

## BAB 2

## TINJAUAN PUSTAKA

**2.1 Pacar Air (*Impatiens balsamina* Linn.)****2.1.1 Taksonomi**

Tumbuhan Pacar Air (*Impatiens balsamina* Linn.) tergolong dalam klasifikasi sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Superdivisi	: Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida (berkeping dua dikotil)
Subkelas	: Rosidae
Ordo	: Geraniales
Famili	: Balsaminaceae
Genus	: <i>Impatiens</i>
Spesies	: <i>Impatiens balsamina</i> L (Tjitrosoepomo, 2000).



Gambar 2.1. Tumbuhan Pacar Air (*Impatiens balsamina* L)  
([www.plantamor.com](http://www.plantamor.com))

*Impatiens balsamina* L juga memiliki sebutan berbeda di beberapa daerah di Indonesia, yaitu:

Sumatera	: Lahine, paruina,
Jawa	: pacar air, pacar banyu
Jakarta	: Kimhong
Nusatenggara	: pacar foya, pacar aik
Maluku	: inai anyer
Sulawesi	:Tilang-gele duluku, kolendingi ungaagu, Bunga jabelu, giabebe, gofu, laka gofu, bunga taho

(Tjitrosoepomo, 2000).

### 2.1.2 Morfologi

Tumbuhan Pacar Air tergolong dalam jenis tanaman perdu atau pohon kecil dengan tinggi 30-80 cm. Deskripsi bagian-bagian tanaman ini adalah sebagai berikut:

#### a. Batang

Pacar air merupakan tanaman herba berbatang basah, lunak, bulat, bercabang, warna hijau kekuningan. Arah tumbuhnya tegak, percabangannya monopodial (Tjitrosoepomo, 2000).

#### b. Daun

Daun tunggal, tersebar, berhadapan, atau dalam karangan. Bentuk daun lanset memanjang, pinggirnya bergerigi, ujung meruncing, tulang daun menyirip, dan pangkal daun bergerigi tajam runcing. Bagian bawah membentuk roset akar. Warna daun hijau muda tanpa daun penumpu. Luas daunnya sekitar 2 sampai 4 inci. (Tjitrosoepomo, 2000).

**c. Akar**

Tumbuhan Pacar Air memiliki akar serabut (Tjitrosoepomo, 2000).

**d. Buah**

Bakal buah menumpang, beruang 4-5. Dalam satu ruangan tersebut terdapat dua atau lebih bakal biji. Buah membuka kenyal dan termasuk buah batu dengan 5 inti. Bentuk buah eliptis, pecah menurut ruang secara kenyal. Benihnya *endospermic*. (Tjitrosoepomo, 2000).

**e. Bunga**

Tanaman ini memiliki aneka macam warna bunga. Ada yang putih, merah, ungu, kuning, jingga, dll. Jika Pacar Air yang berbeda warna disilangkan, maka akan terbentuk keturunan yang beraneka ragam. Bunga *zygomorph*, berkelamin 2, di ketiak. Daun kelopak 3 atau 5, lepas atau sebagian melekat, bertaji. Daun kelopak samping berbentuk corong miring, berwarna, dan terdapat noda kuning di dalamnya. Sedikit di atas pangkal daun mahkota memanjang menjadi taji dengan panjang 0,2-2 cm. Daun mahkota 5, lepas. Daun mahkota samping berbentuk jantung terbalik dengan panjang 2-2,5 cm, yang 2 bersatu dengan kuku, yang lain lepas tidak berkuku dan lebih pendek. Ada 5 benangsari dengan tangkai sari yang pendek, lepas, agak bersatu. Kepala sarinya bersatu membentuk tudung putih. Bunga terkumpul 1-3. Setiap tangkai hanya berbunga 1 dan tangkainya tidak beruas. Memiliki 5 kepala putik. (Tjitrosoepomo, 2000)

**2.1.3 Habitat**

Pacar Air tersebar di daerah tropik, namun tidak dapat hidup pada daerah yang kering. Tumbuhan ini menyukai tanah gembur yang tidak terendam air, dengan air tanah yang tidak dalam. Tanaman ini sangat peka terhadap hama, biasanya tumbuh di pekarangan rumah pada ketinggian 1-900 m. Pacar Air

sering ditanam sebagai tanaman hias, tanaman obat, atau karena bunganya yang indah (Tjitrosoepomo, 2000).

#### **2.1.4 Kandungan Kimia**

Pacar Air mengandung zat-zat aktif seperti pada bunga yang mengandung *antosianin*, *cyanidin*, *delphinidin*, *pelargonidin*, *malvidin*, *kaempherol*, *quercetin*. Bijinya mengandung saponin dan kandungan minyak seperti *y-spinasterol*, *B-ergosterol*, *balsaminasterol*, dan juga kandungan racunnya. Dan dalam daunnya mengandung flavonoid, kumarin, dan saponin (Adfa, 2001, Zainab dan Sumiwi, 2007).

##### **2.1.4.1 Flavonoid**

Senyawa flavonoid merupakan senyawa fenol yang terbesar yang ditemukan di dalam tumbuhan tingkat tinggi. Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, dan biru dan sebagai zat warna kuning yang ditemukan di tumbuh-tumbuhan (Lenny, 2006). Flavonoid merupakan senyawa polar karena mengandung sejumlah gugus hidroksi sehingga umumnya senyawa ini dapat larut dalam pelarut polar seperti etanol. Senyawa ini mempunyai kerja menghambat DNA gyrase yang berperan sebagai repair pada DNA yang rusak, menghambat enzim untuk metabolisme energi, menghambat fungsi membran sitoplasma, dan merusak dinding sel (Cushnie, 2005).

##### **2.1.4.2 Kumarin**

Kumarin adalah senyawa fenol yang pada umumnya berasal dari tumbuhan tinggi. Salah satu senyawa yang terkandung adalah golongan 4-hidroksi kumarin yang memiliki sifat antibakteri melalui mekanismenya mengganggu sintesis sitokrom untuk kebutuhan respirasi bakteri, menurunkan

jumlah ergosterol yang menyusun membran sel bakteri, dan merusak asam amino-asam amino pada sel bakteri (Thati, 2007; Adfa, 2006).

#### **2.1.4.3 Saponin**

*Saponin* memiliki aktifitas luas sebagai agen antifungi, penurun kolesterol tubuh, dan menghambat pertumbuhan sel kanker. Senyawa ini merupakan membranolitik karena mengubah fluiditas membran sehingga mengganggu aktifitas enzimatik membran sel dan transport ion yang melewati membran sel (Cheeke, 2001).

Saponin merupakan senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun. Penyarian senyawa saponin akan memberikan hasil yang lebih baik sebagai antibakteri jika menggunakan pelarut polar seperti etanol 96%. Pada hidrolisis, saponin menghasilkan aglikon yang disebut sapogenin (sebagai kortison). Berdasarkan strukturnya, saponin ada dua yaitu steroid dan triterpenoid. Saponin steroid terdapat dalam tumbuhan monokotil, dan saponin triterpenoid terdapat dalam tumbuhan dikotil. Saponin memacu pembentukan kolagen, yaitu protein struktural yang berperan dalam proses penyembuhan luka (Kristanti, 2003).

#### **2.2 Metode Ekstraksi Zat Aktif Bahan Alam (Herbal)**

Ekstraksi adalah penyaringan zat-zat berkhasiat atau zat-zat aktif dari bagian tanaman obat, hewan dan beberapa jenis ikan termasuk biota laut. Zat-zat aktif terdapat di dalam sel, namun sel tanaman dan hewan berbeda demikian pula ketebalannya, sehingga diperlukan metode ekstraksi dengan pelarut tertentu dalam mengekstraksinya.

Tujuan ekstraksi bahan alam adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. Ekstraksi ini didasarkan pada prinsip perpindahan

masa komponen zat ke dalam pelarut, dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka, kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut.

Jenis ekstraksi bahan alam yang sering dilakukan adalah ekstraksi secara panas dengan cara refluks, soxhletasi, dan penyulingan uap air. Ekstraksi secara dingin dengan cara maserasi dan perkolasi (Harbone, 1987).

## **2.2.1 Cara Panas**

### **2.2.1.1 Ekstraksi secara Refluks**

Ekstraksi dengan cara ini pada dasarnya adalah ekstraksi berkesinambungan. Bahan yang akan diekstraksi direndam dengan cairan penyari dalam labu alas bulat yang dilengkapi dengan alat pendingin tegak, lalu dipanaskan sampai mendidih. Cairan penyari akan menguap, uap tersebut akan diembunkan dengan pendinginan tegak dan akan kembali menyari zat aktif dalam simplisia tersebut, demikian seterusnya. Ekstraksi ini biasanya dilakukan 3 kali dan setiap kali diekstraksi selama 4 jam (Harbone, 1987).

### **2.2.1.2 Ekstraksi secara Soxhletasi**

Ekstraksi dengan cara ini pada dasarnya ekstraksi secara berkesinambungan. Cairan penyari dipanaskan sampai mendidih. Uap penyari akan naik melalui pipa samping, kemudian diembunkan lagi oleh pendinginan tegak. Cairan penyari turun untuk menyari zat aktif dalam simplisia. Selanjutnya bila cairan penyari mencapai sifon, maka seluruh cairan akan turun ke labu alas bulat dan terjadi proses sirkulasi. Demikian seterusnya sampai zat aktif yang terdapat dalam simplisia tersari seluruhnya yang ditandai jernihnya cairan yang lewat pada tabung sifon (Harbone, 1987).

### **2.2.1.3 Ekstraksi secara Penyulingan**

Penyulingan dapat dipertimbangkan untuk menyari serbuk simplisia yang mengandung komponen kimia yang mempunyai titik didih yang tinggi pada tekanan udara normal, karena pada pemanasan dapat merusak zat aktifnya (Harbone, 1987).

## **2.2.2 Cara Dingin**

### **2.2.2.1 Ekstraksi secara Maserasi**

Maserasi merupakan proses perendaman sampel dengan pelarut organik yang digunakan pada temperatur ruangan. Maserasi dilakukan dengan cara memasukkan 10 bagian simplisia dengan derajat yang cocok ke dalam bejana, kemudian dituangi dengan penyari 75 bagian, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari, terlindung dari cahaya sambil diaduk sekali-kali setiap hari lalu diperas dengan ampasnya dimaserasi kembali dengan cairan penyari. Penyarian diakhiri setelah pelarut tidak berwarna lagi, lalu dipindahkan ke dalam bejana tertutup, dibiarkan pada tempat yang tidak bercahaya, setelah dua hari lalu endapan dipisahkan (Harbone, 1987).

Proses ini sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam karena dengan perendaman sample tumbuhan seperti daun, biji serta kulit pohon akan terjadi pemecahan dinding serta membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel sehingga metabolit sel yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik. Selain itu, ekstraksi senyawa dengan metode ini akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan (Sofia, 2006).

### 2.2.2.2 Ekstraksi secara Perkolasi

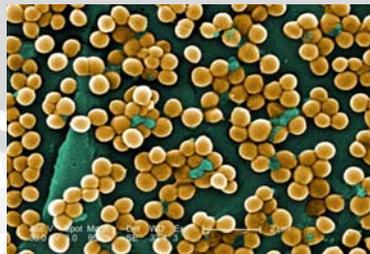
Perkolasi dilakukan dengan cara dibasahkan 10 bagian simplisia dengan derajat halus yang cocok, menggunakan 2,5 bagian sampai 5 bagian cairan penyari dimasukkan dalam bejana tertutup sekurang-kurangnya 3 jam. Masa dipindahkan sedikit demi sedikit ke dalam perkolator, ditambahkan cairan penyari. Perkolator ditutup dibiarkan selama 24 jam, kemudian kran dibuka dengan kecepatan 1ml permenit sehingga simplisia tetap terendam. Filtrat dipindahkan ke dalam bejana, ditutup dan dibiarkan selama 2 hari pada tempat terlindung dari cahaya (Harbone, 1987).

## 2.3 *Staphylococcus aureus*

### 2.3.1 Taksonomi

*Staphylococcus aureus* digolongkan dalam taksonomi sebagai berikut :

Kingdom	: Monera
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Basilli
Ordo	: Bacillales
Famili	: Staphylococcaceae
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i> (Tjitrosoepomo, 2000)

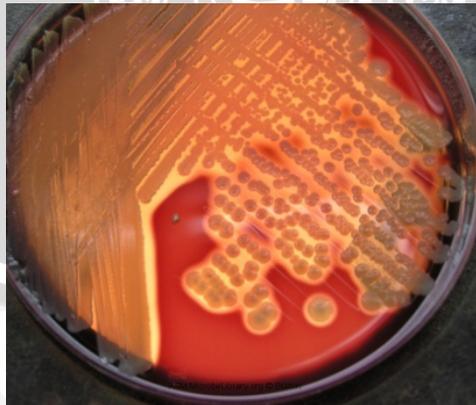


Gambar 2.2 *Staphylococcus aureus* dengan mikroskop elektron berbentuk sferis, bergerombol dan tidak bergerak (Hageman, 2005).

### 2.3.2 Morfologi dan Identifikasi

Bakteri *Staphylococcus* berbentuk bulat dengan diameter kurang lebih 0,4-1,2  $\mu\text{m}$ . Hasil pewarnaan yang berasal dari pembenihan padat akan memperlihatkan susunan bakteri menyerupai bentuk buah anggur yang tersusun tidak teratur satu sama lain. Bakteri ini merupakan bakteri Gram positif dan tidak aktif melakukan pergerakan (*non motil*), sebagian besar adalah saprofit yang hidup di alam bebas namun habitat alamiahnya adalah pada permukaan epitel golongan primata/mamalia, mikroaerofilik, katalase positif,  $\beta$  hemolitik, toleran terhadap garam (halodurik) dan menghasilkan pigmen kuning pada media NAP (Dzen *et al.*, 2003).

Bakteri *S.aureus* cepat tumbuh diberbagai media dengan kondisi aerob atau mikroaerofilik dan aktif secara metabolik. *S.aureus* tumbuh paling cepat pada suhu 37°C. Bentuk koloni *S.aureus* pada media padat berupa koloni bulat, halus, menonjol, transparan, dan mengkilat. Diameter koloni biasanya besar yakni antar 6-8 mm. *S.aureus* bersifat  $\beta$  hemolitik apabila dikultur pada *blood agar plate* (Brooks *et al.*, 2007). Koloni *S.aureus* akan segera tumbuh setelah inkubasi selama 24 jam (Kayser, 2005).

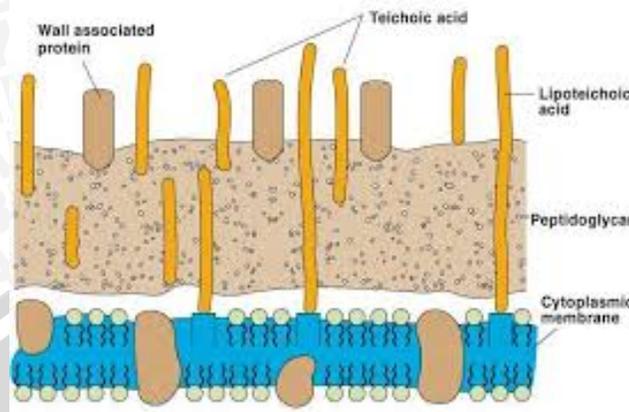


Gambar 2.3 Kultur *S.aureus* pada Blood Agar Plate terdapat hemolisis tipe  $\beta$  (Rebecca, 2002)

Bakteri *S.aureus* bersifat memfermentasi karbohidrat dan memproduksi pigmen yang bervariasi dari abu-abu hingga kuning emas tua. Produksi pigmen paling baik pada suhu ruang yakni 20-25°C. Pigmen tidak dapat terbentuk apabila kondisi anaerob. Bakteri *S.aureus* relatif resisten terhadap pengeringan, pemanasan (dapat bertahan pada suhu 50°C selama 30 menit), dan terhadap pemberian larutan NaCl 9% (Brooks *et al*, 2007).

Bakteri *S.aureus* memproduksi enzim katalase, yang merupakan pembeda dengan golongan *Streptococci*. Bakteri *S.aureus* juga memproduksi asam laktat hasil fermentasi karbohidrat namun tidak membentuk gas. Selain itu, bakteri ini bersifat koagulan terhadap plasma darah karena terdapat produksi enzim koagulase yang dapat bereaksi dengan fibrinogen dan enzim *extracelular staphylocoagulase* yang dapat bereaksi dengan *prothrombin* sehingga terbentuk *staphylothrombin*. 97% dari isolat *S.aureus* memiliki kedua bentuk koagulase tersebut (Tolan, 2009).

Bakteri *S.aureus* dikelilingi oleh membran unit yang disebut *cytoplasmic membrane* dan pada mikrofografi elektron, dinding bakteri di luar *cytoplasmic membrane* tampak tersusun atas lapisan tebal (hingga 80 nm) yang sedikit lebih homogen (Gorbach *et al*, 2004). Dinding sel bakteri ini mengandung *peptidoglycan*, *asam teikoat*, dan *asam lipoteikoat* (Tolan, 2009). *Peptidoglycan* menyusun 30% massa kering dinding sel bakteri. Asam lipoteikoat pada *cytoplasmic membrane* sedangkan asam teikoat berikatan secara kovalen dengan *peptidoglycan*. Asam teikoat diduga berperan dalam proses autolysis dan pembelahan sel serta dapat bersifat antigenik bagi manusia (Kayser, 2005).



Gambar 2.4 Struktur dinding sel *S.aureus*  
(Kayser, 2005)

### 2.3.3 Faktor Virulensi

#### 2.3.3.1 Struktur Antigen

Bakteri *Staphylococcus aureus* mengandung pigmen polisakarida dan protein serta substansi-substansi lain yang penting pada struktur dinding selnya. Polisakarida pada *S.aureus* berupa *peptidoglycan* yang tersusun atas beberapa subunit dan berperan dalam membentuk *exoskeleton* dinding sel bakteri yang kaku. *Peptidoglycan* dapat rusak menggunakan asam kuat atau pemaparan terhadap *lysozime*. Dalam pathogenesis infeksi, *peptidoglycan* dapat menginduksi produksi IL-1 yang merupakan pirogen endogen (substansi untuk meningkatkan suhu tubuh) dan *opsonic antibody* oleh monosit. *Peptidoglycan* ini juga bisa berfungsi sebagai kemoatraktan untuk leukosit *polymorphonuclear*, beraktifitas seperti endotoksin, dan mengaktivasi komplemen (Brooks *et al*, 2007).

Antigen lain yang dimiliki oleh *S.aureus* adalah asam teikoat yang merupakan polimer dari gliserol atau *ribitol* fosfat. Asam teikoat ini dapat bersifat antigenik karena terhubung ke *peptidoglycan*. Antibodi terhadap asam teikoat ini dapat dideteksi contohnya pada infeksi *S.aureus* pada katub jantung (Brooks *et*

al,2007). Seperti *peptidoglycan*, asam teikoat juga dapat mengaktivasi komplemen melalui *alternative pathway* dan menstimulasi makrofag untuk mensekresikan sitokin (Kayser, 2005)

Komponen dinding sel lain yang penting adalah protein A yang dapat menempel pada bagian Fc dari molekul IgG kecuali IgG<sub>3</sub>. Bagian antibodi yang bebas yakni Fab dapat berkombinasi dengan antigen spesifik. Kedua hal tersebut menyebabkan protein A menjadi penting sebagai reagen pada imunologi dan teknik diagnosis laboratorium contohnya, protein A yang menempel pada IgG dengan spesifisitas terhadap antigen bakteri tertentu yang mengaglutinasi bakteri yang memiliki antigen tersebut (*coagglutination*). Beberapa galur *S.aureus* memiliki kapsul yang dapat menghambat fagositosis oleh sel leukosit *polymorphonuclear* kecuali apabila sudah terdapat antibodi spesifik terhadap kapsul bakteri tersebut (Brooks *et al*, 2007).

#### 2.3.3.2 Enzim

Enzim merupakan substansi ekstraseluler yang dihasilkan oleh *S.aureus*. Sebagian besar *S.aureus* memiliki enzim koagulase pada permukaan dinding sel. Koagulase sebenarnya merupakan protein yang mirip enzim yang dapat menggumpalkan plasma oksalat atau plasma sitrat. Dalam darah, koagulase akan berkaitan dengan *prothrombin* yang memicu aktivasi enzimatik koagulase sehingga koagulase dapat menginisiasi polimerisasi fibrin. Koagulase dapat mengumpulkan fibrin pada permukaan *S.aureus* sehingga menurunkan potensi fagositosis oleh sistem imun. Koagulase juga berkaitan dengan potensi patogenik dari *S.aureus* (Brooks *et al*,2007).

Bakteri *S.aureus* juga menghasilkan enzim katalase. Enzim ini dapat mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen. Enzim katalase menjadi

ciri khas golongan *Staphylococci* untuk dibedakan dari *Streptococci*. Enzim lain yang dihasilkan oleh *S.aureus* adalah *clumping factor* yang merupakan senyawa permukaan yang berperan dalam pelekatan *S.aureus* pada *fibrinogen* dan *fibrin* sehingga saat berada di dalam plasma darah, *S.aureus* dapat membentuk gumpalan (Brooks *et al*,2007).

### 2.3.3.3 Toksin

Terdapat 4 jenis toksin pada *Staphylococcus aureus*, yaitu eksotoksin, enterotoksin, toksin epidermolitik dan toksin *toxic shock sindrom*.

**Eksotoksin** *Staphylococcus* bersifat tidak tahan panas dan dapat menyebabkan nekrosis lapisan dermis. Dengan elektroforesis dapat dipisahkan beberapa eksotoksin yaitu:

- a. Toksin alfa : bersifat mematikan leukosit dan makrofag. Dapat menyebabkan lisis eritrosit kelinci dan merusak trombosit. Pada penyuntikan intrakutan dapat menyebabkan nekrosis dan mempunyai efek letal. Toksin alfa ini dapat dipakai untuk menentukan virulensi,
- b. Toksin beta : dapat menimbulkan lisis (meski lemah) terhadap eritrosit beri-beri dan bersifat toksin untuk hewan. Pada eritrosit sapi mempunyai *hold cold type*, artinya pada BAP darah sapi pada 37°C tampak dekolorisasi disekitar koloni dan pada waktu didinginkan dalam lemari es selama 24 jam terjadi hemolisis komplrit,
- c. Toksin delta : bersifat nontoksik dan dapat merusak sel eritrosit manusia dan kuda,
- d. Panton-Valentin (PV) atau leukosidin L bersifat tahan terhadap pemanasan, non hemolitik dan dinetralsir oleh kolesterol. Metabolit ini

dapat mematikan sel darah putih semua spesies kecuali biri-biri dan bisa dihasilkan oleh beberapa galur koagulasi negatif (Dzen *et al.*, 2003).

**Enterotoksin** dihasilkan oleh galur yang mengandung faga grup III, atau 30% oleh galur dengan tes koagulase positif. Diproduksi bila ditanam pada medium semisolut dengan konsentrasi CO<sub>2</sub> 30%. Enterotoksin ini merupakan protein dengan berat molekul sekitar 35kD, tahan terhadap pemanasan/pendinginan selama 30 menit, dan sering merupakan penyebab dari kasus keracunan makanan. Seseorang yang menelan enterotoksin lebih 25µm akan menyebabkan muntah dan diare. Efek emetik ini akibat rangsangan pada CNS (Dzen *et al.*, 2003).

**Toksin epidermolitik** menyebabkan terjadinya *scalded skin syndrome*. Sindroma ini berupa pelepasan epidermis kulit sebagai akibat lisisnya perlekatan antara sel pada stratum germinativum, tanpa disertai peradangan dan kematian sel (Dzen *et al.*, 2003).

**Toksin toxic shock syndrome** menyebabkan terjadinya sindrom klinik berupa panas (febris), ruam kulit, hipotensi bahkan sampai shock. Diperkirakan toksin ini merangsang sel-sel imunokompeten dalam jumlah yang cukup banyak sehingga digolongkan sebagai superantigen (Dzen *et al.*, 2003).

#### 2.3.4 Patogenesis dan Patologi

Temuan Von Eiff *et al.*(2001) dalam Tolan (2009), mendeskripsikan 3 pola *carrier* untuk *S.aureus* yakni orang yang selalu membawa galur *S.aureus*, orang yang membawa *S.aureus* secara intermiten dengan galur yang selalu berganti, dan orang yang tidak pernah membawa *S.aureus*. *Carrier* persisten sering kali tedapat pada anak-anak sehingga infeksi lebih banyak terjadi pada anak-anak. Von Eiff menemukan juga bahwa pada isolat dari sebagian besar pasien dengan

bakterimia *S.aureus* sama dengan isolate yang didapatkan dari *nares* anterior (Tolan, 2009).

Kemampuan up-regulasi dari faktor virulensi dibawah rangsangan stress adalah faktor kunci yang membuat *S.aureus* mampu bertahan di aliran darah, di jaringan organ dalam, dan untuk membentuk fokus infeksi sekunder. Galur *S.aureus* mampu menempel dan berkolonisasi di kulit dan mukosa hidung dan mampu pula invasi ke aliran darah, meloloskan diri dari respon imun hospes, membentuk biofilm, dan mengembangkan resistensi terhadap beberapa antibiotik.

a. Adhesi dan kolonisasi

*S.aureus* memiliki asam teikoik yang memiliki peran untuk adesi dan kolonisasi (Weidenmaier *et al.*, 2004). *S.aureus* juga dapat meningkatkan regulasi bermacam-macam faktor virulensi tersebut sehingga membuatnya dapat melekat dan berkolonisasi di hidung dan merusak kulit atau struktur dari alat/bahan implan dan dapat menyebabkan infeksi sistemik yang serius.

b. Invasi

*S.aureus* dapat merusak barrier kulit dengan mengekskresikan eksfoliatif toksin, hemolisin (termasuk  $\alpha$ -hemolisin/otoksin, yang membentuk pori pada membran sel) dan berbagai macam enzim penghancur jaringan. Invasi ini dipicu oleh imunitas yang rendah, ketika ada kerusakan pada kulit, dan atau ketika terjadi inflamasi lokal (Lowy, 1998).

c. Evasi

*S.aureus* mampu meloloskan diri (evasi) dari respon imun hospes dengan mensekresikan anti-opsonin protein (misalnya *chemotaxis inhibitory protein*), sehingga dapat mencegah fagositosis dari neutrofil. Protein A, yang terdapat

pada permukaan sel *S.aureus*, juga mempunyai sifat antifagosit. Selanjutnya *S.aureus* juga mensekresikan leukotoksin (seperti *Panton-Valentine leukocidin*) yang melisiskan leukosit, dan mengekspresikan superantigen (seperti enterotoksin dan *toxic shock sindrom toksin*) yang melumpuhkan respon imun normal induksi kuat, poliklonal stimulasi dan ekspansi sel T reseptor  $V\beta$ -spesifik sel T (diikuti oleh supresi sel T) (Wang *et al.*, 1998).

d. Biofilm

*S.aureus* meregulasi ekspresi gen untuk membentuk biofilm pada bagian kulit yang rusak, alat-alat medis yang berada dalam tubuh, dan katup jantung yang rusak maupun yang sehat. Hilangnya nutrisi dan oksigen membuat bakteri memasuki fase tidak tumbuh yang membuatnya kurang rentan dengan antibiotik. Biofilm merupakan perlindungan bakteri dari serangan sel imun dan membatasi penetrasinya sehingga sel-sel imun tersebut tidak mampu menembus untuk berikatan dengan bakteri *S.aureus* (Patel, 2005).

e. Resistensi

Beberapa galur dari *S.aureus* menghasilkan enzim penisilinase sehingga resisten terhadap golongan obat penisilin, tapi biasanya masih peka terhadap golongan penisilin yang tahan terhadap penisilinase, misalnya metisilin dan oksasilin. Namun demikian, juga telah dikenal galur staphylococcus yang resisten terhadap metisilin yang disebut *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dan *Methicillin Resistant Staphylococcus epidermidis* (MRSE). Galur ini sering menimbulkan masalah di klinik karena sifatnya yang resisten terhadap berbagai antibioktik golongan  $\beta$ -laktam, tetapi biasanya masih peka terhadap vankomisin atau golongan aminoglikosida (Dzen *et al.*, 2003).

## 2.4 Uji Kepekaan terhadap Antimikroba in Vitro

Uji kepekaan terhadap obat antimikroba pada dasarnya dapat dilakukan melalui dua cara, yaitu metode dilusi dan metode difusi cakram (Dzen *et al.*, 2003).

### 2.4.3 Metode Dilusi

Cara Metode Dilusi ini digunakan untuk menentukan KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bunuh Minimum) dari obat antimikroba. Metode dilusi ada dua macam yaitu dilusi tabung dan dilusi agar.

#### 2.4.3.1 Metode Dilusi tabung

Prinsip dari metode dilusi tabung adalah sebagai berikut, menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi media cair dan sejumlah tertentu sel bakteri yang diuji, suspensi bakteri yang diujikan memiliki konsentrasi  $10^6$  CFU/ml. Kemudian masing-masing tabung diisi dengan obat yang telah diencerkan secara serial. Selanjutnya, seri tabung diinkubasikan dengan suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 18-24 jam dan diamati terjadinya kekeruhan pada tabung. Konsentrasi terendah obat pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan mikroba) adalah KHM dari obat. Selanjutnya biakan dari semua tabung jernih diinokulasikan pada medium agar padat, diinkubasikan dan keesokan harinya diamati ada tidaknya koloni bakteri yang tumbuh. Konsentrasi terendah obat pada biakan padat yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri adalah KBM dari obat terhadap bakteri uji (Dzen *et al.*, 2003). KBM juga didefinisikan sebagai konsentrasi terendah dari biakan padat yang menunjukkan pertumbuhan koloni sebesar  $\leq 0,1\%$  *Original inoculum* (Baron *et al.*, 1994).

#### 2.4.3.2 Metode Dilusi Agar

Uji kepekaan antimikroba yang lain adalah menggunakan metode dilusi agar. Metode dilusi agar digunakan untuk menentukan konsentrasi minimum yang dibutuhkan oleh suatu bahan antimikroba untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Dengan mengetahui konsentrasi hambat minimum suatu bahan antimikroba tersebut, resistensi terhadap suatu bahan antimikroba tertentu dapat dicegah (Levinson, 2004).

Dalam metode dilusi agar, suspensi bakteri yang diujikan memiliki konsentrasi  $10^6$  CFU/ml. Pada metode ini agen antimikroba dicampurkan ke agar kemudian ditambahkan dengan 0,01 ml suspensi bakteri sehingga jumlah bakteri yang digunakan adalah  $10^4$  CFU. Nilai KHM ditentukan berdasarkan konsentrasi terendah yang tidak ditemukan pertumbuhan bakteri uji (Baron *et al.*, 1994).

Kerugian metode ini adalah lamanya waktu yang dibutuhkan dan ketergantungan terhadap tenaga ahli yang mampu melakukan prosedur pengujian mulai dari persiapan alat-alat, pembuatan medium hingga proses inokulasi (Baron *et al.*, 1994).

#### 2.4.4 Metode Difusi

Prinsip metode difusi cakram adalah sebagai berikut, kertas saring direndam dalam obat (cakram kertas). Cakram kertas yang mengandung obat tertentu ditanam pada media perbenihan agar padat yang telah dicampur dengan bakteri uji, kemudian diinkubasi  $37^{\circ}\text{C}$  selama 18-24 jam. Selanjutnya diamati adanya zona jernih disekitar cakram kertas yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri (Dzen *et al.*, 2003).

Untuk mengevaluasi hasil kepekaan bakteri sensitif terhadap obat, dapat dilakukan dengan dua cara sebagai berikut : (Dzen *et al.*, 2003).

- a. Cara Kirby Bauer, yaitu cara membandingkan diameter dari area jernih (zona hambatan) disekitar cakram dengan tabel standart yang dibuat oleh NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standart*). Dengan tabel NCCLS ini dapat diketahui kriteria sensitif, sensitif intermediet dan resistensi.
- b. Cara Joan Stokes, yaitu cara membandingkan radius zona hambatan yang terjadi antara bakteri kontrol yang sudah diketahui kepekaannya terhadap obat tersebut dengan isolat bakteri yang diuji. Pada cara Joan Stokes, prosedur uji kepekaan untuk bakteri kontrol dan bakteri uji dilakukan bersama-sama dalam satu piring agar.

