalam bentuk jahe segar maupun olahan. Pada umumnya jahe ini dimanfaatkan sebagai bahan baku makanan dan minuman (Mamun, 2008).

Kadar air jahe segar (basis basah) jahe gajah 89.15%. Kadar air jahe bubuk (basis basah) jahe gajah 8.26%. Rendemen jahe bubuk jahe gajah 8.99%. Rendemen *oleoresin* jahe gajah 2.02%. Kandungan senyawa (6)-, (8)-, (10)-gingerol dan (6)-shogaol pada jahe gajah berturut-turut sebesar 9.56 mg/g, 1.49 mg/g, 2.96 mg/g dan 0.92 mg/g (Mahendra, 2009).

##### 2.3.1.2 Jahe Kuning Kecil atau Jahe Sunti atau Jahe Emprit

Jahe ini ditandai dengan ukuran rimpangnya yang termasuk kategori sedang dengan bentuk agak pipih, berwarna putih, berserat lembut, mempunyai aroma dan rasa tajam. Jahe ini selalu dipanen setelah umur tua. Kandungan minyak atsirinya lebih besar dari jahe gajah sehingga rasanya lebih pedas. Jahe ini cocok untuk ramuan obat-obatan atau diekstrak oleoresin dan minyak atsirinya (Mamun, 2008).

Kadar air jahe segar (basis basah) jahe emprit 88.17%. Kadar air jahe bubuk (basis basah) jahe emprit 7.70%. Rendemen jahe bubuk jahe emprit 17.15%. Rendemen *oleoresin* jahe emprit 12.52%. Kandungan senyawa (6)-, (8)-, (10)-*gingerol* dan (6)-*shogaol* pada jahe emprit sebesar 22.57 mg/g, 4.73 mg/g, 6.68 mg/g dan 2.24 mg/g (Mahendra, 2009).

### 2.3.1.3 Jahe Merah

Jahe ini ditandai dengan ukuran rimpangnya yang kecil, berwarna merah jingga, berserat kasar, beraroma serta berasa tajam (pedas). Jahe ini dipanen setelah tua dan memiliki minyak atsiri yang sama dengan jahe kecil sehingga jahe merah pada umumnya dimanfaatkan sebagai bahan baku obat-obatan (Mamun, 2008).

Kadar air jahe segar (basis basah) jahe merah 88.50%. Kadar air jahe bubuk (basis basah) jahe merah 7.03%. Rendemen jahe bubuk jahe merah 18.21%. Rendemen *oleoresin* jahe merah 11.35%. Kandungan senyawa (6), (8), (10)-*gingerol* dan (6)-*shogaol* pada jahe merah sebesar 18.03 mg/g, 4.09 mg/g, 4.61 mg/g dan 1.36 mg/g (Mahendra, 2008).

### 2.3.2 Morfologi Tanaman Jahe Merah

Jahe ini merupakan tanaman herbal semusim dengan tinggi 40-50 cm, memiliki batang semu, beralur, berwarna hijau dan membentuk rimpang. Daun jahe merah berbentuk lanset, tunggal, tepinya rata dengan ujung runcing dan pangkal tumpul dengan warna hijau tua (Mamun, 2008). Daun ini menyirip dengan panjang 15-23 mm dan panjang 8-15 mm. Tangkai daun berbulu halus. Bunganya berbentuk bulir, majemuk, sempit dengan ujung runcing, memiliki panjang 3,5-5 cm dan lebar 1,5-2 cm dengan mahkota bunga berbentuk corong dengan panjang 2-2,5 cm berwarna ungu. Buah tanaman jahe merah berbentuk kotak, bulat panjang, dan berwarna cokelat. Akarnya berbentuk rimpang dengan daging akar berwarna kuning hingga kemerahan dengan bau menyengat. (Rukmana, 2000).



Gambar 2.15 Tanaman Jahe Merah (Rukmana, 2000)

### 2.3.3 Taksonomi Jahe Merah

Jahe merupakan tanaman obat berupa tumbuhan rumpun berbatang semu dan termasuk dalam suku temu-temuan (*Zingiberaceae*). Jahe berasal dari Asia Pasifik yang tersebar dari India sampai Cina. (Mamun, 2008). Taksonomi dari tanaman jahe merah adalah sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Tracheophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Order	: <i>Zingiberales</i>
Family	: <i>Zingiberaceae</i>
Genus	: <i>Zingiber Mill.</i>
Spesies	: <i>Zingiber officinale var. Rubra</i> (Shirin and Prakash, 2010)

#### 2.3.4 Kandungan Kimia

Secara umum, rimpang jahe mengandung 2 komponen, yaitu:

##### 2.3.4.1 *Volatile Oil* (Minyak Menguap)

Minyak ini biasa disebut minyak atsiri yang merupakan komponen pemberi aroma yang khas pada jahe, umumnya larut dalam pelarut organik dan tidak larut dalam air. Minyak atsiri merupakan salah satu dari dua komponen utama minyak jahe. Jahe kering mengandung minyak atsiri 1-3%, sedangkan jahe segar yang tidak dikuliti kandungan minyak atsirinya lebih banyak dari jahe kering. Bagian tepi dari umbi atau di bawah kulit pada jaringan epidermis jahe mengandung lebih banyak minyak atsiri dari bagian tengah demikian pula dengan baunya. Kandungan minyak atsiri juga ditentukan oleh umur panen dan jenis jahe. Pada umur panen muda, kandungan minyak atsirinya tinggi. Sedangkan pada umur tua, kandungannya pun makin menyusut walau baunya semakin menyengat (Kaushik and Goyal, 2011).

Komponen kimia dari fraksi *volatile* yaitu *zingiberene*, *arcurcumene*,  $\beta$ -*sesquiphelandrene*,  $\beta$ -*bisabolone*,  $\alpha$ -*pinene*, *bornyl acetat*, *borneol*, *camphene*, *p-*

*cymene*, *cineol*, *cumene*,  $\beta$ -*elemene*, *farnesene*,  $\beta$ -*phelandrene*, *geraneol*, *limonene*, *linalool*, *myrcene*,  $\beta$ -*pinene*, dan *sabinene* (Bhargava et al., 2012).

#### 2.3.4.2 Non-volatile Oil (Minyak Tidak Menguap)

Biasa disebut *oleoresin* salah satu senyawa kandungan jahe yang sering diambil dan merupakan komponen pemberi rasa pedas dan pahit. Sifat pedas tergantung dari umur panen, semakin tua umurnya semakin terasa pedas dan pahit. *Oleoresin* merupakan minyak berwarna coklat tua dan mengandung minyak atsiri 15-35% yang diekstraksi dari bubuk jahe. Kandungan *oleoresin* dapat menentukan jenis jahe. Jahe yang rasa pedasnya tinggi, seperti jahe emprit, mengandung *oleoresin* yang tinggi sedangkan jenis jahe badak yang rasanya kurang pedas mengandung sedikit *oleoresin*. Jenis pelarut yang digunakan, pengulitan serta proses pengeringan dengan sinar matahari atau dengan mesin mempengaruhi banyaknya *oleoresin* yang dihasilkan (Kaushik and Goyal, 2011).

Komponen kimia dari fraksi *non-volatile oil* yaitu *gingerol*, *shogaol*, *gingediol*, *gingediasetat*, *gingerdion*, *zingeron* dan *gingerenon*. Senyawa *gingerol* dan *shogaol* merupakan senyawa citarasa yang memberikan atribut sensori *pungent* pada jahe ekstrak etanol 95%. Senyawa keton bernama *zingeron* yang merupakan bagian dari komponen *oleoresin* adalah senyawa yang berpengaruh dalam sifat pedas jahe (Bhargava et al., 2012).

Tabel 2.2 Komponen Jahe Merah

Constituent	Oleorosin (%)		Ethyl Acetate Extract (%)		
	Ethanol	CO <sub>2</sub>	Young	Mature	Steamed
Zingiberene	11.8	27.1	28.8	26.2	30.4
Ar-curcumene	4.2	15.1	3.4	6.0	9.7
Bisabolene	7.1	11.8	11.7	10.8	20.2
Farnesene	0.4	3.1	0.3	1.3	3.3
β-Sesquiphellandrene	8.0	14.0	10.8	10.3	14.8
Citral	-	-	0.6	5.1	-
Geraniol	-	-	2.8	-	-
Geranyl acetate	-	-	8.9	0.2	1.5
1,8-Cineole	-	1.8	2.3	3.1	0.2
Camphene	-	2.1	0.2	5.3	1.1
Sabinene	-	2.3	0.6	4.8	1.1
[6]-Gingerol	19.4	1.6	3.6	2.9	1.0
[6]-Shogaol	14.0	0.6	-	-	6.5

Sumber: Kesumaningati, 2009, 2

### 2.3.5 Kandungan Nutrisi dan Antioksidan Rimpang Jahe Merah

Komponen antioksidan dari rimpang jahe merah adalah *polifenol*, vitamin C, *β-carotene*, *flavonoid*, dan *tannin*. Pada 100 gram jahe merah terdapat kandungan protein dan lemak sebanyak 5.08 dan 3.72 gram. Selain itu terdapat kandungan *ash*, *iron*, *calcium*, *phosphorus*, *zinc*, *copper*, *chromium*, *manganese* dan vitamin C berturut-turut sebanyak 3.85 gram, 8.0 mg, 88.4 mg, 174 mg, 0.92 mg, 0.545 mg, 70µg, 9.13 mg, dan 9.33 mg. Komponen antioksidan seperti *polifenol*, *flavonoid*, dan total *tannin* lebih tinggi pada ekstrak air panas (100°C). Urutan aktivitas antioksidan dari yang paling tinggi adalah: ekstrak methanol 80% > ethanol 80% > methanol > ethanol > 30°C air > 100°C > aseton (Shirin and Prakash, 2010).

Tabel 2.3 Komponen Bioaktif pada Jahe Merah

Bioactive Principles	Methanol extracts of ginger	Ethanol extract of ginger
Alkaloids	+++	+++
Tannins	++	++
Glycosides	++	++
Saponins	+++	+++
Steroids	-	-
Flavonoids	++	++
Terpenoids	+	+
Phlobotannins	+	+

Keterangan: – absent, + fairly present, ++ moderately present, +++ abundantly present

Sumber: Bhargava, 2012, 3

### 2.3.6 Khasiat Senyawa Rimpang Jahe Merah

Berdasarkan penelitian laboratorium, jahe merah mengandung berbagai jenis unsur-unsur kimia. Telah diketahui bahwa zat *gingerol* dan minyak atsiri, 1,8 *cineole*, *limonene*, 6-*gingerdione*, 10-*dehydrogingerdione*, *arginine*, *alphalinolenic acid*, *betha-sitosterol*, *aspartic acid*, *capsaicin*, *caprillic-acid*, *farnesal*, *chorogenic acid*, *farnesol*, dan *farnese* positif terkandung dalam jahe merah (Bhargava, 2012).

- *Caprylic-acid* dan *limonene* bermanfaat dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*, sebagai *anti kolinesterase*, dan obat influenza.
- 1,8 *cineole* bermanfaat sebagai zat anestetik, mengobati ejakulasi dini, *anti kolinesterase*, memicu produksi keringat, aktivitas saraf pusat, ereksi, dan memperkuat hepar.
- 10-*dehydrogingerdione* dan 6-*gingerdione* bermanfaat sebagai penekan *prostaglandin*.
- Zat *gingerol* bermanfaat dalam menekan *prostaglandin*, menghambat produksi enzim siklooksigenase, dan merangsang produksi ASI pada ibu menyusui.

- *Alphalinolenic acid* bermanfaat sebagai pemicu meningkatnya sistem kekebalan tubuh, produksi getah bening, dan penghindar pendarahan di luar haid.
- *Arginine* bermanfaat untuk memperkuat daya tahan sperma dan mencegah kemandulan.
- *Aspartic acid* bermanfaat dalam memberi kesegaran dan merangsang kerja saraf.
- *Beta-sitosterol* bermanfaat sebagai penghambat produksi hormon estrogen, pemicu produksi hormon androgen, pencegah hiper-lipoprotein, dan sebagai bahan baku pembuatan obat steroid.
- *Capsaicin* bermanfaat dalam meningkatkan kinerja kelenjar endokrin, memicu ereksi, dan menghambat produksi enzim 5-lipooksigenase, enzim, serta siklooksigenase.
- *Chlorogenic acid* bermanfaat sebagai zat antioksidan.
- *Farnesal* bermanfaat dalam memperlambat proses penuaan dan memicu regenerasi sel kulit.
- *Farnesol* bermanfaat sebagai bahan dasar pewangi dan parfum yang juga dapat memicu regenerasi sel (Shirin and Prakash, 2010).

#### 2.3.6.1 Jahe Merah sebagai Antioksidan

Kemampuan jahe sebagai antioksidan alami tidak terlepas dari kadar komponen fenolik total yang terkandung di dalamnya, dimana jahe memiliki kadar fenol total yang tinggi dibandingkan kadar fenol yang terdapat dalam tomat dan mengkudu. *Gingerol* dan *shogaol* telah diidentifikasi sebagai komponen antioksidan fenolik jahe (Kaushik and Goyal, 2011).

Rimpang jahe juga bersifat nefroprotektif terhadap mencit yang diinduksi oleh gentamisin, dimana gentamisin meningkatkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan jahe yang mengandung *flavonoid* dapat menormalkan kadar serum kreatinin, urea, dan asam urat (Shirin *and* Prakash, 2010).

#### 2.3.6.2 Farmakokinetik Jahe

Jahe (*Zingiber officinale*) adalah tanaman rimpang yang sangat populer sebagai rempah-rempah dan bahan obat. Rimpangnya berbentuk jemari yang menggebu-gebu di ruas-ruas tengah. Pada manusia konjugat jahe mulai muncul 30 menit setelah pemberian melalui oral, dan mencapai *Tmax* antara 45-120 menit, dengan  $t_{1/2}$  eliminasi 75-120 menit pada dosis dua gram. Tidak ada efek samping yang dilaporkan setelah menggunakan dua gram ekstrak jahe (Zick *et al.*, 2008).

#### 2.3.6.3 Manfaat Non Farmakologis

Rimpang jahe dapat digunakan sebagai bumbu masak, pemberi aroma dan rasa pada makanan seperti kue, roti, biskuit, kembang gula dan berbagai minuman. Jahe juga dapat digunakan pada industri minyak wangi, industri jamu tradisional, diolah menjadi asinan jahe, acar, lalap, bandrek, sekoteng dan sirup. Selain itu ini para petani cabe sering menggunakan jahe sebagai pestisida alami (Mamun, 2008).

#### 2.3.6.4 Dampak Negatif Jahe Merah

Jahe merah memiliki dampak negative walaupun tidak semua orang bisa terkena dampak negatifnya. Orang-orang yang memiliki riwayat penyakit gastritis bisa terkena dampaknya. Hal ini disebabkan oleh kandungan *gingerol* dalam jahe merah yang bermanfaat dalam menekan prostaglandin, menghambat produksi

enzim siklooksigenase, dan merangsang produksi ASI pada ibu menyusui bersifat panas bagi lambung. Rasa panas ini akan memicu produksi asam lambung yang berlebihan sehingga menyebabkan timbulnya gejala sakit gastritis (Zick *et al.*, 2008)

Selain *gingerol*, terdapat zat aktif lain di jahe merah yang dapat mengancam kehidupan janin. Oleh karena itu, ibu hamil sebaiknya waspada untuk tidak mengonsumsi jahe merah selama mengandung karena meningkatkan risiko keguguran (Mamun, 2008).

### **2.3.7 Senyawa Penghambat Biofilm**

#### **2.3.7.1 1,8-cineole**

Senyawa ini mempunyai sifat merangsang sistem apoptosis sehingga dapat digunakan untuk anti biofilm pada tahap perlekatan awal (Cha *et al.*, 2010).

#### **2.3.7.2 Minyak Atsiri**

Minyak atsiri dikenal juga dengan nama minyak eteris atau minyak terbang (*volatile oil*) yang dihasilkan oleh tanaman. Minyak tersebut mudah menguap pada suhu kamar tanpa mengalami dekomposisi, mempunyai rasa getir (*pungent teste*) dan berbau wangi sesuai dengan bau tanaman penghasilnya. Dengan *confocal laser scanning microscopy* (CLSM), dapat dilihat bahwa minyak atsiri mampu melepaskan sel biofilm dari permukaan plate dan juga poten membunuh sel biofilm (Bruce, 1994). Dengan demikian, minyak atsiri merupakan agen anti mikroba yang efektif untuk memberantas biofilm.

#### **2.3.7.3 Tannin**

Tannin dapat di temukan pada hampir di semua bagian tanaman dari daun, batang, buah, maupun akar. Polifenol ini dapat menstimulasi mekanisme

fisiologis dari sistem imun manusia seperti stimulasi sel fagosit, aktifitas *host-mediated tumor*, dan banyak lagi mekanisme anti-infeksi yang lain. Aktivitas antimikroba yang lain dari tannin adalah kemampuan untuk menginaktivasi *adhesin*, enzim protease, protein, transport dinding sel, merusak substrat, dan berikatan dengan polisakarida dinding sel bakteri (Naim, 2004). Tannin dapat menghambat pembentukan biofilm dengan menghambat koagulasi plasma yang mana koagulasi plasma ini dibutuhkan oleh bakteri untuk membentuk biofilm. Penghambatan koagulasi plasma ini disebabkan oleh menurunnya konsentrasi ion kalsium, penghambatan produksi enzim, dan terganggunya reaksi enzimatik pada bakteri (Akiyama *et al.*, 2001). Tannin juga memiliki efek bakteriosidik pada *Helicobacter pylori* (Funatogawa *et al.*, 2004).

Dengan adanya efek tannin pada mikroba seperti yang telah dijelaskan, tannin dapat dijadikan antibiofilm karena diduga dapat menghambat proses pembentukan biofilm pada tahap *primary attachment* dan *secondary attachment*.

#### 2.3.7.4 Terpenoid

Bau khas yang keluar dari tanaman jahe merah berasal dari minyak esensialnya dan dikenal sebagai terpenoid yang mempunyai struktur kimia  $C_{10}H_{16}$ . Terpenoid dapat secara aktif melawan bakteri, jamur, virus dan protozoa. Pada tahun 1977, dilaporkan bahwa 60% dari turunan dari minyak esensial ini telah ditemukan menghambat jamur sementara 30% menghambat bakteri. Mekanisme dari terpenoid ini diduga dengan disrupsi membran *lipophilic compound* (Cowan, 1999). Mekanisme aksi dari terpenoid yang bersifat bakteriosidik diharapkan dapat mengganggu pembentukan biofilm pada *primary attachment*.

### 2.3.7.5 Flavonoid

Flavonoid merupakan polifenol yang terdapat pada jahe merah yang mempunyai efek inhibisi terhadap molekul adhesin (Crespo *et al.*, 2008). Padahal adhesin merupakan salah satu faktor utama yang mempengaruhi pembentukan biofilm selain eksopolisakarida (EPS). Adhesin berperan pada perlekatan sel bakteri di permukaan substrat (Jass *et al.*, 2003).

### 2.3.7.6 Saponin

Saponin merupakan senyawa yang banyak terkandung dalam tanaman seperti kacang-kacangan dan ginseng. Saponin juga biasa disebut sebagai deterjen alami karena menyebabkan timbulnya buih ketika tanaman yang mengandungnya dipanaskan. Saponin memiliki aktivitas antifungi dan antibakterial berspektrum luas, mampu menurunkan kolesterol dan menghambat pertumbuhan sel kanker. Gugus lipofilik pada saponin dapat merusak membran sel. Saponin bertindak sebagai *foaming agent* yang bisa mereduksi kemampuan permukaan sel dalam mempertahankan biofilm sehingga dapat menghilangkan biofilm (Aulia, 2008).

### 2.3.7.7 Polifenol

Senyawa polifenol pada jahe merah mampu menghambat biofilm dengan cara menurunkan pertumbuhan sel bakteri pada dosis tinggi, dan menurunkan interaksi antar sel atau *quorum sensing* pada dosis yang lebih rendah (Huber *et al.*, 2003). Selain itu senyawa polifenol secara umum dapat merusak substrat dan menghambat enzim sehingga bakteri tidak dapat tumbuh (Naim, 2004).

### 2.3.7.8 Farnesol

Farnesol merupakan katabolit pada jalur kolesterol atau isoprenoid yang mempunyai aktivitas anti tumor. Farnesol belakangan ini telah diidentifikasi sebagai molekul *quorum-sensing* yang diproduksi oleh pathogen fungal *Candida albicans* (Scheper, 2008). Farnesol dapat menghambat pembentukan biofilm pada *Candida albicans* (Ramage, 20

