

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) berasal dari bahasa Yunani, *staphyle*, yang berarti sekelompok anggur. Bakteri ini dinamakan *staphyle* karena memiliki morfologi koloni yang bergerombol seperti buah anggur pada media perbenihan padat (Dzen *dkk.*, 2010). Bakteri ini merupakan salah satu flora normal tubuh, hidup di kulit dan di membran mukosa manusia dan binatang. Habitat utamanya adalah dalam hidung, lipatan ketiak manusia, dan kulit serta rambut dari binatang berdarah panas (Salasia *dkk.*, 2011).

Genus *Staphylococcus* memiliki sekurangnya lebih dari 40 spesies, dan beberapa spesies di antaranya adalah flora normal kulit dan membran mukosa manusia, sedangkan sisanya merupakan penyebab infeksi pyogenik, abses, atau bahkan septiksemia yang fatal (Brooks *et al.*, 2010; Dzen *dkk.*, 2010). Bakteri ini dapat menyebabkan penyakit infeksi pada manusia dan binatang dalam kondisi tertentu di mana imunitas pejamu (*host*) menurun dan kolonisasi bakteri meningkat, misalnya pada pasien-pasien *immunocompromised*, karena infeksi HIV/AIDS, penyakit kanker, malnutrisi, hemodialisis, diabetes mellitus, pasien perawatan kritis, pasca tindakan operatif (bedah), pasca transplantasi organ, dan pasien-pasien yang mendapat terapi obat-obatan steroid (Köck *et al.*, 2010).

2.1.1. Taksonomi

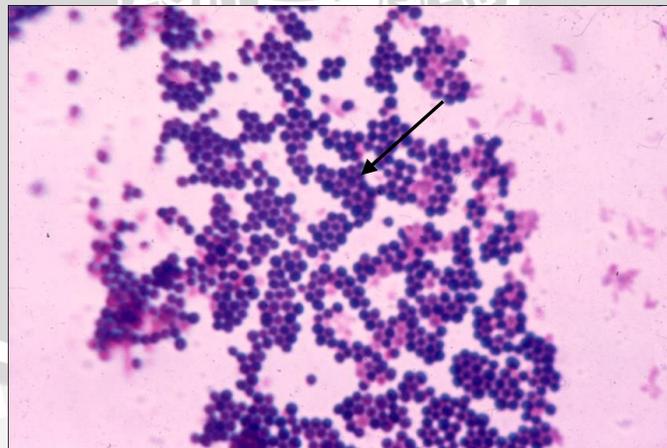
Taksonomi dari *S. aureus* adalah sebagai berikut :

Kingdom : Procaryotes

Divisi	: Bacteria
Famili	: Micrococcae
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Species	: <i>Staphylococcus aureus</i> (<i>S. aureus</i>)

2.1.2 Morfologi dan Sifat Pewarnaan

S. aureus merupakan bakteri kokus Gram positif yang biasanya tersusun membentuk kelompok tidak beraturan menyerupai buah anggur (Hardy *et al.*, 2004). Bakteri *S. aureus* berbentuk bulat (spheres) atau kokus dengan diameter 0,4-1,2 μm . Hasil pewarnaan yang berasal dari perbenihan padat akan memperlihatkan susunan bakteri bergerombol seperti buah anggur. Sedangkan hasil pewarnaan yang berasal dari perbenihan cair akan memperlihatkan bakteri yang terlepas sendiri-sendiri. *S. aureus* bersifat tidak motil dan tidak membentuk spora (Dzen *dkk.*, 2010). Pada Gambar 2.1, bakteri tercat warna ungu yang menandakan sifat Gram positif, dan bergerombol menyerupai anggur.



Gambar 2.1 Morfologi *S. aureus* diamati dengan mikroskop pembesaran 1000X, pengecatan Gram. (Chamberlain, 2001)

2.1.3 Identifikasi *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus bersifat aerob atau anaerob fakultatif, tes katalase positif, dan tahan hidup dalam lingkungan yang banyak mengandung garam dengan konsentrasi tinggi (halofilik). *Staphylococcus* juga memproduksi enzim katalase yang membedakannya dengan genus *Streptococcus*. *Staphylococcus* juga memfermentasi karbohidrat dengan lambat, menghasilkan asam laktat (Brooks *et al.*, 2010). Untuk mengidentifikasi *S aureus*, isolat bakteri yang diduga *S aureus* ditumbuhkan pada medium yang diperkaya dengan garam mannitol (*Mannitol Salt Agar*), lalu diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil positif *S. aureus* ditandai dengan warna kekuningan pada indikator fenolik merah, yang berarti bahwa bakteri memfermentasikan manitol.

2.1.4 Kultur dan Karakteristik Perbenihan

S. aureus umumnya dapat tumbuh di media bakteriologis mana saja, dengan kondisi aerob atau mikroaerofilik. Mereka tumbuh sangat cepat pada suhu 37°C (Dzen *dkk.*, 2010) tapi paling baik membentuk pigmen pada suhu ruang (20-25°C). Umumnya *S. aureus* akan membentuk koloni berwarna abu-abu hingga kuning keemasan pada media padat. Sedangkan pada kondisi anaerob, mereka tidak akan menghasilkan pigmen. pH optimal untuk pertumbuhan *S. aureus* adalah 7,4 (Brooks *et al.*, 2010).

S. aureus dapat tumbuh pada medium *Nutrient Agar Plate (NAP)*, yang penting untuk mengetahui pembentukan pigmen pada *S. aureus*, dan medium *Blood Agar Plate (BAP)*, yang dipakai secara rutin untuk membedakan *strain* patogen dengan nonpatogen berdasarkan zona hemolisa yang terbentuk. Untuk dapat membiakkan *S. aureus* diperlukan medium yang mengandung asam amino dan vitamin-vitamin, misalnya threonin, biotin, dan asam nikotinat.

Sedangkan untuk membuat isolat primer dari infeksi campuran, diperlukan medium yang mengandung garam NaCl konsentrasi tinggi, misalnya 7,5% atau medium mengandung polimiksin (*Polymixin Staphylococcus medium*) (Dzen dkk., 2010).

2.1.5 Daya Tahan *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus merupakan bakteri yang paling tahan terhadap bahan-bahan kimia di antara bakteri yang tidak membentuk spora. Dalam suhu kamar pada agar miring atau keadaan beku, *S. aureus* dapat bertahan hidup sampai beberapa bulan, sedangkan dalam keadaan kering, misalnya pada pus, dapat bertahan hidup selama 14-16 minggu. *Staphylococcus* bersifat relatif tahan terhadap pemanasan pada suhu 60°C selama 30 menit. Terhadap berbagai bahan kimia, *Staphylococcus* memiliki daya tahan yang bervariasi, misalnya pada larutan fenol 2% akan mati dalam waktu 15 menit, pada larutan H₂O₂ 3% akan mati dalam waktu 3 menit, sedangkan dalam *tinctura iodii* akan mati dalam waktu 1 menit (Dzen dkk., 2010).

2.1.6 Reaksi Biokimia

Semua *strain Staphylococcus* mampu memfermentasikan gula sederhana, misalnya glukosa, laktosa, sukrosa dan lain-lain, serta dapat mereduksi nitrat menjadi nitrit. *S. aureus* dapat memfermentasikan manitol, yang menjadi perbedaannya dengan spesies *S. epidermidis* dan *S. saprophyticus*. Sehingga, untuk dapat mengetahui kemampuan fermentasi terhadap manitol, isolat *S. aureus* ditumbuhkan pada medium mengandung garam manitol (*Mannitol Salt Agar*). Hasil positif apabila ada daerah terang atau *halo* berwarna kuning di sekitar koloni *S. aureus* (Brooks *et al.*, 2010; Dzen, dkk., 2010).

2.1.7 Variabilitas

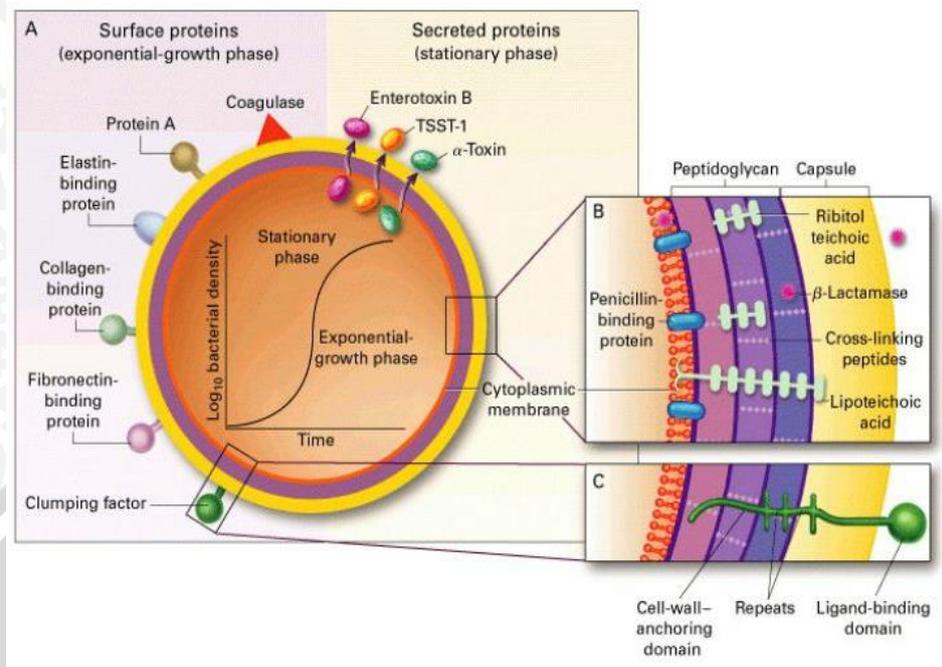
Terkadang dapat dijumpai koloni *S. aureus* yang berwarna putih, tidak berwarna (*translucent*), dan dapat pula disertai dengan perubahan faktor virulensi (Dzen *dkk.*, 2010). Suatu kultur *S. aureus* dapat mengandung beberapa bakteri yang berbeda dengan populasi dalam karakteristik koloninya (ukuran koloni, pigmen koloni, sifat hemolisis), enzim yang dihasilkan, resistensi obat, dan patogenisitas (Brooks *et al.*, 2010).

2.1.8 Faktor Virulensi dan Patogenisitas

Kemampuan virulensi dan patogenisitas *S aureus* dalam proses infeksi didapatkan dari struktur antigen yang dimilikinya, gabungan kemampuan cepat untuk bereplikasi dan menyebar di jaringan, dengan kemampuannya untuk memproduksi enzim-enzim dan toksin.

a. Struktur Antigen

S aureus memiliki antigen polisakarida dan protein juga beberapa substansi-substansi penting pada struktur dinding selnya. Dinding sel *S. aureus* mengandung peptidoglikan, asam teikoat, dan asam lipoteikoat. Struktur dinding sel *S. aureus* dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Struktur Dinding Sel *S. aureus* (Lowy et al., 1998).

Gambar 2.2 (a) menunjukkan permukaan dinding sel dan protein yang disekresi oleh bakteri *S. aureus*, di antaranya adalah protein A, *collagen-binding protein*, *elastin-binding protein* dan *fibronectin-binding protein* yang berperan dalam proses perlekatan bakteri ke *host*. Gambar 2.2 (b) dan (c) merupakan potongan *cross-sectional* pembungkus sel bakteri, yang terdiri dari peptidoglikan dan kapsul.

Peptidoglikan menyusun lebih dari 30% massa kering dinding sel bakteri. Peptidoglikan berisi subunit-subunit polisakarida dari *N-acetylglucosamine* dan *N-acetylmuramic acid*. Rantai peptidoglikan ini akan terikat pada *N-acetylmuramic acid* melalui jembatan pentaglisin spesifik untuk *S. aureus*. Peptidoglikan memiliki cara kerja yang sama dengan endotoksin, yaitu merangsang pelepasan sitokin dari makrofag, aktivasi komplemen, dan agregasi platelet (Biantoro, 2008). Peptidoglikan merangsang produksi dari interleukin-1 (IL-1) yang menyebabkan demam, dan antibodi opsonin dari

monosit. Peptidoglikan juga bersifat kemoatraktan terhadap sel-sel leukosit polimorfonuklear. Peptidoglikan dapat dihancurkan dengan asam kuat atau enzim lisozyme (Brooks *et al.*, 2010).

Asam lipoteikoat terikat pada membran sitoplasma sedangkan asam teikoat berikatan kovalen dengan peptidoglikan. Asam teikoat merupakan polimer dari gliserol atau ribitol fosfat. Asam teikoat diduga berperan penting dalam proses *autolysis* dan pembelahan sel serta dapat bersifat antigenik bagi manusia (Brooks *et al.*, 2010). Protein A merupakan komponen dinding sel kebanyakan *strain S. aureus* berikatan dengan bagian Fc molekul IgG. Protein A merupakan reagen penting dalam imunologi dan teknologi diagnostik laboratorium. Beberapa *stain S. aureus* memiliki kapsul yang menghambat fagositosis sel bakteri oleh sel PMN, mencegah reaksi koagulasi, dan mencegah melekatnya bakteriofaga (Dzen *dkk.*, 2010).

b. Toksin dan Enzim

S. aureus dapat menimbulkan penyakit melalui pembentukan komponen-komponen ekstraselular, seperti toksin dan enzim. Toksin *S. aureus* bersifat mematikan, tidak tahan panas dan dapat menyebabkan nekrosis pada lapisan dermis. Toksin dan enzim ini akan menyebabkan penyakit menyebar luas ke dalam jaringan. Beberapa toksin dan enzim yang dihasilkan *S. aureus* antara lain: (Brooks *et al.*, 2010)

- Katalase, merupakan suatu enzim yang dapat mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan hidrogen. Tes katalase dapat dipakai untuk membedakan antara *Staphylococcus* dengan *Streptococcus* yang menunjukkan hasil negatif untuk *Streptococcus*.
- Koagulasi, merupakan enzim bersifat antigenik pada *S. aureus* patogen. Enzim ini dapat menggumpalkan darah (*clotting agent*),

proteolitik dan esterolitik. Enzim ini terdapat dalam dua bentuk, yaitu *free coagulase*, yang dibebaskan ke dalam medium saat *S. aureus* dikultur, dan *bound coagulase (clumping factor)* yang tidak didapatkan dalam filtrat kultur. Tes koagulase penting untuk menentukan patogenesis *Staphylococcus*. Untuk keduanya, dilakukan tes koagulase dengan cara yang berbeda. Tes koagulase dilakukan mula-mula pada gelas objek, untuk menguji *bound coagulase*, jika hasilnya positif, dilanjutkan dengan tes koagulase tabung menggunakan plasma darah kelinci (Dzen *dkk.*, 2010).

- Hialuronidase, yang dihasilkan oleh 93,6% galur *Staphylococci* dengan hasil tes koagulase positif. Enzim ini mempermudah penyebaran bakteri di jaringan (Foster, 1996).
- Stafilokinase, yang dikenal juga sebagai fibrinolisin, merupakan metabolit yang bekerja sebagai aktivator enzim protease di dalam plasma. Enzim ini bersifat antigenik dan tidak tahan panas. Kerja enzim ini lebih lambat daripada streptokinase, proteinase, dan β -*lactamase* (Foster, 1996).
- Eksotoksin, meliputi beberapa toksin yang mematikan jika disuntikkan pada hewan, menyebabkan nekrosis pada kulit, dan mengandung hemolisin yang dapat larut dan dipisahkan dengan metode elektroforesis. Toksin alfa (α -toksin) bersifat mematikan leukosit, makrofag, eritrolisis, dan trombosit dengan cara melisiskan membran sitoplasma dengan cara masuk ke dalam membran lipid bilayer. Toksin ini dipakai untuk menentukan virulensi bakteri (Dzen *dkk.*, 2010; Brooks *et al.*, 2010).

- Toksin *Panton Valentine* (Leukosidin), yaitu toksin yang sering dikaitkan dengan beberapa penyakit kulit yang invasif. Leukosidin yang terikat pada fosfolipid membran sel fagosit menyebabkan peningkatan permeabilitas dan *protein leakage*, sehingga menyebabkan kematian sel neutrofil dan makrofag (Foster, 1996).
- Toksin eksfoliatif (toksin epidermolitik), menyebabkan deskuamasi (pengelupasan kulit) generalisata pada *staphylococcal scalded skin syndrome*. Toksin ini merupakan superantigen *S. aureus*. Toksin ini mampu menyebabkan pemisahan lapisan kulit dengan memisahkan *desmosome* dan mengubah matriks interseluler pada *stratum granulosum* epidermis (Brooks *et al.*, 2010).
- Toksin Sindroma Syok Toksik (TSST-1), adalah toksin yang dapat menstimulasi pelepasan sitokin dan memiliki efek langsung juga terhadap sel endotel. Pada sel endotel, toksin ini menyebabkan kebocoran kapiler, hipertensi, demam dan syok. Gen TSST-1 ditemukan pada 20% isolat *S. aureus* (Brooks *et al.*, 2010).

2.1.9 Epidemiologi

Manusia merupakan koloni alamiah dari *S. aureus*. 30-50% manusia dewasa sehat terkolonisasi bakteri ini, dengan 10-20% terkolonisasi secara persisten. Seseorang yang terkolonisasi oleh *S. aureus* memiliki resiko yang lebih tinggi untuk mendapat infeksi tumpangan lainnya. Rerata kolonisasi *S. aureus* ditemukan lebih tinggi pada pasien-pasien dengan diabetes mellitus (DM) tipe 1, pengguna obat-obatan intravena, hemodialisis rutin, pasca operasi, AIDS, sirosis hepatis, dan penderita defek pada kualitas atau kuantitas leukositnya (Biantoro, 2008).

2.1.10 Patogenesis

Infeksi dari *S. aureus* memiliki virulensi yang cukup berarti, menunjukkan bahwa bakteri tersebut bersifat komensal. *S. aureus* umumnya berkoloni di *anterior nares*, *axillae*, vagina, faring, atau di permukaan kulit yang terluka. Infeksi dimulai saat timbul jejas pada kulit atau barrier mukosa, yang menyebabkan *S. aureus* dapat masuk ke dalam jaringan atau aliran darah. Resiko infeksi dapat meningkat pada penggunaan benda asing, seperti kateter intravena (Lowy, 1998).

Secara umum, *S aureus* dibagi menjadi tipe invasif, toksikosis, dan tipe campuran. Tipe invasif cenderung untuk tetap berada di tempat infeksi primer setelah berhasil menembus kulit atau membran mukosa, sehingga menyebabkan infeksi lokal yang ditandai dengan terbentuknya sekret purulen dan abses (Cheng *et al.*, 2011). Infeksi invasif juga bisa terjadi setelah operasi atau setelah trauma, dan pada pasien dengan status imun yang rendah (Foster, 1996). Tipe toksikosis mampu menyebabkan infeksi generalisata dengan cara melepaskan toksin yang dapat mencapai bagian tubuh yang jauh dari fokus infeksi primer. Infeksi yang disebabkan tipe toksikosis di antaranya adalah sindroma syok toksik dan keracunan makanan akibat enterotoksin (Biantoro, 2008).

Setelah menembus mukosa atau barrier kulit, bakteri melindungi dirinya dari fagositosis sel imun tubuh host oleh beberapa mekanisme dan produksi metabolit, misalnya α -toksin, yang menyebabkan terjadinya lesi lokal. Fagositosis dihambat oleh protein A, yang mampu berikatan dengan Fc pada IgG menyebabkan terjadinya kompetisi dengan sel fagosit, untuk berikatan dengan Fc, sehingga proses opsonisasi terhambat. Koagulase yang diproduksi oleh bakteri juga dapat menghambat migrasi sel fagosit menuju tempat infeksi.

Sedangkan bakteri *S. aureus* yang sudah terfagositosis dapat meloloskan diri dari *lysosomal killing* (Lowy, 1998).

Derajat keparahan lesi tergantung dari kemampuan host untuk melokalisir proses inflamasi akut, dan tipe dari jaringan yang terkena. Misalnya, pada kulit, yang berperan adalah mekanisme resolusi melalui granulasi dan fibrosis. Pada organ lainnya, seperti paru-paru, ginjal dan tulang, proses inflamasi dapat menyebar luas dengan membentuk fokus satelit (*satellite foci*) (Lowy, 1998). Pada kasus-kasus yang lebih buruk, bakteri *S. aureus* dapat menyebar ke aliran darah, mengakibatkan aktivasi komplemen dan serangan anafilaksis yang berakibat syok, misalnya pada sindroma syok toksik (Foster, 1996).

2.1.11 Manifestasi Klinis

Infeksi akibat *S. aureus* lebih sering menyerang individu dengan daya tahan tubuh yang lemah, misalnya pasien pasca operasi di poliklinik bedah, yang menimbulkan manifestasi berupa furunkel, karbunkel hingga abses pada luka jahitan pasca operasi. Juga menyerang pasien yang menggunakan ventilator di *Intensive Care Unit* menyebabkan pneumonia nosokomial. Infeksi *S. aureus* ini juga sangat menular melalui kontak antara tangan dengan tangan oleh para tenaga kesehatan, apabila tidak dilakukan penjagaan higiene dengan baik seperti kebiasaan mencuci tangan, mengenakan alat pelindung diri (masker dan sarung tangan) ketika berhadapan dengan pasien satu dengan pasien yang lainnya

Infeksi *S. aureus* pada kulit memiliki manifestasi-manifestasi ringan hingga berat, di antaranya adalah furunkel, karbunkel, folikulitis, paronikia, impetigo, dan *staphylococcal scalded skin syndrome* (Dzen *et al.*, 2010, dan Köck *et al.*, 2010). Pada sistem pernapasan, *S. aureus* dapat menyebabkan

infeksi saluran napas atas maupun bawah, misalnya tonsillitis, bronkhitis, dan pneumonitis (Dzen dkk., 2010).

S. aureus juga dapat menyebabkan infeksi pada organ-organ lainnya, di antaranya osteomielitis pada tulang, meningitis dan ensefalomielitis bakterial pada otak yang bersifat fatal, endokarditis pada jantung, (Lowy, 1998), sistitis dan pielitis pada traktus urogenitalis (Dzen dkk., 2010), infeksi generalisata fatal seperti *Toxic Shock Syndrome* (TSS) (Biantoro, 2008) dan keracunan makanan (*staphylococcal food poisoning*) (Argudin *et al.*, 2010). Sebagian besar infeksi dimulai dengan bakteremia, dan dapat disertai dengan manifestasi infeksi stafilokokal di tempat lainnya (Lowy, 1998). *S. aureus* juga dapat menyebabkan abses (Cheng *et al.*, 2011).

Sindroma syok toksik (*toxic shock syndrome*) pada infeksi *S. aureus* timbul secara tiba-tiba, dengan gejala demam tinggi, muntah, diare, mialgia, ruam, dan hipotensi, dengan berujung pada kegagalan multiorgan pada kasus yang berat. Sindrom ini sering dikaitkan terjadi dalam lima hari permulaan haid pada wanita muda yang menggunakan tampon, atau pada anak-anak dan pria dengan luka yang terinfeksi *S. aureus*. Sindrom ini disebabkan oleh pelepasan toksin sindrom syok toksik-1 (TSST-1) oleh bakteri *S. aureus* (El-Ghodban *et al.*, 2006).

2.2 Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA)

2.2.1 Definisi

MRSA merupakan strain bakteri *S. aureus* yang resisten terhadap golongan penisilin semisintetis seperti *methicillin*, *cloxacillin*, dan *flucloxacillin* (Sudiby dkk., 2008). Kemampuan *S. aureus* menghasilkan enzim β -lactamase menyebabkan hampir seluruh isolat *S. aureus* menjadi resisten terhadap

penicillin. Isolat *MRSA* memiliki kemampuan untuk mentransfer resistensi antibiotik dengan cepat kepada strain *S. aureus* yang semula sensitif terhadap *mupirocin*, *clindamycin*, *erythromycin*, *tetracycline*, *quinolone*, *sulphonamide*, *chloramphenicol*, dan *cephalosporine* melalui transfer materi gen-gen yang mengkodekan enzim-enzim dan sifat resistensi terhadap antibiotik tersebut kepada isolat *S. aureus* yang semula bersifat sensitif melalui plasmid. Pada akhirnya, seluruh isolat *S. aureus* akan memiliki sifat resistensi terhadap antibiotik, yang menyebabkan penggunaan antibiotik yang tepat untuk mengatasi infeksi *MRSA* menjadi tantangan yang sangat besar.

2.2.2 Mekanisme Resistensi Antimikroba

Methicillin, *oxacillin* dan *nafcillin* adalah antibiotik β -lactamase-insensitive β -lactam semisintetik. Beberapa strain *Staphylococcus aureus* yang memiliki resistensi tinggi terhadap *methicillin* ternyata memproduksi tambahan protein pengikat *penicillin* berafinitas rendah (*low affinity penicillin binding protein* – PBP2a) yang dikodekan dengan gen *mecA* di dalam materi kromosomal yang disebut *Staphylococcal chromosomal cassette* (SCC) (Hardy, et al., 2004). PBP2a termasuk ke dalam kelompok *penicillin binding protein* (PBP) dengan berat molekul besar (78 kDa), yang terdiri dari sebuah domain transpeptidase dan sebuah domain yang tidak berikatan dengan *penicillin* yang belum diketahui fungsinya (Plata et al., 2009). Molekul serin yang terdapat pada sisi aktif domain *transpeptidase* PBP2a melakukan serangan nukleofilik pada cincin β -lactam dan substrat *D-phenyl-D-alanine*. PBP2a terletak pada sebuah celah sempit ekstensif yang memperantarai interaksi nonkovalen dengan β -lactam, membuat β -lactam tidak mampu berikatan dengan dinding sel bakteri. Sehingga PBP2a mampu mensintesis dinding sel yang tahan β -lactam (Plata et al., 2009). Kode *mecA* ini dapat ditransferkan dari satu bakteri ke bakteri

lainnya melalui transduksi, dan konjugasi plasmid, sehingga pada akhirnya seluruh koloni *S. aureus* akan memiliki resistensi terhadap methicillin dan obat-obatan golongan β -lactam (Hardy *et al.*, 2004).

2.2.3 Epidemiologi MRSA

Saat ini diperkirakan 2-3% populasi umum di dunia telah terkolonisasi oleh MRSA. Orang yang terkolonisasi MRSA akan mudah untuk terjadi infeksi, meskipun sebagian besar akan tetap asimtomatik (Wirahjasa dan Panji, 2012).

Antara tahun 1996-1999 dilaporkan bahwa 23 rumah sakit di Kanada terdapat 6% MRSA dari seluruh isolat *S. aureus* dengan rerata 4,14 kasus MRSA per 1000 pasien yang dirawat dari 35% pasien dengan infeksi. Sebagian besar isolat diperoleh dari MRSA yang berasal dari ruang perawatan akut (72,6%), 7,2% diperoleh dari bangsal perawatan, 4,6% diperoleh dari komunitas masyarakat, dan sisanya (15,6%) tidak diketahui asalnya. Di Amerika Serikat, selama 13 tahun (1993-2005) infeksi MRSA telah sangat berkembang. Pada tahun 2005 terdapat 368.600 kasus MRSA di rumah sakit seluruh negeri. Keadaan ini menunjukkan adanya peningkatan sebesar 30% dibandingkan pada tahun 2004 (Biantoro, 2008). Persentase MRSA cukup tinggi di Asia, seperti di Taiwan telah mencapai 60%, Cina 20%, Hong Kong 70%, Filipina 5%, dan Singapura 60%. (Mardiastuti, *dkk.*, 2007). Sedangkan untuk di Indonesia, 28% dari jumlah anak-anak dengan rentang usia antara 8-14 tahun dari tiga sekolah dasar di Semarang terkolonisasi MRSA (Nurhani dan Lestari, 2010). Belum ditemukan data yang lebih lengkap mengenai epidemiologi MRSA di kelompok usia dan daerah lainnya di Indonesia.

2.2.4 Identifikasi *MRSA*

Proses identifikasi *MRSA* dapat dilakukan dengan serangkaian tes laboratorium yang cepat dan reliabel. Pengembangan tes identifikasi yang cepat dan akurat menjadi hal yang krusial dalam mengontrol *MRSA* di rumah sakit dan untuk memulai terapi antimikroba yang tepat pada pasien-pasien dengan sakit kritis (Hardy *et al.*, 2004). Umumnya, teknik identifikasi yang paling sering digunakan adalah isolasi *MRSA* menggunakan media padat selektif yang berbeda-beda, sebagian besar mengandung *oxacillin* dan garam NaCl (Foster, 1996). Perkembangan teknik molekuler dalam beberapa tahun belakangan ini membuat standar baku emas baru, yaitu dengan deteksi gen *mecA* pada kultur bakteri dari sampel *swab* dan darah menggunakan penggandaan dengan *polymerase chain reaction* (PCR) dan dideteksi dengan *pulse field gel electrophoresis* (PFGE) yang memiliki sensitifitas dan akurasi yang tinggi. Namun penggunaannya masih terbatas karena biayanya yang tinggi (Hardy *et al.*, 2004; Seybold *et al.*, 2008).

2.2.5 Transmisi Penyakit Infeksi *MRSA*

Infeksi *MRSA* dapat ditularkan dari satu pasien ke pasien lainnya melalui udara (*airborne transmission*) juga melalui kontak tangan pasien atau petugas kesehatan yang terkontaminasi (Hardy *et al.*, 2004). Transmisi melalui udara diduga berperan atas adanya kolonisasi *MRSA* di hidung. Pada bayi-bayi yang memiliki kolonisasi *MRSA* sangat dini, kemungkinan besar mendapat transmisi secara maternal (Seybold, *et al.*, 2008).

2.2.6 Faktor Resiko Penyakit Infeksi *MRSA*

Terdapat beberapa faktor predisposisi terhadap kolonisasi dan infeksi *MRSA*. Namun, pada beberapa kasus, penentuan faktor resiko tunggal tidak

memungkinkan untuk dilakukan karena seringkali pasien terpapar dengan beberapa faktor resiko secara simultan. Berikut adalah beberapa faktor resiko terhadap kolonisasi dan infeksi bakteri *MRSA*:

- Riwayat pernah terkolonisasi *MRSA* sebelumnya
Resiko terkena infeksi *MRSA* lebih tinggi pada pasien-pasien yang sebelumnya pernah terkolonisasi *MRSA* (Hardy *et al.*, 2004).
- Durasi lamanya tinggal di *Intensive Care Unit* (ICU) dan di rumah sakit.
Penelitian yang dilakukan oleh Ibelings dan Bruining dalam Hardy (2004) menyatakan bahwa pasien yang dirawat lebih lebih dari 2 minggu memiliki resiko 2,5 kali lebih besar mendapat infeksi *MRSA* daripada yang tidak dirawat, dan berlipat menjadi 4 kali lebih besar pada pasien-pasien yang dirawat lebih dari 3 minggu di rumah sakit.
- Tingkat keparahan penyakit dan intensitas perawatan
Pasien-pasien dengan kondisi klinis penyakit yang lebih parah lebih berisiko akan menderita infeksi *MRSA* yang fatal, daripada pasien-pasien dengan penyakit yang lebih ringan. Intensitas perawatan oleh staf rumah sakit juga berhubungan dengan kolonisasi dan infeksi *MRSA*. (Hardy *et al.*, 2004).
- Alat-alat yang dipasang intravaskuler (kateter) merupakan faktor resiko bebas terkait bakteremia yang disebabkan oleh *MRSA*. (Hardy *et al.*, 2004; Seybold *et al.*, 2008).
- Pada bayi: berat badan lahir rendah (BBLR) atau sangat rendah (BBLSR), serta dilakukan pemberian nutrisi parenteral. (Seybold *et al.*, 2008).
- Konsumsi antibiotik

Konsumsi antibiotik memiliki efek mengubah keseimbangan jumlah flora mikroba normal dalam tubuh, menurunkan jumlah organisme sensitif, dan malah meningkatkan jumlah organisme resisten secara konsekuen (Hardy *et al.*, 2004).

2.2.7 Manifestasi Klinis Penyakit Infeksi *MRSA*

Secara garis besar, manifestasi klinis penyakit infeksi *MRSA* dibagi menjadi dua kelompok besar, yaitu *hospital-acquired (HA-MRSA)* dan *community-acquired (CA-MRSA)*. *HA-MRSA* meliputi seluruh infeksi nosokomial yang disebabkan oleh *MRSA*, misalnya pneumonia pada pasien-pasien di ICU yang bergantung ventilator (*Ventilator Assisted Pneumonia*), dan bakteremia akibat pembentukan biofilm *MRSA* pada alat-alat prosthesis yang dimasukkan ke dalam tubuh (kateter, jarum infus, dan lain-lain). *HA-MRSA* umumnya timbul disertai penyakit lainnya, yang menyebabkan pasien tersebut dirawat di rumah sakit (Wang *et al.*, 2010). *CA-MRSA* menimbulkan gejala yang lebih bervariasi dari infeksi kulit ringan hingga bakteremia hebat seperti *toxic shock syndrome* (Hardy *et al.*, 2004; Fritz *et al.*, 2008). Perbedaan *HA-MRSA* dan *CA-MRSA* terletak pada *SCCmec* yang dibawanya. *HA-MRSA* membawa molekul yang lebih besar, seperti elemen I, II, dan III, sedangkan *CA-MRSA* membawa elemen IV dan V serta sering didapati pula membawa gen *Panton Valentine* (leukosidin) (Gordon and Lowy, 2008). *CA-MRSA* lebih sering didapati di luar rumah sakit, misalnya di pusat penitipan anak dan sekolah (Fritz *et al.*, 2008).

2.3. Beringin (*Ficus benjamina* L)

2.3.1 Taksonomi

Taksonomi dari beringin adalah sebagai berikut : (Plantamor, 2012)

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)

Subkingdom	: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
Sub Kelas	: Dilleniidae
Ordo	: Urticales
Famili	: Moraceae (suku angka-nangkaan)
Genus	: Ficus
Spesies	: <i>Ficus benjamina</i> L.

2.3.2 Nama Tumbuhan

Beringin memiliki beberapa nama di daerah-daerah tertentu, yaitu:
(Plantamor, 2012)

Sunda	: <i>caringin</i>
Jawa	: <i>waringin</i>
Inggris	: <i>Weeping fig, benjamin tree, banyan tree, golden fig, java fig, Laurel</i>
Vietnam	: <i>Cây sanh</i>
Jepang	: <i>Shidare gajumaru</i>

2.3.3 Morfologi dan Habitat Tumbuhan

Pohon beringin berukuran besar, diameter batang bisa mencapai ukuran 2 meter, dan tinggi pohon ini bisa mencapai 25 meter. Pohon ini biasa tumbuh di pinggir jalan, pinggiran kota, atau di tepi jurang. Berbatang tegak bulat, dengan permukaan yang kasar, berwarna coklat kehitaman, dan terdapat akar menggantung (akar aerial) yang menjulur keluar dari batang. Daunnya tunggal, berbentuk lonjong, dan berwarna hijau, panjang 3 - 6 cm, tepi rata, letak bersilang berhadapan. Bunga tunggal, keluar dari ketiak daun, kelopak bentuk corong, berwarna kuning kehijauan. Buah buni, bulat kecil, panjang 0.5 -

1 cm. Beringin berkembang biak dengan menggunakan biji yang berbentuk bulat keras dan berwarna putih. (Plantamor, 2012)



Gambar 2.3 Pohon Beringin (*Ficus benjamina* L.) (Plantamor, 2012).

2.3.4 Kandungan Beringin

Daun, akar dan batang pohon beringin mempunyai kandungan senyawa-senyawa metabolit sekunder, seperti flavonoid, alkaloid, steroid, saponin, dan polifenol (Sukadana, 2011).

Flavonoid adalah golongan senyawa alkaloid yang terdapat di berbagai macam tumbuhan, misalnya teh, coklat, sayur-sayuran, kacang-kacangan, biji-bijian, bunga. Flavonoid memiliki banyak manfaat medis, di antaranya bersifat sebagai antioksidan, antiinflamasi, dan antibakteri. Struktur dasar senyawa flavonoid adalah *2-phenyl-benzo[α]pyrane* atau dikenal juga sebagai inti flavan (Cushnie & Lamb, 2005).

Flavonoid yang paling banyak terkandung di dalam daun beringin adalah flavonol. Mekanisme antibakteri flavonol, terutama *quercetin* dan *kaempferol* adalah dengan menghambat sintesis asam nukleat, protein, dan merusak membran sitoplasma yang menyebabkan kebocoran ion potassium, berakibat pada kematian sel bakteri. Oleh karena itu, flavonoid bekerja secara

bakterisidal (Cushnie & Lamb, 2005). *Quercetin* juga menghambat motilitas bakteri dan menurunkan resistensi bakteri terhadap antibakteri. Flavonoid terutama berupa senyawa yang larut dalam air dan dapat diekstraksi dengan etanol (Permatasari, 2011).

Saponin merupakan metabolit sekunder yang banyak dijumpai di tumbuhan dan produk tumbuhan (Soetan *et al.*, 2006; Francis *et al.*, 2008). Saponin memiliki rasa pahit menusuk, menyebabkan bersin, dan mengiritasi mukosa. Saponin berarti membentuk busa, adalah senyawa surfaktan glikosida alami yang berfungsi sebagai pelindung tumbuhan terhadap hama serangga dan penyakit. Saponin telah diteliti memiliki efek hipoglikemik, hipokolesterolemia, serta immunomodulating pada hewan coba, juga memiliki efek sitostatika pada sel kanker, efek antiprotozoa, antifungal yang luas, dan antibakteri (Francis *et al.*, 2002). Saponin juga memiliki efek antiulserasi dan hepatoprotektif pada hewan coba (Soetan *et al.*, 2006). Mekanisme utama antibakterinya adalah melalui interaksi molekul *aglycone* hidrofobik dengan kolesterol yang terdapat pada membran sel, lalu membentuk pori pada membran sel yang menyebabkan sel bakteri tersebut lisis. Saponin juga dapat menghambat sintesis asam nukleat dan metabolisme bakteri (Francis *et al.*, 2002).

2.3.5 Kegunaan dan Efek Samping Beringin

Beringin sering digunakan dalam pengobatan tradisional masyarakat Bali. Beringin sering digunakan untuk mengobati influenza, radang saluran pernapasan (*bronchitis*), batuk rejan (*pertussis*), demam tinggi, infeksi kulit, dan disentri. Akar udara dan daun beringin berkhasiat sebagai antipiretik, antibiotik, antiinflamasi, peluruh keringat (diaforetik) dan diuretik (Sukadana, 2011). Ekstrak daun beringin juga memiliki khasiat antiviral terhadap virus Herpes

simplex tipe 1 dan 2 (HSV-1 dan HSV-2) serta Varicella Zoster Virus (VZV) (Yarmolinsky, *et al* 2011).

2.4. Antimikroba

Antimikroba merupakan senyawa biologis atau kimia yang dapat mengganggu pertumbuhan dan aktivitas mikroba. Zat antimikroba dapat bersifat bakterisidal (membunuh bakteri), bakteriostatik (menghambat pertumbuhan bakteri), fungisidal (membunuh jamur), fungistatik (menghambat pertumbuhan jamur), ataupun germisidal (menghambat proses germinasi spora bakteri) (Rostinawati, 2009).

2.4.1 Kriteria Antimikroba yang Ideal

Antimikroba yang ideal memiliki kriteria-kriteria sebagai berikut: (Joklik *et al.*, 1992; Dzen *dkk.*, 2010)

- a. Harus memiliki toksisitas selektif, hal ini berarti bahwa antimikroba tersebut harus dapat menghambat / membunuh bakteri patogen tanpa membahayakan host;
- b. Antimikroba yang ideal adalah yang lebih bersifat bakterisidal daripada bakteriostatik;
- c. Tidak menimbulkan resistensi pada bakteri;
- d. Memiliki spektrum luas;
- e. Tidak bersifat alergenik atau tidak menimbulkan efek samping bila digunakan dalam jangka waktu yang lama;
- f. tetap aktif dalam plasma, cairan tubuh atau eksudat;
- g. Bersifat larut air dan stabil, dan;
- h. Level bakterisidalnya dapat dicapai dengan cepat untuk waktu yang lama.

2.4.2 Mekanisme Kerja Antimikroba

Mekanisme penghambatan antimikroba ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor, antara lain:

a. Mengganggu pembentukan dinding sel

Mekanisme ini disebabkan oleh adanya akumulasi komponen lipofilat yang terdapat pada dinding atau membran sel sehingga menyebabkan perubahan komposisi penyusun dinding sel (Rostinawati, 2009).

b. Bereaksi dengan membran sel

Komponen bioaktif dalam obat antimikroba berikatan dengan struktur penyusun membran sel bakteri, sehingga membran sel menjadi rusak, dan menyebabkan lepasnya berbagai metabolit penting di dalam sel, sehingga berakibat pada kematian sel bakteri (Coyle, 2005; Dzen *dkk.*, 2010).

c. Menginaktivasi enzim

Efek senyawa antimikroba dapat menghambat kerja enzim jika mempunyai spesifitas yang sama antara ikatan kompleks yang menyusun struktur enzim dengan komponen senyawa antimikroba. Hal ini dapat mengakibatkan gangguan metabolisme penting dalam kelangsungan hidup bakteri, sehingga bakteri pun mati (Rostinawati, 2009).

d. Menghambat sintesis asam nukleat

Komponen bioaktif antimikroba dapat mengganggu pembentukan asam nukleat sel bakteri sehingga proses pembelahan sel untuk perkembangan terganggu (Coyle, 2005).

2.4.3 Resistensi Bakteri terhadap Antimikroba

Bakteri dapat memiliki resistensi atau daya tahan terhadap obat antimikroba sebagai caranya supaya dapat tetap bertahan hidup (Coyle, 2005).

Resistensi ini dapat berasal genetik maupun non genetik. Resistensi genetik lahir akibat perubahan kromosomal atau ekstrakromosomal, yang dapat dipindahkan dari satu spesies bakteri ke spesies lainnya melalui mekanisme transduksi, transformasi, konjugasi dan transposisi. Berbeda dengan resistensi genetik, resistensi non genetik tidak dapat dipindahkan dari satu spesies bakteri ke spesies bakteri lainnya. Resistensi non genetik timbul pada saat bakteri tidak aktif membelah dan bersembunyi di dalam jaringan, sehingga tidak bisa diserang oleh obat antimikroba. Hal ini didasari oleh mekanisme kerja antimikroba yang bekerja pada saat bakteri membelah (Dzen *dkk.*, 2010).

Resistensi ini dapat timbul melalui beberapa mekanisme, di antaranya adalah kemampuan bakteri untuk memproduksi enzim yang dapat merusak komponen obat antimikroba, misalnya *Staphylococcus* menghasilkan enzim β -lactamase terhadap obat golongan β -lactam (*penicillin*). Berikut ini mekanisme resistensi bakteri terhadap obat antimikroba: (Coyle, 2005)

- a. Mengubah permeabilitas membran sel
- b. Mengubah struktur target terhadap obat
- c. Mengembangkan jalan metabolisme baru
- d. Mengembangkan enzim yang tetap berfungsi untuk metabolismenya yang tidak dipengaruhi obat
- e. Memperbesar produksi bahan metabolit

2.4.4 Uji Kepekaan Antimikroba

Uji kepekaan antimikroba dilakukan untuk mengetahui ketahanan suatu bakteri terhadap zat antimikroba yang diuji. Uji kepekaan antimikroba ini dilakukan dengan dua cara, yaitu metode difusi cakram dan metode dilusi (Dzen *dkk.*, 2010).

a. Metode Dilusi

Metode dilusi dilakukan untuk menentukan kadar hambat minimal (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM) (Dzen *dkk.*, 2010). Uji ini dapat dilakukan dengan cara mendilusikan bahan antimikroba pada media agar atau kaldu.

- Metode dilusi tabung, merupakan prosedur sederhana untuk menguji jumlah isolat sedikit. Bahan-bahan yang dibutuhkan adalah kultur bakteri dalam kaldu (usia 18-24 jam) dan mikroorganisme kontrol, beberapa buah tabung steril bertutup, rak tabung reaksi, pipet steril berukuran 10ml, 5ml, 2ml, dan 1ml, pipet Pasteur, bahan antimikroba yang hendak diuji (bubuk atau ekstrak kering beserta pelarutnya, atau ekstrak cair), *aquadest* steril sebanyak 500ml dan medium *Nutrient Broth* (NB). Persiapkan dilusi antibiotik dalam kaldu dengan konsentrasi 1000 dan 100 $\mu\text{g/L}$ sesuai larutan kaldu pertama (10.000mg/L) (Lalitha, 2004). Susun dua baris yang terdiri dari 12 tabung steril di rak tabung. Masing-masing tabung diisi dengan media cair yang telah mengandung sejumlah tertentu bakteri uji, lalu diisi dengan zat antimikroba yang telah diencerkan serial, sisakan 1 tabung berisi 2 ml bakteri dalam medium kaldu tanpa diberi zat antimikroba sebagai kultur kontrol. Selanjutnya, semua tabung diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam, dan diamati kekeruhan yang terjadi pada tabung. Konsentrasi terendah zat antimikroba pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih karena tidak ada pertumbuhan bakteri dibaca sebagai KHM (Lalitha, 2004; Dzen *dkk.*, 2010). Selanjutnya, untuk menghitung KBM, semua kultur dari tabung yang berwarna jernih diinkubasikan selama 18 jam lagi pada suhu 37°C. Simpan tabung kultur kontrol dalam lemari es bersuhu

$\pm 4^{\circ}\text{C}$ sebagai standar penentuan inhibisi total. Setelah 18 jam, diamati ada atau tidaknya pertumbuhan koloni bakteri. Konsentrasi terendah antimikroba dengan tidak ada pertumbuhan koloni bakteri pada kultur dibaca sebagai KBM (Lalitha, 2004).

- Metode dilusi agar, dilakukan untuk mengetahui KBM zat antimikroba yang diuji. Semua kultur dari tabung yang berwarna jernih pada metode dilusi tabung setelah inkubasi yang pertama, diinokulasikan pada medium agar padat (*Nutrient Agar*) dan diinkubasikan selama 24 jam lagi, dan diamati ada atau tidaknya pertumbuhan koloni bakteri. Konsentrasi terendah antimikroba pada medium padat dengan tidak ada pertumbuhan koloni bakteri dibaca sebagai KBM (Lalitha, 2004; Dzen dkk., 2010).

b. Metode Difusi Cakram (*Disc Diffusion*)

Metode ini dilakukan untuk mengetahui apakah isolat bakteri bersifat sensitif atau resisten terhadap zat antimikroba yang diujikan. Pada dasarnya, uji ini dilakukan dengan cara meletakkan cakram kertas yang sudah dijenuhkan (impregnasi) dengan zat antimikroba ke dalam media perbenihan agar padat yang telah dicampur dengan bakteri yang diuji, lalu diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Lalu diamati ada atau tidaknya zona jernih di sekitar cakram kertas, yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri (Lalitha, 2004; Dzen dkk., 2010). Metode ini dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu:

- **Cara Kirby Bauer**

Prinsip dari cara ini adalah membandingkan diameter zona hambatan di sekitar cakram dengan menggunakan tabel standar yang dibuat oleh NCCLS (*National Committee Centre for Laboratory Standard*), untuk

mengetahui adakah bakteri uji tersebut masuk ke dalam kriteria sensitif, sensitif sedang atau resisten (Dzen *dkk.*, 2010).

- **Cara Joan Stokes**

Prinsip cara ini adalah dengan membandingkan radius zona hambatan yang terjadi antara bakteri kontrol yang sudah diketahui kepekaannya terhadap antimikroba tersebut dengan bakteri yang akan diuji. Prosedur uji kepekaan untuk bakteri kontrol dan bakteri uji dilakukan bersama-sama dalam satu cawan petri (Dzen *dkk.*, 2010).

2.5. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan salah satu cara pemisahan satu atau lebih komponen dari suatu bahan atau jaringan tumbuhan (Handa, 2008). Proses ekstraksi diawali dengan menghaluskan jaringan tumbuhan tersebut, guna memperbesar peluang terlarutnya komponen-komponen metabolit yang diinginkan. Tetapi, sebelumnya, jaringan tumbuhan harus dikeringkan terlebih dahulu untuk mempertahankan kandungan metabolit dalam tumbuhan sehingga proses metabolisme terhenti (Winata, 2011).

Terdapat beberapa metode yang umum dipakai untuk mengekstrak tumbuhan obat, yaitu: (Handa, 2008; Winata, 2011)

2.5.1 Maserasi

Maserasi menggunakan tumbuhan utuh atau yang sudah di tumbuk kasar dimasukkan dalam sebuah wadah tertutup berisi pelarut dan dibiarkan dalam suhu ruang selama minimal 3 hari sambil dikocok sering untuk melarutkan bahan aktif terlarut. Kemudian, cairan akan disaring, bahan padatan ditekan supaya sarinya keluar, dan cairan akan difiltrasi atau didekantasi.

2.5.2 Infusa (*Infusion*)

Infusa disiapkan dengan cara memaserasi bahan mentah dalam waktu singkat dengan air dingin atau mendidih, menghasilkan larutan encer yang terdiri dari bahan-bahan mudah larut air dari simplisia.

2.5.3 Digesti (*Digestion*)

Digesti adalah sebuah bentuk maserasi yang menggunakan pemanasan bersuhu rendah untuk meningkatkan efisiensi kelarutan bahan terlarut.

2.5.4 Dekok

Suatu bahan mentah dididihkan memakai air dengan volume tertentu untuk beberapa saat, lalu didinginkan dan disaring. Proses ini berguna untuk mengekstraksi bahan aktif yang bersifat larut air dan tahan panas.

2.5.5 Perkolasi

Cara ini sering digunakan untuk mengambil bahan aktif dalam pembuatan *tinctura* dan ekstrak cair. Metode ini menggunakan alat perkolator berbentuk kerucut sempit. Bahan padatan direndam dengan sejumlah pelarut selama 4 jam, lalu ditambah pelarut lagi secara bertahap, sehingga campuran mengalami maserasi dalam waktu 24 jam. Lalu bagian bawah perkolator dibuka, dan bahan aktif dibiarkan menetes pelan-pelan di tempat penampungan.

2.5.6 Soxhletasi atau Ekstraksi Panas Bertingkat (*Hot Continuous Extraction*)

Soxhletasi atau ekstraksi panas bertingkat (*Hot Continuous Extraction*) adalah metode yang menggunakan alat Soxhlet, dan bahan mentah yang sudah dihaluskan. Metodenya meliputi ekstraksi bertingkat menggunakan panas,

dengan prinsip kondensasi. Keuntungan menggunakan metode ini adalah dapat mengekstrak bahan aktif yang banyak dengan jumlah pelarut yang sedikit.

