

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Tanaman Sirsak (*Annona muricata* L.)

##### 2.1.1 Taksonomi dan Morfologi

###### 2.1.1.1 Taksonomi Tanaman Sirsak (*Annona muricata* L.)

Taksonomi dan morfologi tanaman sirsak (*Annona muricata* L.) adalah sebagai berikut (Sunarjono, 2005)

Kigdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Polycarpiceae
Famili	: Annonaceae
Genus	: Annona
Spesies	: <i>Annona muricata</i> L

###### 2.1.1.2 Morfolgi Tanaman Sirsak (*Annona muricata* L.)

Tanaman sirsak berupa pohon dengan ketinggian mencapai 8-10 meter dan diameter batang 10-30 cm (Radi, 1996). Pohon sirsak berkayu keras dan bercabang sedikit. Arah cabangnya tidak menentu atau berserakan sehingga sulit diatur. Batang sirsak umumnya kecil, dan tidak mudah patah (Sunarjono, 2005).

Tanaman sirsak mampu berbunga tunggal sepanjang tahun. Bunganya besar. Bunga muncul pada ketiak daun, cabang, ranting, dan ujung cabang. Bunga sirsak mempunyai tangkai yang pendek. Kelopak bunga terdiri dari tiga sepalum yang berukuran kecil. Kelopak tersebut tebal. Daun kelopak bewarna hijau tua sampai hijau kekuningan.

Daun mahkota bewarna hijau muda. Jumlahnya enam helai yang berbagi dalam dua lapis. Tiga daun mahkota lingkaran luar lebih lebar dan tebal, sedangkan tiga daun mahkota lingkaran dalam lebih kecil. Daun mahkota bagian dalam berseling dengan daun mahkota lingkaran luar. Daun mahkota luar (petalum) berbentuk delta atau mirip segitiga klaver. Petalum tersebut membugkus bunga dengan ujung meruncing hingga seperti kubah. Bila mendekati mekar, mahkota bunga ini berubah menjadi kuning muda (Sunarjono, 2005).



**Gambar 2.1 Pohon Sirsak (Sunarjono, 2005)**

Buah sirsak umumnya lonjong, berduri halus, dan lunak. Buahnya berkembang membesar dari banyak bakal buah sehingga buah sirsak sering disebut buah majemuk. Daging buah yang dimakan disebut pseudocarp. Daging tersebut bewarna putih. Rasa buah matang umumnya masam sampai manis.

Daun sirsak berbentuk, bulat panjang dengan ujung runcing. Warna daun bagian atas hijau tua, sedangkan bagian bawah hijau kekuningan. Daun sirsak tebal dan agak kaku dengan urat daun utama. Aroma yang ditimbulkan daun berupa langu yang tidak sedap (Sunarjono, 2005). Daun sirsak berbentuk bulat telur terbalik, bewarna hijau muda sampai hijau tua, dengan tipe pertulangan *brochododrome*, ujung daun meruncing, pinggiran rata dan permukaan daun mengilap (Radi, 1996 ).



**Gambar 2.2 Daun Sirsak (Sunarjono, 2005., Purwatresna, 2012)**

Akar tanaman sirsak cukup dalam. Akar dapat menembus tanah sampai kedalaman 2 meter. Akar sampingnya cukup banyak dan kuat sehingga baik

untuk konservasi lahan yang miring karena dapat mencegah erosi (Sunarjono, 2005).

## 2.2 Kandungan dan Manfaat

### 2.2.1 Kandungan Antimikroba Daun Sirsak (*Annona muricata* L.)

Daun sirsak mengandung zat flavonoid, tannin, saponin, triterpenoid yang berfungsi sebagai antimikroba (LIPI, 2010).

#### 2.2.1.1 Alkaloid

Senyawa alkaloid adalah senyawa alami amina yang terdapat banyak pada tumbuhan dan sedikit pada hewan. Senyawa alkaloid sebagian besar mencakup senyawa bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen sebagai bagian dari system siklik (Harborne, 2006). Berdasarkan cincin heterosiklik nitrogen alkaloid dapat diklasifikasikan antara lain pirolidin, piperidin, dan isokuinolin. Alkaloid merupakan metabolit sekunder pada tumbuhan, memiliki aktivitas fisiologis sehingga banyak digunakan dalam bidang pengobatan. Alkaloid dari tumbuhan telah terbukti memiliki aktivitas antimikroba, diantaranya kausenalea bersifat antibakteri terhadap *Bacillus subtilis*, *Salmonella lutea*, *Pseudomonas vulgaris*, *Echerichia coli*, *Staphylococcus aureus*, murayanol juga memiliki aktivitas antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus*, *E. Coli* dan *Candida parapsilasis* (Ramsewak 1999).

Penyebaran alkaloid sangat tidak merata, jumlah besar terdapat pada tumbuhan Angiospermae dan tidak ditemukan pada tumbuhan Gymnospermae, paku-pakuan, lumut dan tumbuhan tingkat rendah (Harborne, 2006).

Alkaloid yang diisolasi dari tanaman terbukti memiliki sifat antimikroba. Mekanisme kerja dari alkaloid ini dihubungkan dengan kemampuan mereka untuk berinterkalasi dengan DNA bakteri yaitu dengan meletakkan diri di antara untaian DNA, selain itu juga dapat mengganggu dinding sel bakteri (Cowan, 1999).

### 2.2.1.2 Flavonoid

Flavonoid banyak ditemukan di sel-sel fotosintesis dan oleh karena itu tersebar luas pada kingdom plantae. Flavonoid banyak terdapat di dalam buah, sayur, kacang-kacangan, tangkai-tangkai dan bunga-bunga. Fungsi flavonoid pada bunga adalah untuk memberikan warna yang menarik bagi penyerbuk tanaman. Pada daun, senyawa ini semakin diyakini untuk mempromosikan kelangsungan hidup fisiologis tanaman, melindunginya dari jamur patogen dan radiasi UV-B. Selain itu, flavonoid terlibat dalam fotosensitisasi, transfer energi, tindakan hormon pertanaman tanaman dan pengatur pertanaman, kontrol respirasi dan fotosintesis, morfogenesis (Middleton and Chithan, 1993; Harborne and Baxter, 1999).

Flavonoid dapat diklasifikasikan menurut asal biosintesis. Beberapa kelas, misalnya chalcones, flavanon, flavan-3-ols dan flavan-3,4-diol, keduanya perantara dalam biosintesis serta produk akhir yang dapat terakumulasi dalam jaringan tanaman (Harborne and Baxter, 1999).

Flavonoid memiliki aktivitas antimikroba yang sangat penting dari berbagai mekanisme yang dihasilkan, yaitu dengan menghambat sintesis asam nukleat, mempengaruhi fungsi membran sitoplasma dan mencegah pembentukan energi.

- **Penghambatan Sintesis Asam Nukleat**

Dalam sebuah penelitian yang dilakukan Mori *et al.*, (1987) menunjukkan bahwa sintesis DNA bakteri *Proteus vulgaris* sangat dihambat oleh flavonoid, sementara sintesis RNA yang paling terpengaruh adalah pada *S. aureus*. Sintesis protein dan lipid juga terpengaruh tetapi untuk tingkat yang lebih rendah. Cincin B dari flavonoid mungkin memainkan peran dalam interkalasi atau ikatan hidrogen dengan penumpukan basa asam nukleat dan hal ini mungkin menjelaskan aksi penghambatan pada sintesis DNA dan RNA (Mori *et al.*, 1987).

Ohemeng *et al.*, (1993) menyatakan bahwa aktivitas antimikroba yang diamati dari tujuh flavonoid adalah karena sebagian terjadi penghambatan pada girase DNA terhadap *E. coli*. Penelitian yang dilakukan oleh Plaper *et al.*, (2003) melaporkan bahawa quercetin yang merupakan salah satu jenis flavonoid dapat mengikat subunit GyrB dari *E. coli* dalam proses girase DNA dan menghambat aktivitas ATPase enzim.

- **Penghambatan Fungsi Membran Sitoplasma**

Senyawa fenol dan turunannya (flavonoid) merupakan salah satu antimikroba yang bekerja dengan mengganggu fungsi membran sitoplasma. Mirzoeva *et al* dalam penelitiannya mengenai aktivitas antimikroba proposlis menunjukkan bahwa salah satu senyawa penyusun flavonoid quercetin, menyebabkan peningkatan permeabilitas membran bakteri dan disipasi potensial membran sehingga dapat berkontribusi besar terhadap aktivitas antimikroba keseluruhan dan dapat menurunkan resistensi sel untuk agen antimikroba lainnya. Adanya senyawa fenol ini dapat menyebabkan pengerusakan pada sitoplasma. Ion H<sup>-</sup> dari senyawa

fenol dan turunannya akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipida pada dinding sel bakteri akan terurai menjadi gliserol, asam karboksilat, dan asam fosfat. Fosfolida tidak mampu mempertahankan bentuk membran sitoplasma. Akibatnya, membran sitoplasma akan bocor dan bakteri akan mengalami hambatan pertumbuhan bahkan kematian. Flavonoid mencegah pembentukan energi pada membran sitoplasma dan menghambat motilitas bakteri, yang juga berperan dalam aksi antimikroba (Mirzoeva *et al.*, 1997; Yunus dkk., 2009). Motilitas bakteri dan kemotaksis penting dalam virulensi bakteri sebagai pemandu bakteri kepada sisi adesi dan invasi. Sehingga sifat antimotilitas mungkin memiliki peran penting dalam penghambatan patogenesis bakteri dan pengembangan infeksi (Mirzoeva *et al.*, 1997).

- **Penghambatan Metabolisme Energi**

Berdasarkan penelitian mengenai aktivitas antimikroba dua retrochalcones (licochalcone A dan C) dari akar *Glycyrrhiza inflata* yang dilakukan oleh Haraguchi *et al.*, (1998) melaporkan bahwa flavonoid ini menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap *S. aureus* dan *Micrococcus luteus* tetapi tidak terhadap *E. Coli*. Licochalcones dapat mengganggu metabolisme energi dalam cara yang mirip dengan antibiotik pernafasan-menghambat, karena energi yang dibutuhkan untuk penyerapan aktif berbagai metabolit dan untuk biosintesis makromolekul. Penelitian ini lebih lanjut menunjukkan bahwa licochalcones A dan C efektif menghambat NADH-sitokrom c reduktase, tetapi tidak sitokrom c oksidase atau NADH-coq reduktase.

### 2.2.1.3 Tannin

Tannin memiliki aktivitas antimikroba dengan beberapa mekanisme sebagai berikut: tannin dapat bereaksi dengan membran sel, mengakibatkan inaktivasi enzim dan destruksi atau inaktivasi fungsi materi genetik (Brannen dan Davidson, 1993). Toksisitas tannin dapat merusak membran sel bakteri sehingga mengganggu permeabilitas sel. Akibat terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertanamannya terhambat bahkan dapat mati (Wang, 1996; Akiyama, 2001).

### 2.1.1.1 Saponin

Saponin dapat bekerja menghambat DNA polymerase sehingga sintesa asam nukleat terganggu (Francis *et al.*, 2002). Selain itu saponin juga dapat menghambat sintesis protein melalui penghambatan translasi dan transkripsi (Davidson, 2005; Cornell University, 2008;). Saponin juga terbukti mengubah fluiditas membran sehingga mengganggu aktivitas enzimatis membran sel dan transpor ion yang melewati membran sel, dan juga diduga menghambat respon biokimiawi sekunder pada sel (Francis *et al.*, 2002; Inayati, 2007).

### 2.2.1.4 Triterpenoid

Triterpenoid adalah senyawa dengan kerangka karbon yang disusun dari enam unit isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C<sub>20</sub> asiklik yaitu skualen. Senyawa ini berstruktur siklik yang rumit. Triterpenoid dalam tanaman berfungsi sebagai pelindung untuk menolak serangan dan serangan mikroba. Sifat lipofilik triterpenoid diduga mampu merusak membran sel

(Jasmine, 2011). Penelitian yang dilakukan oleh Sukadana dkk (2008) menunjukkan bahwa triterpenoid dari ekstrak biji pepaya dengan pelarut n-heksana berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri dengan diameter daerah hambat sebesar 10 mm untuk bakteri *E. coli* dan 7 mm untuk bakteri *S. aureus*.

### 2.2.2 Manfaat Tanaman Sirsak (*Annona muricata* L.)

Seluruh bagian tanaman sirsak dapat digunakan sebagai obat tradisional, termasuk kulit kayu, daun, akar, buah, dan biji. Buah sirsak umumnya digunakan untuk mengobati penyakit yang disebabkan oleh cacing dan parasit, mengobati demam, meningkatkan produksi ASI pada ibu menyusui, serta untuk mengobati diare dan disentri. Biji yang dihancurkan dapat digunakan sebagai vermifug dan antelmintik terhadap internal dan eksternal parasit dan cacing (Taylor, 2002).

Bagian lain pada tanaman sirsak yang terkenal dapat digunakan sebagai obat-obatan adalah daun. Daun sirsak banyak dimanfaatkan sebagai obat herbal seperti penyakit kulit, rematik, batuk dan flu, serta antikanker (Orwa *et al* 2009), dan hipertensi (Lans, 2006). Khasiat lain dari daun sirsak adalah sebagai antispasmodik dan memberi efek menenangkan, daun sirsak bisa dikonsumsi dalam bentuk teh. Teh daun sirsak digunakan sebagai obat radang selaput lendir hidung. Rebusan daun sirsak juga efektif digunakan untuk kutu rambut dan kutu busuk. Daun segar yang dihaluskan mampu membantu penyembuhan luka pada kulit (Taylor, 2002). Selain itu berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Purwatresna (2012) daun sirsak dapat digunakan sebagai agen antidiabetes.

### 2.3 Mekanisme Kerja 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 geminasi spora bakteri) (Brunton, 2006).

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antimikroba dibagi dalam beberapa kelompok:

a. Menghambat Metabolisme Sel Mikroba

Cara kerja antimikroba dengan mempengaruhi reaksi metabolisme sel dikatalisis oleh enzim yang terbuat dari protein. Reaksi metabolisme meliputi biosintesis dan reaksi penting yang menghasilkan energi. Agen kimia yang berkombinasi dengan protein akan menghalangi protein untuk melakukan fungsi normalnya dalam mengeluarkan pengaruh bakteriostatik atau bakteriosidal (Volk dan Wheeler, 1998).

b. Menghambat Sintesis Dinding Sel Mikroba

Antibiotik akan menghambat proses sintesis dinding sel. Tekanan osmotik dalam sel mikroba lebih tinggi daripada di luar sel, sehingga kerusakan dinding sel mikroba akan menyebabkan terjadinya lisis, yang merupakan dasar dari efek bakterisidal terhadap mikroba yang peka (Fardiaz, 2000; Setiabudy, 2009)

c. Mengganggu Keutuhan Membran Sel Mikroba

Komponen bioaktif yang dimiliki tanaman obat dapat menyerang membran sitoplasma dan mempengaruhi integritasnya. Kerusakan membran sel menyebabkan keluarnya berbagai komponen dalam sel mikroba. Selain itu, kerusakan ini dapat mencegah masuknya bahan-bahan penting ke dalam karena membran sitoplasma juga mengendalikan pengangkutan aktif ke dalam sel.

d. Menghambat Sintesis Protein Sel Mikroba

Mikroba memerlukan sintesis berbagai protein untuk kehidupannya. Oleh sebab itu dengan adanya mekanisme penghambatan sintesis protein maka akan mempengaruhi kehidupan mikroba tersebut.

e. Menghambat Sintesis Asam Nukleat (DNA Dan RNA)

Mekanisme penghambatan asam nukleat ini dapat terjadi karena komponen bioaktif di dalam tanaman berinteraksi dengan benang helik ganda DNA, sehingga mencegah replikasi dan translasi. Selain itu polimerase mengakibatkan aktivitas enzim yang berperan pada biosintesis DNA dan RNA juga terhambat, sehingga menghambat pertumbuhan dan pembelahan sel.

## 2.4 Bakteri

### 2.4.1 Struktur Sel Bakteri

Tubuh bakteri memiliki struktur yang sederhana. Pada umumnya, tubuh bakteri tersusun atas membran plasma, dinding sel, sitoplasma. Struktur sel bakteri dapat dilihat seperti Gambar 2.3

### **a. Membran Plasma**

Membran plasma adalah membran yang membatasi sitoplasma dan dinding sel, serta tersusun atas lemak dan protein. Membran plasma banyak mengandung enzim yang biasanya terdapat dalam mitokondria sel eukariotik. Membran plasma atau membran sel bersifat semipermeabel. Membran sel mengandung enzim respirasi. Membran sel berfungsi membungkus plasma dan mengatur pertukaran mineral dari sel dan ke luar sel (Setiowati, 2007).

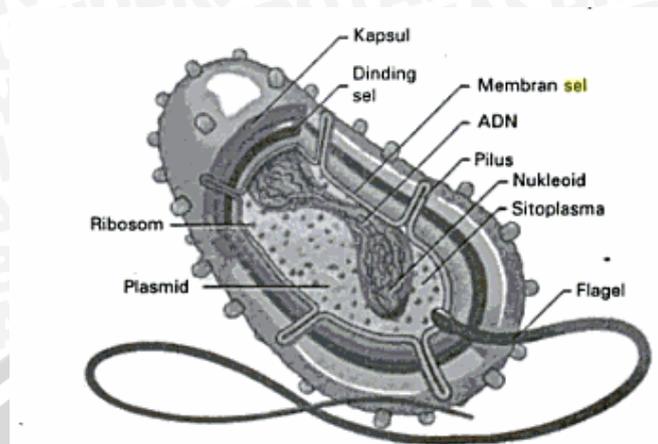
### **b. Dinding Sel**

Dinding sel bakteri terdiri atas protein yang berikatan dengan polisakarida (peptidoglikan). Dinding sel terletak di luar membran sel. Adanya dinding sel menyebabkan bentuk bakteri menjadi tetap. Dinding sel berfungsi untuk melindungi sel bakteri terhadap lingkungannya.

Berdasarkan struktur peptidoglikannya, bakteri dibedakan menjadi bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Bakteri gram positif memiliki peptidoglikan lebih banyak daripada gram negatif (Setiowati, 2007).

### **c. Sitoplasma**

Sitoplasma adalah cairan yang terdapat di dalam sel. Sitoplasma tersusun atas koloid yang mengandung berbagai molekul organik dan merupakan tempat berlangsungnya reaksi-reaksi metabolisme (Setiowati, 2007).



Gambar 2.3 Struktur Sel Bakteri (Setiowati, 2007)

## 2.5 *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus* merupakan genus dengan banyak spesies yang sebagian merupakan flora normal pada kulit dan membran mukosa manusia, namun beberapa spesies lain dapat menyebabkan infeksi fatal. Bakteri ini banyak terdapat pada kulit ketiak, kulit inguinal, dan perineal (Tolan, 2009).

Manusia merupakan koloni alamiah dari *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). Tiga puluh sampai dengan lima puluh persen manusia dewasa sehat terkolonisasi bakteri ini dengan 10-29% terkolonisasi secara persisten. Seseorang yang terkolonisasi oleh *S. aureus* akan terjadi peningkatan resiko untuk mendapat infeksi lainnya. Rata-rata kolonisasi *S. aureus* tinggi pada pasien-pasien dengan diabetes mellitus (DM) tipe 1, pengguna obat-obat intravena, menjalani haemodialisis rutin, menjalani pembedahan, orang yang mengalami AIDS, sirosis hati, dan defek pada kualitas dan kuantitas leukositnya (Nurfaridah, 2012).

## 2.5.1 Morfologi dan Taksonomi

### 2.5.1.1 Morfologi *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif berbentuk bulat berdiameter 0,7-1,2  $\mu\text{m}$ , tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, tidak bergerak (Kusuma, 2009).

Bakteri ini berbentuk sferis, bila berkumpul dalam susunan yang tidak teratur mungkin sisinya agak rata karena tertekan. Pada sediaan langsung yang berasal dari nanah dapat terlihat sendiri, berpasangan, berkumpul dan bahkan tersusun seperti rantai pendek. Susunan gerombolan yang tidak teratur biasanya ditemukan pada sediaan yang dibuat dari pembedahan padat, sedangkan dari pembedahan kaldu biasa ditemukan tersendiri atau tersusun sebagai rantai pendek.

*Staphylococcus* tidak bergerak dan tidak berspora. Akibat pengaruh beberapa zat kimia, misalnya penicillin, *Staphylococcus* bisa kehilangan dinding selnya yang keras dan berubah menjadi bentuk L (protoplas). Protoplas ini bisa berubah kembali menjadi *Staphylococcus* yang berdinding keras jika pengaruh bahan kimia yang bersangkutan dihilangkan dari lingkungan untuk beberapa waktu. *Staphylococcus* tidak dipengaruhi oleh garam empedu dan optochin.

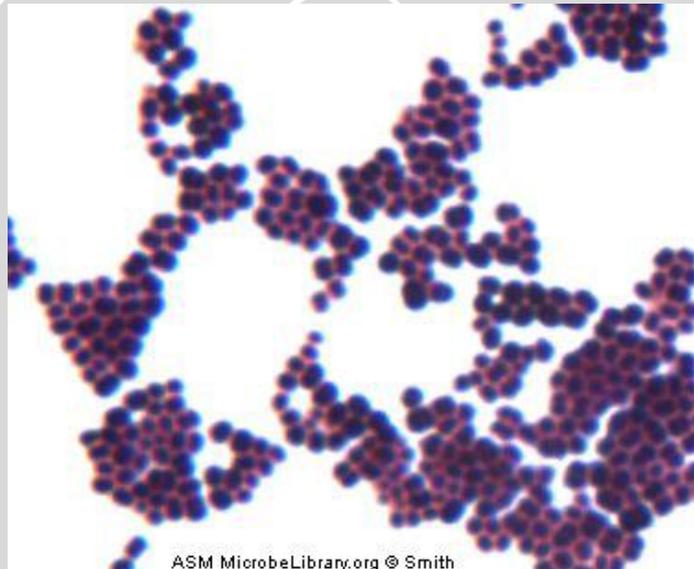
- Sifat biakan *Staphylococcus* :

*Staphylococcus* mudah tumbuh pada kebanyakan pembedahan bakteri pada keadaan aerobik atau microaerofilik. Bakteri ini tumbuh paling cepat pada suhu 37 °C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25 °C). Pada lempeng agar koloni *Staphylococcus* terbentuk bulat, licin, cembung, dan mengkilat. Koloni *Staphylococcus* berwarna abu-abu sampai

kuning tua keemasan. Pigmen dari *Staphylococcus* tidak terbentuk pada keadaan anaerob atau bila tumbuh pada medium cair (Syahrurachman dkk., 1994).

- Sifat pertanaman :

*Staphylococcus aureus* menghasilkan katalase, yang membedakannya dengan *Streptococcus*. Bakteri ini meragikan banyak karbohidrat dengan lambat, menghasilkan asam laktat, tetapi tidak menghasilkan gas (Syahrurachman dkk., 1994).



**Gambar 2.4** *Staphylococcus Aureus* Dengan Pewarnaan Gram Tampak Bergerombol Seperti Buah Anggur (Smith, 2005)

#### 2.5.1.2 Taksonomi *Staphylococcus aureus*

Klasifikasi *Staphylococcus aureus* sebagai berikut (Jawetz et al,

2001) :

Domain : Bacteria

Kingdom	: Eubacteria
Phylum	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Family	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Species	: <i>Staphylococcus aureus</i>

### 2.5.2 Struktur Antigen

*Staphylococcus aureus* mengandung Ag-karbohidrat (AG-KH) dan Ag-protein. Pada galur yang patogen ditemukan Ag-KH tipe A. Apabila Ag-KH tipe A disuntikkan secara intradermal pada penderita yang terinfeksi *Staphylococcus* akan memberikan reaksi hipersensitif tipe segera (*immediate type*) dalam 20-30 menit berupa wheal dan eritema. Sebagian besar bakteri *Staphylococcus aureus* pada dinding selnya mengandung suatu komponen yang disebut protein A. protein A ini memiliki berat molekul sekitar 13.000 Da berikatan dengan peptidoglikan secara kovalen. Protein A dapat dikeluarkan ke dalam medium dan juga dapat berikatan dengan fragmen Fc dari immunoglobulin. Berdasarkan sifat ini, *Staphylococcus aureus* dapat dipakai untuk membantu identifikasi, karena fragmen Fab yang bebas dapat berikatan dengan antigen yang spesifik (Dzen *et al.*, 2003).

### 2.5.3 Perbenihan

Pembiakan *S. aureus* diperlukan suhu optimal antara 28-38°C atau sekitar 35°C. Apabila bakteri tersebut diisolasi dari penderita, suhu optimal yang

diperlukan adalah 37°C pH optimal untuk pertanaman *Staphylococcus aureus* adalah 7,4. Pada umumnya *S. aureus* dapat tumbuh pada medium-medium yang biasa dipakai di laboratorium bakteriologi, yaitu:

- Nutrient Agar Plate (NAP)

Medium tersebut penting untuk mengetahui adanya pembentukan pigmen dan *Staphylococcus 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.



**Gambar 2.5 Koloni *Staphylococcus aureus* Pada Media NAP (Rao, 2011)**

- Blood Agar Plate (BAP)

Medium tersebut dipakai secara rutin. Koloninya akan tampak lebih besar dan pada galur yang ganas biasanya memberikan zona hemolisa yang jernih disekitar koloni yang mirip dengan *Streptococcus  $\beta$ -hemolyticus* (Dzen *et al.*, 2003).

#### 2.5.4 Daya Tahan

*Staphylococcus aureus* paling tahan terhadap bahan-bahan kimia dibandingkan bakteri yang tidak membentuk spora lainnya. Dalam suhu kamar pada agar miring atau keadaan beku, bakteri tersebut tahan hidup sampai beberapa bulan, sedangkan dalam keadaan kering pada pus dapat hidup 14-16 minggu, relatif tahan terhadap pemanasan 60 °C selama 30 menit. Beberapa galur *Staphylococcus 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 *S. aureus* yang resisten terhadap metisilin yang disebut methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). Galur ini sering menimbulkan masalah di klinik karena sifatnya yang resisten terhadap berbagai antibiotika golongan  $\beta$ -lactam, tetapi biasanya masih peka terhadap vankomisin atau golongan aminoglikosida (Dzen *et al.*, 2003).

#### 2.5.5 Metabolit Bakterial

*Staphylococcus aureus* menghasilkan bahan metabolit. Metabolit tersebut dikelompokkan dalam 2 kelompok berdasarkan sifat toksisitasnya yaitu metabolit non toksin dan metabolit toksin:

- Metabolit non toksin (Dzen *et al.*, 2003)
  - a. Antigen permukaan (materi kapsul) berfungsi untuk :
    - Mencegah fagositosis
    - Mencegah reaksi koagulase
    - Mencegah melekatnya bakteriofag
  - b. Koagulase

Bersifat *clotting agent*, proteolitik dan esterolitik. Terdapat dua bentuk koagulasi :

- *Free* koagulasi
- *Bound* koagulasi (*clumping* faktor)

Tes koagulasi penting untuk menentukan patogenesitas *Staphylococcus*. Pada umumnya *Staphylococcus aureus* memberikan tes koagulasi yang positif.

c. Hialuronidase

Dengan menghasilkan hialuronidase maka bakteri bersifat invasif, tapi sifat ini terjadi pada awal fase dari infeksi dan cepat dinetralkan pada reaksi peradangan.

d. Stafilokinase (fibrinolisin)

Enzim ini bekerja sebagai aktivator enzim protease dalam plasma untuk menghasilkan *lytic agent*. Enzim ini bersifat antigenik dan tidak tahan panas (*heat labile*).

e. Protease

Enzim ini bersifat proteolitik dan dapat menyebabkan nekrosis pada jaringan yang diinfeksi, termasuk jaringan tulang.

f. Lipase

Enzim ini bersifat antigenik. Pada inokulasi *Staphylococcus* koagulasi positif galur tertentu pada BAP darah manusia, terlihat pada permukaan koloni terdapat bercak-bercak lemak yang tersusun dari asam oktadekanoat. Ini terjadi karena lipase memutuskan ikatan asam ini dengan lipid.

g. Fosfatase

Berhubungan erat dengan patogenesitas dan galur koagulasi positif pada umumnya menghasilkan lebih banyak fosfatase daripada galur koagulasi negatif.

h. DNase

Enzim ini tahan pemanasan (*heat resistant*) dan diproduksi oleh 90-96% galur *Staphylococcus* koagulasi positif, sehingga dapat juga dipakai untuk menentukan spesies dari *Staphylococcus*.

- Metabolit Toksin (Virella,2000).

a. Toksin  $\alpha$

Merupakan jenis toksin yang paling potensial dari *Staphylococcus aureus*. Platelet dan monosit pada manusia bersifat sensitif terhadap toksin ini, dimana setelah berikatan akan terjadi reaksi sekunder yang menyebabkan pelepasan sitokin dan menghasilkan mediator inflamatori. Proses ini menimbulkan gejala syok septik.

b. Toksin  $\beta$

Merupakan *sphingomyelinase* yang merusak membran lipid. Sebagian besar penderita yang terinfeksi *Staphylococcus aureus* tidak menunjukkan adanya toksin ini.

c. Toksin  $\delta$

Merupakan toksin peptide dengan ukuran yang sangat kecil yang dihasilkan oleh sebagian besar galur *Staphylococcus aureus*. Toksin ini juga dihasilkan oleh *Staphylococcus epidermidis*.

d. Toksin  $\gamma$  dan *Leukocidin*

Toksin  $\gamma$  (*leukotoxin*) dan *leukocidin* merupakan dua komponen toksin protein yang merusak membran sel. *Leukotoxin* bersifat hemolitik sedangkan *leukocidin* bersifat non hemolitik. Hanya 2% dari semua isolate *Staphylococcus aureus* menunjukkan adanya *leukocidin*, dimana hampir 90% diantaranya merupakan lesi dermonekrotik. Hal ini menunjukkan bahwa *leukocidin* merupakan faktor penting pada terjadinya infeksi kulit nekrotik.

e. Toksin Eksfoliatif

Toksin ini menyebabkan *scalded skin syndrome* pada anak-anak. Mempunyai aktivitas esterase spesifik, tetapi mekanismenya dalam menyebabkan *epidermal splitting* masih belum jelas. Ada beberapa bukti yang menunjukkan toksin ini mempunyai aktivitas protease, dimana yang menjadi target adalah protein spesifik yang berperan untuk memelihara integritas dari epidermis.

f. Toksin yang berhubungan dengan *Toxic shock Syndrome* (TSS)

*Toxic shock Syndrome* (TSS) ditandai dengan gejala-gejala diantaranya demam, *skin rash*, tekanan darah rendah dan kegagalan organ.

g. Enterotoksin

*Staphylococcus aureus* menghasilkan 5 jenis enterotoksin (A-E). merupakan penyebab ke-2 terbanyak keracunan makanan di Amerika Serikat. Gejalanya antara lain *nausea*, *vomiting*, kram abdomen dan diare.

### 2.5.6 Patogenitas

Sebagian bakteri *Staphylococcus* merupakan flora normal pada kulit, saluran pernafasan, dan saluran pencernaan makanan pada manusia. Bakteri ini juga ditemukan di udara dan lingkungan sekitar *S. aureus* yang patogen bersifat invasif, menyebabkan hemolisis, membentuk koagulasi, dan mampu meragikan manitol (Warsa, 1994).

Infeksi oleh *S. aureus* ditandai dengan kerusakan jaringan yang disertai abses bernanah. Beberapa penyakit infeksi yang disebabkan oleh *S. aureus* adalah bisul, jerawat, impetigo, dan infeksi luka. Infeksi yang lebih berat diantaranya pneumonia, mastitis, plebitis, meningitis, infeksi saluran kemih, osteomielitis, dan endokarditis. *Staphylococcus aureus* juga merupakan penyebab utama infeksi nosokomial, keracunan makanan, dan sindroma syok toksik (Ryan, *et al.*, 1994; Warsa, 1994).

Bisul atau abses setempat, seperti jerawat dan borok merupakan infeksi kulit di daerah folikel rambut, kelenjar sebacea, atau kelenjar keringat. Mula-mula terjadi nekrosis jaringan setempat, lalu terjadi koagulasi fibrin di sekitar lesi dan

pembuluh getah bening, sehingga terbentuk dinding yang membatasi proses nekrosis. Infeksi dapat menyebar ke bagian tubuh lain melalui pembuluh getah bening dan pembuluh darah, sehingga terjadi peradangan pada vena, trombosis, bahkan bakterimia. Bakterimia dapat menyebabkan terjadinya endokarditis, osteomielitis akut hematogen, meningitis atau infeksi paru-paru (Warsa, 1994; Jawetz *et al.*, 2005).

Kontaminasi langsung *S. aureus* pada luka terbuka (seperti luka pasca-bedah) atau infeksi setelah trauma (seperti osteomielitis kronis setelah fraktur terbuka) dan meningitis setelah fraktur tengkorak, merupakan penyebab infeksi nosokomial (Jawetz *et al.*, 2005).

Keracunan makanan dapat disebabkan kontaminasi enterotoksin dari *S. aureus*. Waktu onset dari gejala keracunan biasanya cepat dan akut, tergantung pada daya tahan tubuh dan banyaknya toksin yang termakan. Jumlah toksin yang dapat menyebabkan keracunan adalah 1,0 µg/gr makanan. Gejala keracunan ditandai oleh rasa mual, muntah-muntah, dan diare yang hebat tanpa disertai demam (Ryan, *et al.*, 1994; Jawetz *et al.*, 2005).

*Toxic Shock Syndrome* (TSS) pada infeksi *S. aureus* timbul secara tiba-tiba dengan gejala demam tinggi, muntah, diare, mialgia, ruam, dan hipotensi, dengan gagal jantung dan ginjal pada kasus yang berat. *Toxic Shock Syndrome* sering terjadi dalam lima hari permulaan haid pada wanita muda yang menggunakan tampon, atau pada anak-anak dan pria dengan luka yang terinfeksi staphylococcus. *Staphylococcus aureus* dapat diisolasi dari vagina, tampon, luka atau infeksi lokal lainnya, tetapi praktis tidak ditemukan dalam aliran darah (Jawetz *et al.*, 2005).

## 2.6 **Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)**

### 2.6.1 **Definisi**

Menurut CDC (Centers for Disease Kontrol), Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) adalah strain bakteri *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap beberapa jenis antibiotik golongan beta laktam seperti methicillin, ocacillin, penicillin, dan amoxicillin. Diperkirakan sekitar 2-3% populasi umum telah terkolonisasi oleh MRSA. Orang yang terkolonisasi akan mudah untuk terjadi infeksi, walaupun sebagian besar akan tetap asimtomatik.

### 2.6.2 **Mekanisme Resistensi Antibiotik**

Resistensi yang terjadi pada *Staphylococcus aureus* disebabkan karena adanya hiperproduksi dari enzim betalaktamase sehingga galur yang bakteri yang resisten ini disebut dengan *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).

*Staphylococcus aureus* memiliki berbagai mekanisme resistensi. Beberapa galur *Staphylococcus aureus* menghasilkan enzim penisilinase sehingga resisten terhadap golongan obat penisilin (Dzen *et al.*, 2003).

Secara genetik gen penghasil enzim betalaktamase diproduksi oleh gen yang berlokasi di kromosom dan plasmid. Pada *Staphylococcus aureus* setidaknya ada tiga gen yang terlibat dalam pengaturan produksi enzim betalaktamase yaitu *Bla I* gen yang berfungsi sebagai regulator, *bla RI* gen yang bertanggung jawab pada penghantaran sinyal dan *Bla R2* yang mengatur untuk meningkatkan fungsi reseptor (Willima, 1997).

Hal yang menyebabkan terjadinya resistensi karena adanya produksi yang berlebih dari enzim betalaktamase. Beberapa peneliti menyatakan bahwa

produksi yang berlebih ini disebabkan adanya gangguan pada gen yang meregulasi produksi enzim betalaktamase. Salah satunya adalah penelitian menyatakan bahwa terdapat Gly- 124 berubah menjadi Asp menyebabkan perubahan fungsi *bla R1* sebagai penghantar sinyal (Tomayko *et al.*, 1997). Hiperproduksi dapat pula terjadi karena adanya gangguan pada *bla I* yang merubah sifat induksi menjadi konstitutif pada produksi enzim beralaktamase. Hal ini karena hilangnya 22-23 asam amino (Lewis *et al.*, 2000).

*Penicillin-Binding Protein* (PBP) merupakan enzim membran sel yang mempunyai peran penting dalam sintesa dinding sel serta merupakan target untuk semua antibiotik betalaktam. Adanya resistensi terhadap ampisilin-sulbaktam, diduga karena adanya delesi *bla I* yang berfusi dengan gen pembentuk PBP2 hingga menjadi PBP2a yang disandi oleh gen *mecA* yang tidak dikenali oleh antibiotik betalaktam (Lees *et al.*, 2001). PBP2a menurunkan afinitas ikatan antibiotik betalaktam sehingga menimbulkan resistensi tidak hanya terhadap methicillin tetapi pada semua antibiotik golongan betalaktam, termasuk penicillin, cephalosporin, cephameycin dan carbanepem (Simor *et al.*, 2001: Clin, 2009).

### 2.6.3 Infeksi MRSA

#### 2.6.3.1 Healthcare-associated MRSA (HA-MRSA)

Healthcare-associated MRSA (HA-MRSA) didefinisikan sebagai infeksi MRSA yang terdapat pada individu yang pernah dirawat di rumah sakit atau

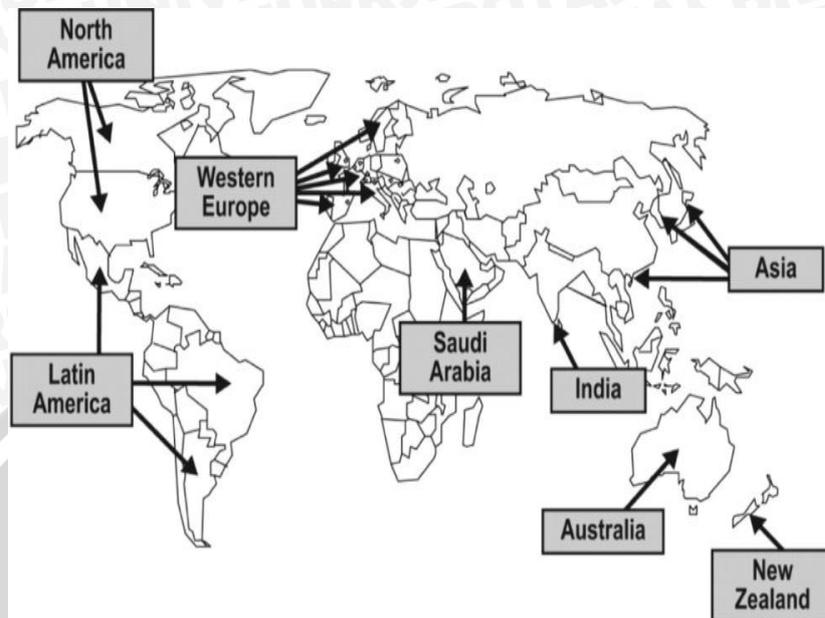
menjalani tindakan operasi dalam 1 tahun terakhir, memiliki alat bantu medis permanen dalam tubuhnya, bertempat tinggal di fasilitas perawatan jangka panjang. Healthcare-associated MRSA memiliki resistensi yang sangat tinggi dan merupakan penyakit nosokomial yang penting (Borloug *et al.*, 2005).

#### 2.6.3.2 Community-associated MRSA (CA-MRSA)

Community-associated MRSA (CA-MRSA) adalah bakteri MRSA yang didapatkan pada individu yang sebelumnya tidak memiliki faktor resiko yang berhubungan dengan MRSA (Anderson *et al.*, 2007). Secara genetik dan fenotipe strain HA-MRSA berbeda dengan strain CA-MRSA. CA-MRSA memiliki komposisi yang lebih kecil, mengalami kejadian virulensi yang lebih tinggi, dan jarang terjadi *multidrug resistant* pada antimikroba non  $\beta$ -laktam (Anderson *et al.*, 2007; Vavra & Daum, 2007).

#### 2.6.4 Epidemiologi MRSA

*Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) adalah penyebab utama infeksi nosokomial maupun infeksi pada komunitas. Tiga puluh sampai dengan lima puluh persen manusia dewasa sehat terkolonisasi bakteri ini dengan 10-29% terkolonisasi secara persisten. Seseorang yang terkolonisasi oleh *S. aureus* akan terjadi peningkatan resiko untuk mendapat infeksi lainnya. Jumlah infeksi *Staphylococcus aureus* baik yang *community-acquired* dan *hospital-acquired* telah meningkat selama 20 tahun ini. Kejadian ini sejalan dengan makin banyaknya penggunaan alat-alat intravaskular (Sampathkumar, 2007).



**Gambar 2.6 Wabah Global Community-associated MRSA (CA-MRSA) Tahun 1997 - 2000 (Boucher and Corey, 2008)**

Infeksi *S. aureus* dilaporkan semakin berkembang di seluruh dunia (Laupland *et al.*, 2003; Grundman *et al.*, 2006; Lescure *et al.*, 2006:). Dalam analisis terbaru dari pasien rawat inap AS, hampir 400.000 penerimaan rawat inap untuk infeksi *S. aureus* per tahun dilaporkan pada tahun 2003 (Noskin *et al.*, 2007). Pengobatan infeksi ini telah menjadi lebih sulit karena adanya peningkatan resistensi, sehingga meningkatkan morbiditas dan mortalitas. Infeksi MRSA membunuh ~ 19.000 pasien dirawat di rumah sakit Amerika setiap tahunnya, ini mirip dengan jumlah kematian akibat AIDS, tuberkulosis, dan hepatitis virus (Boucher and Corey, 2008).

### 2.6.5 Manifestasi Klinis

*Staphylococcus aureus* menyebabkan bermacam-macam spektrum penyakit yang berhubungan dengan morbiditas dan mortalitas. Bentuk infeksi *Staphylococcus aureus* meliputi infeksi kutaneus, seperti furunkel, karbunkel, selulitis, impetigo; infeksi yang berbahaya yang mengancam jiwa, seperti osteomyelitis, endokarditis dan bakteremia dengan komplikasi; dan penyakit yang disebabkan karena toksinnya, seperti *scalded skin syndrome*, *toxic shock syndrome*, dan keracunan makanan. Osteomyelitis yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* sering menjadi kronik dan dapat kambuh setelah beberapa tahun. Hal ini berkaitan dengan keberadaan varian small koloni dari *Staphylococcus aureus* yang dapat hidup dorman di intraselular dan tidak terdeteksi oleh sistem imun (Jones, 2005).

#### 2.6.6 Identifikasi MRSA

*Gold standard* untuk mengidentifikasi galur MRSA adalah dengan mengisolasi ada tidaknya gen *MecA* menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Namun cara ini jarang tersedia di rumah sakit. Cara yang lebih mungkin untuk dilakukan di rumah sakit adalah dengan menggunakan Oxacillin Test Salt Plate yang berisi 6µg/ml oxacillin + 4% NaCl, Microdilution Broth Test dengan 2% NaCl Agar Dilution dengan 2% NaCl. Test ini harus diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam (Jawetz, 2005).

Cara lain yang dapat digunakan adalah dengan menggunakan medium Chrom agar MRSA, Chrom agar *Staphylococcus aureus* dan cefoxitin disk. Chrom agar MRSA digunakan untuk mengindikasikan MRSA secara langsung, namun karena sensitifitasnya yang rendah maka bakteri dengan Chrom agar MRSA positif (koloni berwarna merah muda) dinyatakan sebagai *Staphylococcus*

*aureus* bukan MRSA. Untuk identifikasi lebih lanjut digunakan cefoxitin disk. Cefoxitin akan menstimulasi gen *MecA* untuk berekspresi sehingga bakteri yang resisten terhadap cefoxitin dinyatakan positif MRSA. Sedangkan Chrom agar *Staphylococcus aureus* digunakan untuk mengidentifikasi MSSA (*Meticillin-Sensitif Staphylococcus aureus*) yang menunjukkan koloni warna lembayung/mauve (Jawetz, 2005).

## 2.7 Uji Kepekaan Bakteri terhadap Antimikroba

### 2.7.1 Metode Dilusi

Untuk menentukan aktivitas antimikroba maka dilakukan uji kepekaan terhadap antimikroba tersebut.

### 2.7.2 Dilusi Tabung

Metode ini memiliki prinsip cara kerja yaitu, mengisi satu seri tabung reaksi dengan media cair dan sejumlah tertentu sel mikroba yang diuji. Lalu masing-masing tabung diisi obat yang diencerkan secara serial. Kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam, setelah itu diamati kekeruhannya. Konsentrasi terendah obat pada tabung ini menampilkan kejernihan pada hasil biakan (tidak ada pertanaman mikroba) adalah KHM (Kadar Hambat Minimum). Selanjutnya biakan dari semua tabung yang jernih diinokulasi pada biakan media agar padat, diinkubasi, keesokannya diamati ada tidaknya koloni yang tumbuh. Konsentrasi terendah obat pada biakan yang ditunjukkan dengan ketiadaan pertanaman koloni mikroba adalah KBM (Kadar Bunuh Minimum). Kadar Bunuh Minimum dapat diartikan sebagai konsentrasi

terendah dari biakan padat yang menunjukkan pertanaman koloni  $\leq 0,1\%$

*Original Inoculums* (Dzen et al, 2003).

### 2.7.3 Dilusi Agar

Prinsip pengujian dengan metode agar *Plate Dilution Test* atau cara penipisan lempeng agar pada dasarnya sama dengan metode *Dilution Broth*, tetapi pada metode ini digunakan medium padat.

Pengamatan pada metode ini dilakukan dengan melihat adanya pertanaman koloni kuman uji. Kekurangan dari metode ini adalah hanya dapat mengetahui daya bakteristatik, sedangkan untuk daya bakterisidal tidak dapat ditentukan (Shofyan,2010).

### 2.7.4 Metode Difusi Cakram (*Disk Diffusion test*)

Pada uji in vitro ini menggunakan cakram kertas yang mengandung antimikroba tertentu dengan konsentrasi tertentu juga. Metode ini memiliki prinsip cara kerja yaitu antimikroba dijenuhkan ke dalam cakram kertas. Kemudian cakram kertas tersebut diletakkan pada medium perbenihan agar pada yang telah ditanami mikroba yang akan diuji. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam kemudian diamati zona jernih disekitar cakram kertas yang menunjukkan tidak adanya pertanaman mikroba (Dzen et al, 2003). Hasil uji kepekaan ini dapat dievaluasi dengan menggunakan 2 cara , yaitu:

#### a. Cara Kirby Bauer

Dengan membandingkan diameter dari area jernih (zona hambatan) disekitar cakram dengan menggunakan tabel standar yang

dibuat oleh NCCLS (National Committee Centre for Laboratory Standard).

Sehingga dapat diketahui apakah bakteri uji tersebut masuk dalam kriteria sensitif, sensitif sedang atau resisten (Dzen *et al*, 2003).

b. Cara *Joan-Stokes*

cara ini dilakukan dengan cara 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 *et al*, 2003).

