

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Buah Anggur

Anggur merupakan buah yang cukup populer di Indonesia. Umumnya, anggur dimakan sebagai buah segar akan tetapi juga sering digunakan dengan cara diolah menjadi minuman *wine*, kismis, sari buah (*juice*), dan buah dalam kaleng (*canning*). Terdapat beberapa varietas anggur yang dikenal secara luas, baik impor maupun lokal. Beberapa contoh anggur impor antara lain anggur *Thompson* (berwarna hijau tanpa biji), *emperor* (berwarna ungu berbiji), *black Corinth* (berwarna ungu), dan *concord* (berwarna hitam). Sementara salah satu contoh anggur lokal yaitu anggur Bali (berwarna ungu kehitaman) (Subroto, 2007).

2.1.1 Taksonomi dan Morfologi

Anggur termasuk tanaman marga *Vitis*. Tidak semua jenis dari marga ini dapat dimakan langsung, yang bisa dimakan hanya dua jenis yaitu *Vitis vinifera* dan *Vitis labrusca*. Tanaman anggur jenis *Vitis vinifera* mempunyai ciri-ciri diantaranya ialah kulit tipis, rasa manis dan segar. Termasuk jenis ini adalah *Gross Collman*, Probolinggo biru dan putih, Situbondo, *Alphonso lavelle* dan *Golden Champion*. Tanaman anggur jenis *Vitis labrusca* yang mempunyai ciri-ciri diantaranya, kulit tebal, rasa masam dan kurang segar. Termasuk jenis ini adalah *Brilliant*, Delaware, Carman, Beacon dan Isabella (Wiriyanta 2004; Rukmana, 2005).

Dari kedua jenis ini yang banyak dikembangkan di Indonesia dan direkomendasi oleh Departemen Pertanian sebagai jenis unggul adalah jenis

Vitis vinifera dari varietas anggur Probolinggo biru dan *Alphonso lavelle*. Namun ada juga yang dianjurkan ditanam antara lain *Gross Collman*, Probolinggo putih, Isabella, Delaware, *Chifung* dan Australia.

Berikut klasifikasi dari tanaman anggur :

Kingdom : Plantae
Subkingdom : Tracheobionta
Superdivisi : Spermatophyta
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Sub kelas : Rosidae
Ordo : Rhamnales
Famili : Vitaceae
Genus : *Vitis*
Spesies : *Vitis vinifera* L. (Wiryanta, 2004)

Anggur merupakan salah satu tanaman yang hidup pada dataran rendah. Tidak seperti kebanyakan tanaman lainnya, tanaman anggur justru membutuhkan musim kemarau panjang berkisar 4-7 bulan agar dapat tumbuh dengan baik. Suhu untuk tumbuh maksimal adalah 31°C dan suhu minimum adalah 23°C dengan kelembapan udara bekisar antara 75-80%. Untuk menunjang pertumbuhan tanaman anggur dengan baik, secara umum tanah tersebut harus mengandung pasir dan lempung dalam jumlah yang cukup dan tanah yang digunakan harus subur dan bertekstur gembur agar terdapat asupan nutrisi dan pasokan udara yang baik. Tanah tersebut juga harus memiliki derajat keasaman (pH) yang netral yaitu 7. Untuk membedakan jenis tanaman anggur satu dengan yang lain, dapat dilihat dari variasi buah yang beraneka warna,

ukuran, dan bentuk. Struktur tanaman anggur terdiri dari batang, akar, daun, bunga, dan buah. Akar tanaman anggur bisa menembus tanah sampai 1,5 meter bahkan 3 meter dalamnya. Kedalaman ini dipengaruhi oleh tebal tipisnya lapisan tanah atas, kesuburan tanah, dan material yang dikandung tanah. Batang merupakan bagian dari tubuh tanaman yang amat penting sebagai alat pembentuk dan pembawa daun. Batang tanaman anggur beruas-ruas, berbuku-buku serta berkayu (Wiryanta, 2004; Rukmana, 2005).

Tanaman anggur termasuk tumbuhan yang berbentuk semak yaitu tumbuhan yang tak seberapa besar, batang berkayu, bercabang-cabang dekat dengan permukaan tanah. Panjang tanaman kurang lebih 8 meter. Spesifikasi batang tanaman anggur tumbuh memanjat (*scadens*), yaitu batang tumbuh ke atas dengan menggunakan penunjang. Penunjang yang dinamakan sulur dapat berupa benda mati ataupun tumbuhan lain. Struktur batang dan percabangannya terdiri atas batang utama, cabang primer, cabang sekunder, dan cabang tersier yang akan menghasilkan cabang bunga dan buah. Setiap batang mempunyai mata tunas. Kulit batang dan cabang yang masih muda berwarna hijau tetapi setelah tua berubah hijau kecoklat-coklatan dan coklat. Bunga tanaman anggur tumbuh pada mata tunas, bunga yang berupa bunga majemuk ini tumbuh 6-10 minggu setelah tunas-tunas muda muncul. Daun tunggal, tersusun berseling (*alternate*), warna hijau, bentuk bulat atau bundar (*orbicularis*) hingga jorong, panjang 10-16 cm, lebar 8-14 cm, helaian daun tipis, pangkal berlekuk (*emerginatus*), ujung daun meruncing, tulang daun menjari, tepi bergerigi runcing dan berlekuk, biasanya memiliki 5 lekukan, permukaan berbulu (*pilosus*). Buahnya berbentuk bulat sampai lonjong, panjang 2-3 cm, warna hijau, merah, ungu sampai hitam. Buah anggur terdiri dari kulit, daging dan biji. Kulit buah

sekitar 5-12% dari ukuran buah, daging buah sebesar 80-90% sedangkan biji buah 0-15% dan sisanya berupa serat. Bentuk bijinya lonjong, berwarna coklat muda (Wiryanta, 2004; Rukmana, 2005).

2.1.2 Kandungan Anggur

Buah anggur segar dan hasil olahannya seperti *wine* dan kismis, selain bisa dikonsumsi sebagai pencuci mulut setelah makan atau sebagai buah penyegar, ternyata berkhasiat bagi kesehatan. Buah anggur mengandung berbagai macam vitamin dan zat antioksidan yang berguna bagi kesehatan. Berikut ini kandungan gizi buah anggur dalam setiap 100 gram buah segar.

Tabel 2.1. Kandungan Gizi Buah Anggur dalam Setiap 100 gram Buah Segar

Komposisi Anggur per 100 gram	
Air	85 gram
Energi	40 Kkal
Lemak	0,1 gram
Protein	2,5 gram
Karbohidrat	8 gram
Kalium	110 mg
Natrium	0,8 mg
Fosfor	24,4 mg
Kalsium	10 mg
Magnesium	12 mg
Besi	0,3 mg
Zink	0,05 mg
Vitamin C	10,8 mg
Thiamin	0,7 mg
Ribloflavin	0,7 mg
Niacin	0,19 mg
Vitamin B6	0,09 mg
Folate total	2 mcg
Vitamin A	66 mg
Vitamin E	0,19 mg
Vitamin K	14,6 mcg

Sumber : Wiryanta, 2004

Selain mengandung dari air, gula (glukosa dan fruktosa), protein, karbohidrat, lemak, vitamin dan mineral yang tercantum pada tabel diatas, anggur juga mengandung asam tartarat dan senyawa fenol. Senyawa fenol

merupakan konstituen penting dari anggur. Senyawa fenolik terutama terletak dalam biji dan kulit anggur. Senyawa fenolik yang terpenting ialah antosianin, flavanol, flavonol dan resveratrol, dari senyawa-senyawa ini diyakini bahwa anggur punya banyak manfaat diantaranya sebagai antioksidan, kardioprotektif, anti-kanker, anti-inflamasi dan *anti-aging* (Wiryanta, 2004; Qin Xia *et al*, 2010).

2.1.3 Anggur Bali (*Vitis vinifera L. var. Alphonso lavalle*)

Anggur telah masuk Indonesia sejak awal abad ke-18. Dilaporkan, di Kupang tanaman anggur sangat subur tumbuhnya. Di Bontain (Sulawesi), dalam tahun itu juga sudah dapat menghasilkan banyak buah anggur yang lezat rasanya dan kebiru-biruan warnanya. Menurut Departemen Pertanian RI, hanya ada beberapa jenis anggur yang dapat tumbuh sesuai dengan kondisi alam Indonesia yaitu *Vitis vinifera* dan *Vitis labrusca*. Varietas dari *Vitis vinifera* yang banyak di Indonesia adalah anggur Probolinggo biru dan *Alphonso lavalle*. Sedangkan *Vitis labrusca* yang paling dapat tumbuh baik di Indonesia yaitu varietas Isabella (Wiryanta, 2004).

Pada penelitian ini digunakan jenis anggur Bali (*Vitis vinifera L. varian Alphonso lavalle*). Di Indonesia telah banyak ditanam sejak sebelum tahun 1974, terutama di daerah Buleleng, Seririt, Banyupoh di wilayah Singaraja. Dalam tahun 1984, di Kabupaten Buleleng telah ada sekitar 40,000 tanaman (sekitar 80 hektar) dan menghasilkan 500 ton buah anggur. Populasi ini paling banyak terdapat di pantai utara Bali sepanjang jalan antara Singaraja sampai Gerokgak karena tipe tanaman dari anggur Bali ini mampu tumbuh dan berproduksi baik di daerah dengan ketinggian 0-300 meter dpl. Ciri-ciri warna daging buah anggur *Alphonso lavalle* hijau transparan, bentuk buah bulat, kulit buah tebal dan berwarna ungu kehitaman juga mengandung tepung atau lilin yang tebal, ukuran

buah sedang hingga besar, daging lunak, berbiji, rasa manis masam. Setiap buah berisi 2-3 biji yang ukurannya cukup besar. Setiap dompolan buah berisi sekitar 35 buah, kerapatan buahnya sangat rapat. Setiap 100 buah mempunyai bobot 535 g. Umur panennya antara 105-110 hari setelah pangkas. Varietas ini menyukai daerah beriklim panas dan berkelembapan rendah. Ciri umumnya adalah pertumbuhan yang lambat, sulur pendek ($\pm 10,7$ cm), daun tipis membulat dengan lekukan yang dalam dengan panjang 13 cm dan lebar 12 cm, warna daun muda hijau kekuningan, warna daun tua hijau tua, dan keadaan daun pada tumbuhan anggur Bali itu sendiri sedikit berbulu. Warna bunga putih kekuningan sedangkan batangnya berwarna coklat tua dan permukaannya halus (Wiryanta,2004; Rukmana, 2005).



Gambar 2.1 Anggur Bali (*Vitis vinifera* L. var. *Alphonso lavalle*) (Wiryanta, 2004)

2.1.4 Kulit anggur

Kulit anggur merupakan lapisan terluar dari anggur (*Vitis vinifera*), dan merupakan kulit buah yang ukurannya 5-12% dari ukuran buah. Pada anggur Bali, kulitnya berwarna ungu kehitaman dan cukup tebal. Pada kulit anggur (*Vitis*

vinifera L.) memiliki kandungan resveratrol yang cukup tinggi yaitu sebanyak 50-100 mikrogram, resveratrol ini sendiri berfungsi sebagai anti kanker, mencegah penyakit jantung dan mencegah penggumpalan darah. Senyawa fenolik yang berada dalam kulit anggur terdiri dari *quercetin*, *myricetin*, kaempferol, resveratrol, dan antosianin. Kulit anggur juga mengandung tanin, saponin, *tartaric acid*, asam amino dan mineral (Souquet *et al*, 1996; Wiryanta, 2004; Montealegre *et al*, 2006; Qin Xia *et al*, 2010; Narendhirakannan *et al*, 2011).

2.1.5 Zat Antibakteri Kulit Anggur

2.1.5.1 Antosianin

Anggur merupakan buah yang paling banyak dimanfaatkan sebagai sumber antosianin karena kandungan pigmen tersebut cukup tinggi di dalam kulit anggur. Antosianin adalah pigmen yang termasuk dalam kelompok flavonoid dari senyawa polifenol. Antosianin adalah pewarna yang paling penting dan paling tersebar luas dalam tumbuhan. Pigmen yang berwarna kuat dan larut dengan air ini adalah penyebab hampir semua warna merah jambu, merah marak, merah, merah senduduk, biru, dan ungu dalam daun, bunga, dan buah pada tumbuhan tinggi. Selain larut dalam air, antosianin juga larut dalam etanol, etil asetat maupun metanol. Antosianidin adalah aglikon antosianin yang terbentuk bila antosianin dihidrolisis dengan asam. Terdapat enam antosianidin yang umum, diantaranya pelargonidin, sianidin, peonidin, delphinidin, petunidin, dan malvidin (Harborne, 1987; Melawaty, tanpa tahun).

Antosianin aman untuk dikonsumsi, tidak beracun dan tidak menimbulkan mutasi genetika. Hal tersebut membuktikan bahwa pewarna alami khususnya antosianin aman digunakan. Terdapat beberapa jenis tanaman yang dapat dijadikan sumber antosianin antara lain *strawberry*, *chery*, *plum*, kubis,

anggur, *blackcurrant*, *chokeberry*, terong, kacang merah, kacang hitam, paprika merah. Pada buah seperti *plum*, apel, anggur, dan *cranberry*, antosianin terutama terletak pada kulit buah dan terakumulasi dalam vakuola dari jaringan epidermal dan sub-epidermal (Melawaty, tanpa tahun).

Antosianin sebagai antioksidan didalam tubuh sehingga dapat mencegah terbentuknya aterosklerosis, selain itu antosianin juga bermanfaat sebagai anti-inflamasi, menurunkan glukosa darah, anti-hipertensi, dan juga sebagai antibakteri (Konczak *et al*, 2004). Mekanisme antosianin sebagai antibakteri ialah mendenaturasi protein bakteri dan hambatan aktivitas enzim yang mempunyai gugus sulfhidril (Limyati, 2008).

2.1.5.2 Tanin

Senyawa tanin termasuk kedalam senyawa polifenol yang artinya senyawa yang memiliki bagian berupa fenolik. Berat molekulnya ialah antara 500-20.000. Tanin memiliki kemampuan untuk mengikat protein dan membentuk kompleks tanin-protein. Pada kenyataannya, sebagian besar tumbuhan yang bertanin dihindari oleh hewan pemakan tumbuhan karena rasanya sangat sepat, sehingga salah satu fungsi utama tanin dalam tumbuhan ialah sebagai penolak hewan pemakan tumbuhan (Hagerman, 2002).

Berdasarkan perbedaan struktur molekul, tanin terbagi menjadi dua yaitu tanin yang terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tannin terhidrolisis biasanya berikatan dengan karbohidrat dengan membentuk jembatan oksigen, maka dari tanin ini dapat dihidrolisis dengan menggunakan asam sulfat atau asam klorida. Terdapat dua macam tanin terhidrolisis yaitu *gallotannin* (asam galat) dan *ellagitannin* (asam elagat). Sedangkan tanin terkondensasi merupakan polimer dari 2 hingga 50 unit flavonoid yang dihubungkan oleh rantai karbon sehingga

tidak mudah terhidrolisis. Nama lain dari tanin terkondensasi ini adalah proantosianidin. Terdapat dua macam tanin terkondensasi atau proantosianidin yaitu *procianidin* dan *prodelphinidin*. Proasianidin terdiri dari *epicetechin* dan *cetechin*. *Prodelphinidin* terdiri dari *epigallocatechin* dan *galocatechin*. Tanin pada buah anggur terdapat di kulit, daging buah maupun bijinya. Tanin pada kulit anggur termasuk pada jenis tanin terkondensasi golongan proasianidin (Hagerman, 2002; Qin Xia *et al*, 2010).

Semua jenis tanin dapat larut dalam air. Kelarutannya besar, dan akan bertambah besar apabila dilarutkan dalam air panas. Tanin juga akan larut dalam pelarut organik seperti metanol, etanol, aseton dan pelarut organik lainnya. Tanin dapat bersifat sebagai antibakteri, tanin diduga memiliki mekanisme yang sama dengan senyawa fenolik lainnya dalam menghambat pertumbuhan dan membunuh bakteri. Tanin dapat membentuk kompleks dengan enzim atau substrat bakteri, adapun mekanisme kerjanya yang lain adalah tanin mengganggu sintesa peptidoglikan sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang, toksisitas tanin juga dikaitkan dengan aksi pada membran mikroorganisme, pembentukan suatu kompleks ikatan tanin terhadap ion metal yang dapat menambah toksisitas tanin itu sendiri, dan mendestruksi atau menginaktivasi fungsi materi genetik yang terdapat dalam bakteri. Tanin diduga dapat mengkerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri akibat terganggunya permeabilitas sel tidak akan dapat melakukan aktivitas hidupnya sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati (Akiyama *et al*, 2001; Ajizah, 2004).

2.1.5.3 Saponin

Saponin merupakan jenis glikosida. Glikosida adalah senyawa yang terdiri dari glikon (Glukosa, fruktosa, dll) dan aglikon (senyawa bahan alam lainnya). Saponin umumnya berasa pahit dan dapat membentuk buih saat dikocok dengan air (Najib, 2009).

Berdasarkan struktur dari aglikonnya, saponin dapat dibedakan menjadi dua macam, yaitu saponin steroid dan saponin triterpenoid. Kedua saponin ini larut dalam air dan etanol, metanol, etil asetat tetapi tidak larut dalam eter (Nimah *et al*, 2012). Saponin dapat ditemukan di dalam ginseng, kedelai, kacang-kacangan, buah anggur terutama di dalam kulitnya, bayam, bunga Mullein dan asparagus. Saponin memiliki banyak manfaat di antaranya menurunkan kadar kolesterol dalam darah, anti inflamasi, dan anti kanker, dan antibakteri (Keating, 2009).

Aktivitas antibakteri saponin adalah dengan cara menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri karena saponin memiliki komponen aktif *aglycone* yang bersifat membranolitik. Setelah tegangan permukaan dinding sel bakteri menurun, saponin membentuk kompleks dengan sterol yang menyebabkan pembentukan *single ion channel*. Adanya *single ion channel* menyebabkan ketidakstabilan membran sel sehingga menghambat aktivitas enzim, transpor ion yang sangat berperan dalam kehidupan bakteri. Apabila transpor ion terhambat, maka pertumbuhan bakteri juga akan terhambat (Zahro *et al*, 2013).

2.2 *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus aureus* adalah flora normal pada nasal, kulit dan membran mukosa pada manusia. Genus *staphylococcus* sedikitnya memiliki 30 spesies. Salah satu spesies utama yang memiliki kepentingan klinis adalah

S.aureus. Hampir setiap orang akan mengalami beberapa tipe infeksi *S.aureus* sepanjang hidupnya, dari infeksi kulit ringan, keracunan makanan sampai infeksi berat (Jawetz *et al*, 2010).

Tingkat kolonisasi bakteri dapat berbeda pada masing-masing individu. Kolonisasi paling besar didapatkan pada individu dengan diabetes mellitus, *Acquired Immunodeficiency Syndrome* (AIDS), pasien hemodialisis, sirosis hati, pada pasien dengan kerusakan kulit dan defek pada kualitas dan kuantitas leukositnya. Individu dengan tingkat kolonisasi yang tinggi memiliki resiko lebih tinggi pula terhadap infeksi *S.aureus* daripada individu dengan kolonisasi rendah atau tanpa kolonisasi *S.aureus* karena sebagian besar infeksi disebabkan oleh *S.aureus* yang berasal dari kolonisasi di tubuh pasien sendiri (Kasper *et al*, 2008).

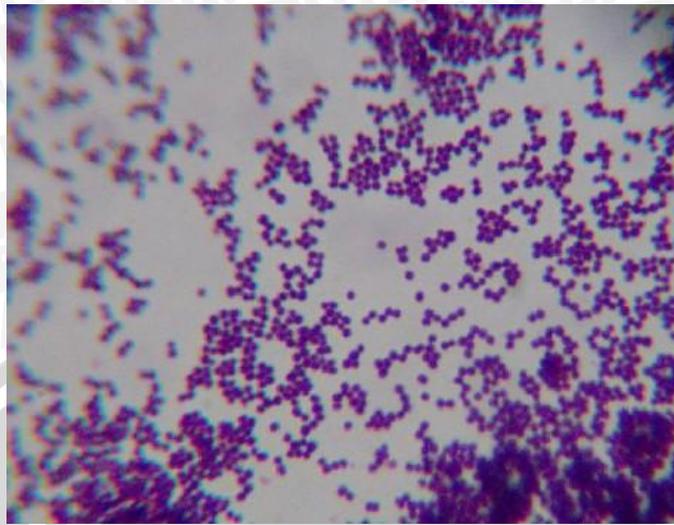
2.2.1 Taksonomi

Berdasarkan taksonomi *Staphylococcus aureus* dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Family	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Species	: <i>Staphylococcus aureus</i> (Todar, 2008).

2.2.2 Morfologi dan Identifikasi *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan Gram positif, bersifat aerob atau anaerob fakultatif, tes katalase positif dan tahan hidup dalam lingkungan yang mengandung garam dengan konsentrasi tinggi (halofilik), misalnya NaCl 10 %.



**Gambar 2.2 Bakteri *Staphylococcus aureus* pada Pewarnaan Gram
(Berbentuk Kokus, Bewarna Ungu, Gram Positif, Perbesaran Obyektif 100x)
(Tinder, 2012)**

Staphylococcus memiliki bentuk sel yang sferis dengan diameter sekitar 1 μm tersusun dalam kelompok yang tidak teratur. Pengamatan stafilococcus yang diamati dibawah mikroskop, akan tampak kokus yang bergerombol seperti buah anggur terlihat dari perbenihan padat, sedangkan kokus tunggal, berpasangan, tetrad, dan bentuk rantai juga terlihat di biakan cair. Staphylococcus tidak motil dan tidak membentuk spora. Stafilococcus memfermentasikan banyak karbohidrat secara lambat, menghasilkan asam laktat tetapi tidak menghasilkan gas (Jawetz *et al*, 2010; Dzen *et al*, 2010).

2.2.2.1 Kultur

Untuk membiakan staphylococcus diperlukan suhu optimal antara 28-38°C, atau sekitar 35°C. Apabila bakteri tersebut diisolasi dari seorang penderita, suhu optimal yang diperlukan adalah 37°C tetapi suhu yang terbaik untuk menghasilkan pigmen adalah suhu ruangan (20-25°C). pH optimal untuk pertumbuhan *S.aureus* adalah 7,4. Pada umumnya staphylococcus dapat

tumbuh pada medium-medium yang biasa dipakai di laboratorium bakteriologi, misalnya *Nutrient Agar Plate* (NAP) dan *Blood Agar Plate* (BAP). Untuk medium NAP penting untuk mengetahui adanya pembentukan pigmen dan *S.aureus* akan membentuk pigmen berwarna kuning emas. Koloni yang tumbuh berbentuk bulat, berdiameter 1-2 mm, konveks dengan tepi rata, permukaan mengkilat dan konsistensi lunak. Sedangkan pada medium BAP, medium ini dipakai secara rutin. Koloninya akan tampak lebih besar, dan pada galur yang ganas biasanya memberikan zona hemolisa yang jernih disekitar koloni yang mirip dengan koloni *Sterptococcus β hemoliticus*. Pada umumnya untuk membiakan *Staphylococcus aureus*, perlu medium yang mengandung asam amino dan vitamin-vitamin, misalnya : threonin, asam nikotinat, dan biotin. Untuk isolasi primer dari infeksi campuran terutama yang berasal dari tinja atau luka-luka, perlu medium yang mengandung garam NaCl 7,5% atau medium yang mengandung polimiksin (*polymixin Staphylococcus medium*) (Jawetz *et al*, 2010; Dzen *et al* 2010).

2.2.2.2 Sifat pertumbuhan dan biokimia

Stafilokokus relatif resisten terhadap pengeringan, panas (tahan pada suhu 50°C selama 30 menit), dan natrium klorida 9% tetapi mudah dihambat oleh bahan kimia tertentu, seperti heksaklorofen 3%. Beberapa sifat dari *S.aureus* adalah mampu menghemolisa agar darah, dan mampu meragikan gula sederhana seperti glukosa, laktosa, dan sukrosa, dan dapat mereduksi nitrat menjadi nitrit. *Staphylococcus aureus* dapat meragikan manitol, tetapi hal ini tidak dijumpai pada *Staphylococcus epidermidis* maupun *Staphylococcus saprophyticus*. Untuk mengetahui fermentasi terhadap manitol digunakan *Mannitol Salt Agar* (konsentrasi garam NaCl 7,5%-10%) dengan melihat adanya daerah terang (halo) berwarna kuning disekitar koloni *S.aureus*. (Dzen *et al*, 2010)

2.2.3 Struktur Antigen

Stafilokokus mengandung polisakarida antigenik dan protein serta substansi penting lainnya didalam struktur dinding selnya. Beberapa antigen yang terdapat pada *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut :

a. Peptidoglikan

Peptidoglikan merupakan polimersakarida yang mengandung subunit-subunit yang terangkai, merupakan eksoskelet yang kaku pada dinding sel. Dinding sel staphylococcus 50% terdiri dari peptidoglikan berdasarkan berat. Peptidoglikan dapat dihancurkan oleh asam kuat atau pajanan terhadap lisozim. Peptidoglikan memicu pelepasan IL-1, aktivasi komplemen, dapat menjadi *chemoattractant* untuk leukosit polimorfonuklear, dan memiliki aktivitas mirip-endotoksin.

b. Protein A

Protein A adalah komponen dinding sel pada banyak galur *S.aureus* yang berikatan dengan Fc dari molekul IgG. Bagian Fab dari IgG yang terikat dengan protein A bebas berikatan dengan antigen spesifik.

c. Asam teikoat

Asam teikoat, merupakan polimer gliserol atau ribitol fosfat, berhubungan dengan peptidoglikan dan dapat menjadi antigenik.

d. Polisakarida

Polisakarida yang ditemukan pada *Staphylococcus aureus* adalah Polisakarida A yang merupakan komponen dinding sel bakteri. Antigen ini merupakan suatu kompleks peptidoglikan - asam teikoat dan dapat menghambat fagositosis. Disamping itu terdapat juga antigen protein A yang bersama dengan polisakarida membentuk dinding sel bakteri.

e. Kapsul

Beberapa galur memiliki kapsul, yang menghambat fagositosis oleh leukosit polimorfonuklear kecuali antibodi spesifik (Jawetz *et al* 2010; Dzen *et al*, 2010).

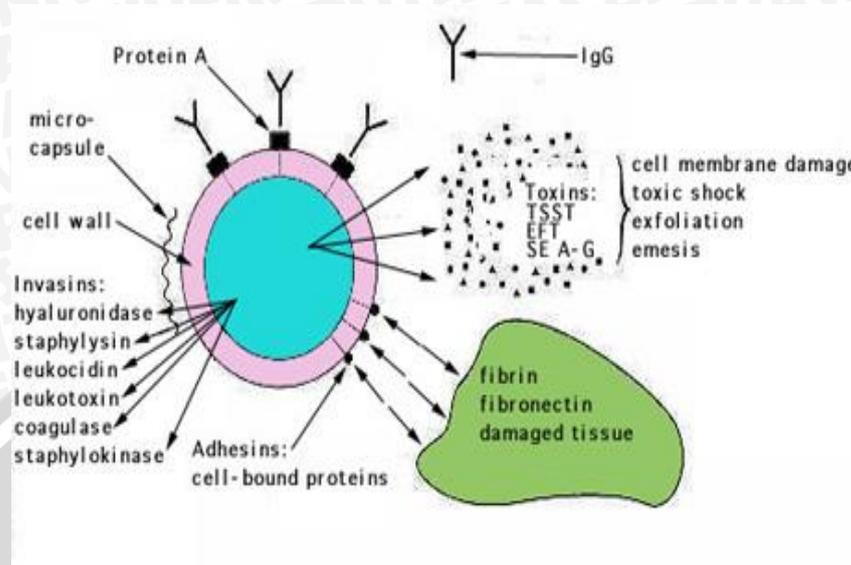
2.2.4 Enzim dan Toksin *Staphylococcus aureus*

Stafilokokus dapat menyebabkan penyakit, baik melalui kemampuannya untuk berkembang biak dan menyebar luas di jaringan maupun dengan menghasilkan berbagai substansi ekstraseluler. Beberapa substansi ekstraseluler tersebut adalah enzim dan toksin.

Stafilokokus menghasilkan enzim katalase, yang mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen. Uji katalase membedakan stafilokokus yang positif, dengan streptokokus yang negatif. *Staphylococcus aureus* menghasilkan enzim koagulase yaitu suatu protein yang dapat menggumpalkan plasma yang mengandung oksalat atau sitrat. Koagulase berikatan dengan protombin, bersama-sama keduanya menjadi aktif secara enzimatik dan menginisiasi polimerasi fibrin. Memproduksi koagulase dianggap sama dengan memiliki potensi menjadi patogen invasif. Faktor penggumpal adalah kandungan permukaan *S.aureus* yang berfungsi melekatkan organisme ke fibrin atau fibrinogen. Bila berada dalam plasma, *S.aureus* membentuk gumpalan. Enzim-enzim lain yang dihasilkan oleh stafilokokus antara lain adalah hialuronidase. Dengan menghasilkan enzim ini maka bakteri bersifat invasif, tapi sifat ini terjadi pada fase awal dari infeksi dan cepat dinetralkan pada reaksi peradangan. Enzim stafilokinase menyebabkan fibrinolisis, enzim ini bekerja sebagai aktivator enzim protease dalam plasma untuk menghasilkan *lytic agent*. Enzim lainnya, protease bersifat proteolitik dan menyebabkan nekrosis pada jaringan yang diinvasi

termasuk jaringan tulang. Selain itu *S.aureus* juga menghasilkan enzim lipase, fosfatase, dan DNAase (Jawetz *et al*, 2004; Dzen *et al*, 2010).

Eksotoksin staphylococcus bersifat mematikan, tidak tahan panas dan dapat menyebabkan nekrosis lapisan dermis. Eksotoksin dapat dipisahkan menjadi alfa (α) toksin yg merupakan hemolisin kuat, beta (β) toksin dapat menguraikan sfingomielin sehingga toksik untuk berbagai sel termasuk sel darah merah, toksin (δ) delta mengganggu membran biologik dan dapat berperan pada penyakit diare akibat *S.aureus*, dan leukosidin yang dapat membunuh sel darah putih. Enterotoksin merupakan toksin yang tahan terhadap panas dan resisten terhadap kerja enzim usus. Enterotoksin merupakan penyebab penting keracunan makanan, toksin ini dihasilkan bila *S.aureus* tumbuh dimakanan yang mengandung karbohidrat dan protein. Ingesti 25 μ g enterotoksin B dapat menyebabkan muntah dan diare. Toksin epidermolitik yang dihasilkan oleh *S.aureus*, menyebabkan terjadinya *scalded skin syndrome*, sindrom ini berupa pengelupasan epidermis kulit sebagai akibat lisisnya perlekatan antar sel pada stratum germinativum. *S.aureus* juga menghasilkan toksin sindrom-syok-toksik. Toksin ini menyebabkan terjadinya sindrom klinik berupa panas, ruam kulit, hipotensi bahkan sampai syok. Diperkirakan toksin ini merangsang imunokompeten dalam jumlah yang cukup banyak, sehingga digolongkan sebagai superantigen (Jawetz *et al*, 2010; Dzen *et al*, 2010).



Gambar 2.3 Faktor Virulensi *Staphylococcus aureus* (Todar, 2008)

2.2.5 Patogenesis Infeksi

Staphylococcus aureus ditemukan dalam hidung pada 20-50% manusia. Stafilococcus juga sering ditemukan dipakaian, seprai, dan benda-benda lainnya di lingkungan manusia. Kolonisasi *S.aureus* asimtomatik terjadi secara intermiten pada anak-anak dan orang dewasa, paling sering di vestibula nasal anterior dan juga terkadang pada kulit, kuku, perineum, dan vagina. Infeksi staphylococcus pada manusia sangat sering terjadi, akibat inoculasi bakteri pada luka yang terbuka (kulit yang tidak intak) ataupun dapat juga melalui traktus respiratorius sebagai *portal of entry*. Pneumonia staphylococcal adalah komplikasi yang sering pada influenza yang secara klasik terjadi kurang lebih 1 minggu setelah infeksi influenza. Kemampuan patogenik *S.aureus* tertentu merupakan gabungan efek faktor ekstraseluler dan toksin serta sifat invasif galur tersebut. Salah satu akhir spektrum penyakit oleh stafilococcus adalah keracunan makanan, yang semata-mata akibat konsumsi makanan yang mengandung enterotoksin, sedangkan bentuk akhir lainnya adalah bakteremia stafilococcus dan abses yang tersebar disemua organ. *S.aureus* yang patogen dan invasif menghasilkan koagulase dan

cenderung menghasilkan pigmen kuning dan bersifat hemolitik (Todar, 2008; Frank *et al*, 1999).

2.2.6 Manifestasi klinis

Bakteri ini dapat menyerang seluruh tubuh, untuk bentuk klinisnya tergantung dari bagian tubuh yang terkena infeksi.

- Pada kulit dapat terjadi furunkel, impetigo, *scalded skin syndrome*, dan lain-lain.
- Pada kuku dapat terjadi paronikhia
- Pada tulang dapat terjadi osteomielitis, disebabkan penyebaran bakteri melalui hematogen ataupun akibat kontaminasi langsung pada luka seperti fraktur terbuka.
- Pada sistem pernapasan terjadi tonsilitis, bronkitis, dan pneumonia.
- Pada jantung dapat terjadi endokarditis yang biasanya dikarenakan olah penggunaan obat IV, pasien tua, pasien dengan penggunaan katup prostetik, dan pasien yang MRS.
- Pada otak dapat terjadi meningitis dan ensefalomielitis,
- Pada traktus urogenitalis dapat terjadi sistitis,
- *Toxic shock syndrom*, yang timbul secara tiba-tiba dengan gejala demam tinggi, muntah, diare, mialgia, ruam, dan hipotensi disertai gagal jantung dan gagal ginjal pada sebagian besar kasus yang berat. Gejala tersebut sering terjadi dalam 5 hari setelah permulaan haid pada wanita yang menggunakan tampon, tetapi juga dapat terjadi pada anak-anak atupun laki-laki dengan luka yang terinfeksi oleh stafilokokus.

- Keracunan makanan, akibat enterotoksin stafilokokus ditandai dengan waktu inkubasi yang pendek yaitu 1-8 jam, dengan gejala mual hebat, muntah, dan diare (Jawetz *et al* 2010; Dzen *et al* 2010).

2.2.7 Terapi dan Resistensi

Terapinya tergantung pada galur stafilokokus sebaiknya dilakukan tes sensitivitas. Untuk *Staphylococcus aureus* yang tidak menghasilkan penisilinase cukup menggunakan penisilin G, namun jika ada kontraindikasi yaitu pasien alergi pada penisilin, maka obat golongan aminoglikosida dan eritromisin ataupun sefalosporin seperti sefazolin atau sefalotin dapat diberikan sebagai alternatif. Bakteremia, endokarditis, pneumonia, dan infeksi berat lainnya akibat infeksi *S.aureus* memerlukan terapi dengan penisilin resisten beta laktamase secara intravena dalam jangka panjang. *S.aureus* yang resisten terhadap penisilin yang diperantarai dengan adanya produksi penisilinase (beta laktamase) yaitu suatu enzim yang memutuskan cincin beta-laktam pada molekul penisilin. Penisilin yang resisten terhadap penisilinase seperti metisilin, nafsilin, oksasilin, kloksasilin, dan flukloksasilin mampu melawan efek degradasi penisilinase dari bakteri Staphylococcal. Oleh karena itu, obat-obat antibiotik yang tahan terhadap penisilinase dapat digunakan terhadap galur yang resisten terhadap penisilin.

Resistensi muncul akibat pemakaian antibiotik yang tidak rasional misalnya apabila suatu diagnosis penyakit itu belum dipastikan akibat bakteri, tetapi sebagian besar dokter sudah memberikan antibiotika untuk mengobatinya, dapat juga karena ketidakpatuhan pasien menghabiskan regimen antibiotika yang telah ditetapkan oleh dokter. Resistensi obat yang ditentukan oleh plasmid, dapat ditransmisikan antar stafilokokus melalui proses tranduksi dan mungkin

juga melalui konjugasi. Saat ini telah diketahui adanya galur yang resisten terhadap metisilin, yang disebut sebagai *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). *Methicillin resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) mempunyai karakteristik dan menimbulkan penyakit yang tidak berbeda dengan yang ditimbulkan *Staphylococcus aureus*, hanya MRSA sangat sulit untuk diterapi karena sifatnya yang multi-resisten terhadap beberapa antibiotik. Sifat multiresisten itu timbul karena kuman MRSA dapat mengkode gen MecA yang menyebabkan *Staphylococcus aureus* resisten terhadap semua golongan antimikroba beta laktam. Vankomisin sering dicadangkan untuk stafilokokus yang resisten terhadap metisilin. Apabila pasien tidak mampu untuk mentoleransi vankomisin maka dapat diberikan flurokuinolon, trimethoprim-sulfamethoxazole, klindamisin atau minosiklin (Jawetz *et al*, 2010; Dzen *et al*, 2010; Stoppler, 2012).

2.3 Cara Kerja Antibakteri

Aktivitas mikroorganisme dapat dikendalikan dengan penghambatan secara fisik maupun kimia. Bahan antibakteri adalah penghambat bakteri secara kimia yang mengganggu aktivitas metabolisme bakteri. Antibakteri adalah zat yang menghambat pertumbuhan bakteri. Berdasarkan cara kerjanya, antibakteri dibedakan menjadi bakterisidal dan bakteriostatik. Bakteriostatik adalah zat yang bekerja menghambat pertumbuhan bakteri sedangkan bakterisidal adalah zat yang bekerja mematikan bakteri. Beberapa zat antibakteri bersifat bakteriostatik pada konsentrasi rendah dan bersifat bakterisidal pada konsentrasi tinggi (Chomnawang *et al* 2005).

Masing-masing antibakteri mempunyai cara yang berbeda-beda dalam menghambat ataupun membunuh bakteri penyebab penyakit. Cara kerja antibiotik tersebut adalah sebagai berikut :

2.3.1 Menghambat sintesis dinding sel

Bakteri mempunyai lapisan luar yang kaku, yaitu dinding sel. Dinding sel mempertahankan bentuk dan ukuran mikroorganisme, yang mempunyai tekanan osmotik internal yang tinggi. Cedera pada dinding sel atau inhibisi pada pembentukannya dapat menyebabkan sel menjadi lisis. Semua obat β -laktam merupakan inhibitor selektif terhadap sintesis dinding sel bakteri sehingga secara aktif melawan pertumbuhan bakteri (Jawetz *et al*, 2010).

2.3.2 Mengganggu keutuhan membran sel

Membran sel merupakan pembatas osmotik bagi bebasnya difusi lingkungan dalam dan luar sel. Gangguan dalam keutuhan membran sel tersebut dapat menyebabkan terjadinya kebocoran dan kematian sel bakteri, mempengaruhi konsentrasi metabolit dan bahan gizi dalam sel, menghambat aktivitas biosintetik tertentu yang secara keseluruhan mempengaruhi kehidupan sel bakteri itu sendiri. Contoh antibiotik jenis ini adalah *polymixin* yang berikatan dengan fosfat pada fosfolipid membran sel bakteri sehingga merusak struktur membran sel tersebut (Jawetz *et al*, 2010).

2.3.3 Menginaktivasi enzim

Efek senyawa antibakteri dapat menghambat kerja enzim jika mempunyai spesifitas yang sama antara ikatan kompleks yang menyusun struktur enzim dengan komponen senyawa antibakteri. Mekanisme yang terjadi menunjukkan bahwa kerja enzim akan terganggu dalam mempertahankan kelangsungan aktivitas bakteri, sehingga mengakibatkan bakteri akan memerlukan energi

dalam jumlah besar untuk mempertahankan kelangsungan aktivitasnya. Akibatnya energi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan menjadi berkurang sehingga aktivitas bakteri menjadi terhambat atau jika kondisi ini berlangsung lama akan mengakibatkan pertumbuhan bakteri terhenti (inaktif) (Brunton, 2006).

2.3.4 Denaturasi protein

Sifat fungsional dari protein karena bentuk tiga dimensinya. Bentuk itu dipertahankan oleh ikatan-ikatan kimia, ikatan kovalen disulfide dan sejumlah ikatan non-kovalen seperti ikatan ionik, hidrofobik, dan hidrogen. Ikatan-ikatan kimia ini disebut sebagai struktur tertier dari protein. Rusaknya struktur tertier ini (akibat pemanasan atau senyawa tertentu) akan menyebabkan denaturasi protein (Dzen *et al*, 2010).

2.3.5 Menginaktivasi fungsi material genetik

Komponen bioaktif antibakteri yang dapat mengganggu pembentukan asam nukleat (DNA atau RNA), dapat menyebabkan terganggunya transfer informasi genetik yang selanjutnya akan menginaktivasi atau merusak materi genetik sehingga terganggunya proses pembelahan sel untuk pembiakan. Hal tersebut dapat menyebabkan kematian sel karena sel tidak mampu mengadakan replikasi maupun sintesis enzim (Brunton, 2006).

2.4 Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan salah satu dari dua metode pokok dibawah ini yaitu :

2.4.1 Metode Dilusi

Cara ini digunakan untuk menentukan KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bunuh Minimum) dari bahan antibakteri.

Prinsip Metode Dilusi :

Menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi media cair dan sejumlah tertentu sel bakteri yang diuji, suspensi bakteri yang diujikan pada metode dilusi tabung memiliki konsentrasi 10^6 CFU/ml. Kemudian masing-masing tabung diisi dengan bahan yang telah diencerkan secara serial. Selanjutnya seri tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan diamati terjadinya kekeruhan pada tabung. Konsentrasi terendah bahan pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan bakteri) adalah KHM dari bahan uji. Selanjutnya biakan dari semua tabung yang jernih diinokulasikan pada media 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 bahan terhadap bakteri uji (Dzen *et al*, 2010).

Selain menggunakan dilusi tabung, metode yang lain dengan menggunakan dilusi agar. Pada dilusi agar, zat antibakteri diletakkan dalam medium agar lalu teteskan bakteri yang akan diuji dengan konsentrasi 10^4 CFU/spot (CLSI, 2006). Setelah inkubasi, diamati pertumbuhan koloninya. Kadar Hambat Minimum (KHM) didapat dari konsentrasi zat antibakteri terendah yang dapat menghambat pertumbuhan koloni pada medium agar. Keuntungan metode dilusi agar adalah dapat menentukan KHM tanpa dipengaruhi warna atau kekeruhan larutan serta dapat menentukan KHM untuk beberapa jenis bakteri yang tidak dapat tumbuh dengan baik pada medium *broth*, seperti *N.gonorrhoe*. Akan tetapi dilusi agar tidak umum digunakan di laboratorium mikrobiologi, metode dilusi agar ini tidak dapat menentukan Kadar Bunuh Minimum (Baron *et al*, 1994; Jiang.L, 2011).

2.4.2 Metode Difusi

Metode yang paling luas digunakan adalah uji difusi cakram. Dalam metode ini, inokulum bakteri yang akan diuji disesuaikan dengan konsentrasi tertentu, diinokulasikan ke seluruh permukaan agar padat seperti *Mueller Hinton Agar* (MHA) dengan kapas steril. Bahan uji dijenuhkan ke dalam kertas saring (cakram kertas). Cakram kertas yang mengandung bahan tertentu ditanam pada media perbenihan agar padat yang telah dicampur dengan bakteri tersebut, kemudian diinkubasikan 37°C selama 18-24 jam. Selanjutnya diamati adanya area (zona) jernih disekitar cakram kertas yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri. Diameter zona jernih inhibisi disekitar cakram diukur sebagai ukuran kekuatan inhibisi obat melawan organisme uji tertentu. Selama inkubasi, bahan uji berdifusi dari kertas saring ke dalam agar-agar itu, sebuah zona inhibisi dengan demikian akan terbentuk. Diameter zona sebanding dengan jumlah bahan uji yang ditambahkan ke kertas saring. Metode ini secara rutin digunakan untuk menguji sensitivitas antibiotik untuk bakteri patogen (Jawetz *et al*, 2010; Jiang.L, 2011; Meyer *et al*, 2011).

2.5 Metode Ekstraksi Senyawa Aktif Bahan Alam

Ekstraksi adalah penyarian zat-zat aktif dari bagian tumbuhan, hewan dan beberapa jenis biota laut. Zat-zat aktif terdapat didalam sel namun sel tanaman dan hewan berbeda demikian pula dengan ketebalannya, sehingga diperlukan metode ekstraksi dengan pelarut tertentu dalam mengekstraksinya. Tujuan ekstraksi bahan alam adalah menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. Ekstraksi ini didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut. Untuk mengekstraksi senyawa kimia yang ada dalam tumbuhan terlebih dahulu bahan dikeringkan kemudian dihaluskan dengan

derajat halus tertentu lalu diekstraksi dengan pelarut yang sesuai. Untuk mendapatkan sari yang kental dapat dilakukan dengan menguapkan hasil ekstraksi dengan bantuan *rotary evaporator*. Pelarut untuk ekstraksi terdiri atas, pelarut non polar, seperti N-heksan, diklorometan, kloroform, benzena, dietil eter. Pelarut polar seperti air, metanol, etanol. Dan terdapat pelarut semipolar seperti aseton, etil asetat, dan lain-lain (Ansel, 2008).

Jenis ekstraksi bahan alam yang sering dilakukan adalah ekstraksi secara panas dengan cara refluks, sokletasi, digesti, infus, dekok dan ekstraksi secara dingin dengan cara maserasi dan perkolasi. (Hamdani, 2011)

a. Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinu (terus menerus). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya. Hasil ekstraksi disebut maserat, dan digunakan untuk senyawa kimia termolabil.

b. Perkolasi

Proses penyarian simplisia dengan jalan melewati pelarut yang sesuai secara lambat pada simplisia dalam suatu perkolator, yang umumnya dilakukan dalam suhu ruangan. Tujuan perkolasi ialah untuk menarik senyawa aktif dan biasanya dilakukan untuk senyawa aktif yang tahan ataupun tidak tahan pemanasan.

c. 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 pendingin 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.

d. Sokletasi

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 pendingin 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.

e. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan adanya pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar), yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40° - 50° C.

f. Infus

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 96 - 98° C) selama waktu tertentu (15-20 menit).

g. Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama dengan temperatur pada titik didih air.