

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### A. *Staphylococcus aureus*

Domain : Bacteria

Filum : Firmicutes

Kelas : Bacilli

Ordo : Bacillales

Famili : Staphylococcaceae

Genus : Staphylococcus

Spesies : *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* adalah bakteri gram positif yang bersifat anaerob fakultatif, tidak menghasilkan spora dan tidak motil, umumnya tumbuh berpasangan maupun berkelompok, dengan diameter sekitar 0,9-1,3  $\mu\text{m}$ . *Staphylococcus aureus* merupakan mikroflora normal manusia. Bakteri ini biasanya terdapat pada saluran pernapasan atas dan kulit. Keberadaan *Staphylococcus aureus* pada saluran pernapasan atas dan kulit pada individu jarang menyebabkan penyakit, individu sehat biasanya hanya berperan sebagai karier. Infeksi serius akan terjadi ketika resistensi inang melemah karena adanya

perubahan hormon, adanya penyakit, luka, atau penggunaan steroid atau obat lain yang mempengaruhi imunitas sehingga terjadi pelemahan inang (Jawetz dkk, 2005; Willey, 2008).

Infeksi *Staphylococcus aureus* diasosiasikan dengan beberapa kondisi patologi, diantaranya bisul, jerawat, pneumonia, meningitis, dan arthritis. *Staphylococcus aureus* juga menghasilkan katalase, yaitu enzim yang mengkonversi  $H_2O_2$  menjadi  $H_2O$  dan  $O_2$ , dan koagulase, enzim yang menyebabkan fibrin berkoagulasi dan menggumpal. Koagulase diasosiasikan dengan patogenitas karena penggumpalan fibrin yang disebabkan oleh enzim ini terakumulasi di sekitar bakteri sehingga agen pelindung inang kesulitan mencapai bakteri dan fagositosis terhambat (Jawetz dkk, 2005; Willey dkk, 2008).

## **B. Antibiotik Penisilin**

Penisilin adalah sebuah kelompok antibiotika beta laktam yang digunakan dalam penyembuhan penyakit infeksi karena bakteri, biasanya berjenis Gram positif. Penisilin bekerja dengan menghambat pembentukan dinding sel bakteri, dengan menghambat pembentukan peptidoglikan pada dinding sel bakteri. Cara kerja ini juga berarti bahwa penisilin hanya akan aktif bekerja pada satuan patogen yang sedang tumbuh dengan aktif (Mycek, 2003; Katzung, 2004).

Lingkup aktivitas penisilin yang sempit menjadikan para peneliti mencari turunan penisilin yang dapat mengobati infeksi yang lebih banyak. Penisilin terbagi dalam beberapa kelompok yaitu :

1. Penisilin yang rusak oleh enzim penisilinase, tetapi spektrum anti kuman terhadap Gram positif paling kuat. Termasuk di sini adalah Penisilin G (benzil penisilin) dan derivatnya yakni penisilin prokain dan penisilin benzatin, dan penisilin V (fenoksimetil penisilin). Penisilin G dan penisilin prokain rusak oleh asam lambung sehingga tidak bisa diberikan secara oral, sedangkan penisilin V dapat diberikan secara oral. Spektrum antimikroba di mana penisilin golongan ini masih merupakan pilihan utama meliputi infeksi-infeksi *streptokokus beta hemolitikus* grup A, *pneumokokus*, *meningokokus*, *gonokokus*, *Streptococcus viridans*, *Staphylococcus pyoneges* (yang tidak memproduksi penisilinase), *Bacillus anthracis*, *Clostridia*, *Corynebacterium diphteriae*, *Treponema pallidum*, *Leptospirae* dan *Actinomycetes sp.* (Lemke dkk, 2007; Mycek, 2003).
2. Penisilin yang tidak rusak oleh enzim penisilinase, termasuk di sini adalah kloksasilin, flukloksasilin, dikloksasilin, oksasilin, nafsilin dan metisilin, sehingga hanya digunakan untuk kuman-kuman yang memproduksi enzim penisilinase (Lemke dkk, 2007; Mycek, 2003).
3. Penisilin dengan spektrum luas terhadap kuman Gram positif dan Gram negatif, tetapi rusak oleh enzim penisilinase. Termasuk di sini adalah

ampisilin dan amoksisilin. Kombinasi obat ini dengan bahan-bahan penghambat enzim penisilinase, seperti asam klavulanat atau sulbaktam, dapat memperluas spektrum terhadap kuman-kuman penghasil enzim penisilinase (Lemke dkk, 2007; Mycek, 2003).

4. Penisilin antipseudomonas (antipseudomonal penisilin). Penisilin ini termasuk karbenisilin, tikarsilin, meklosilin dan piperasilin diindikasikan khusus untuk kuman-kuman *Pseudomonas aeruginosa* (Lemke dkk, 2007; Mycek, 2003).

### **C. Resistensi Antibiotik**

Bakteri dikatakan resisten bila pertumbuhannya tidak dapat dihambat oleh antibiotika pada kadar maksimum yang dapat ditolerir oleh pejamu. Namun demikian, spesies mikroba yang secara normal memberikan respons terhadap obat tertentu mungkin menyebabkan berkembangnya strain yang resisten. Banyak organisme telah diadaptasi melalui mutasi spontan atau membutuhkan resistensi dan seleksi, dan berkembang menjadi strain yang lebih ganas serta kebanyakan dari organisme ini resisten terhadap banyak antibiotik (Mycek, 2003).

Timbulnya resistensi mikroba terhadap obat antimikroba pada dasarnya merupakan usaha mikroba supaya dapat bertahan hidup. Ada beberapa

mekanisme yang menyebabkan suatu populasi bakteri menjadi resisten terhadap obat antimikroba, yakni :

1. Mikroba memproduksi enzim yang merusak obat.
2. Mikroba mengubah struktur target terhadap obat.
3. Mikroba mengembangkan jalan metabolisme baru.
4. Mikroba mengembangkan enzim yang tetap berfungsi untuk metabolismenya, tetapi tidak dipengaruhi oleh obat.
5. Mikroba memperbesar produksi bahan metabolit..

(Jawetz dkk, 2005)

Asal usul terjadinya resistensi bakteri terhadap obat dapat bersifat:

1. Non Genetik

Hampir semua antibiotika bekerja dengan baik pada masa pembelahan sel bakteri, sehingga bakteri yang tidak aktif membelah pada umumnya resisten terhadap obat. Misalnya *Mycobacterium tuberculosis* yang berada di dalam jaringan tidak akan membelah. Kemampuan bakteri menghilangkan struktur target dari antibiotika, contohnya adalah bakteri yang menghilangkan struktur dinding sel akan resisten terhadap antibiotika yang bekerja pada dinding sel. Bakteri yang menginfeksi di bagian tubuh yang tidak dapat dicapai oleh antibiotika akan resisten terhadap antibiotika. Sebagai contoh adalah resistensi *Salmonella typhi* oleh karena bakteri berada intraseluler (Jawetz dkk, 2005).

## 2. Genetik

### A. Resistensi kromosomal

Resistensi kromosomal terjadi karena mutasi spontan akibat mekanisme seleksi terhadap supresi oleh obat. Misalnya hilangnya reseptor PBPs (Penicillin Binding Proteins) terhadap antibiotika  $\beta$  lactam (Jawetz dkk, 2005).

### B. Resistensi ekstra kromosomal

Bakteri mengandung materi kinetik ekstra kromosomal yang disebut plasmid (Jawetz dkk, 2005).

### **D. *Methisilin resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)**

*Methisilin resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) bertanggung jawab atas sulitnya terapi untuk infeksi. Disebut juga *multidrug resistant Staphylococcus aureus* dan *oxasilin resistant Staphylococcus aureus* (ORSA). MRSA adalah semua strain *Staphylococcus aureus* yang telah berkembang untuk menjadi resisten terhadap antibiotik beta laktam seperti penisilin dan sefalosporin (Yuwono, 2009).

Resistensi bakteri umumnya berdasarkan adanya gen resisten pada bakteri yang dapat menyebar antar bakteri sehingga menyebabkan antibiotik tidak dapat bekerja kembali. Gen *mecA* adalah gen resisten yang menghambat kerja dari antibiotik beta laktam merusak dinding sel bakteri (Yuwono, 2009).

*Staphylococcal cassette chromosome mec* (SCC*mec*) adalah genom dimana terdapat gen *mecA*, hal ini lah yang menyebabkan tersebarnya resisten gen antar bakteri yang terjadi dengan transfer gen horizontal yang menyebarkan MRSA. Gen *mecA* bertanggung jawab atas resisten metisilin dan antibiotik betalaktam lainnya, gen ini menghasilkan penisilin binding protein yang berbeda dengan biasanya sehingga antibiotik beta laktam tidak dapat berikatan (Yuwono, 2009).

#### **E. Uji Identifikasi**

Uji identifikasi dilakukan dengan beberapa perlakuan yaitu diantaranya pewarnaan gram dan uji biokimia (uji fermentasi karbohidrat, uji *Methyl red*, uji *Vogel-Proskauer*, uji urease, uji hidrogen sulfida (H<sub>2</sub>S), uji indol, uji motilitas, uji sitrat, dll.). Prosedur pewarnaan gram sebagai berikut :

- a. Membersihkan kaca objek dengan alkohol dan dilewatkan beberapa kali pada nyala api bunsen
- b. Membuat olesan tipis bakteri dengan mengambil isolat bakteri dengan jarum ose secara aseptis dan diberi 1-2 tetes akuades. Kering anginkan dan melewatkannya pada nyala api bunsen
- c. Olesan tersebut ditetaskan kristal violet (Gram A = cat utama), dibiarkan selama 30 detik, kemudian dicuci pada air mengalir hingga tetesan menjadi bening, dianginkan hingga kering

- d. Diteteskan dengan larutan iodine (Gram B = larutan mordant), dibiarkan selama 30 detik, kemudian dicuci pada air mengalir hingga tetesan menjadi bening, dianginkan hingga kering
- e. Melakukan dekolorisasi dengan dibubuhi etil alkohol 95% selama 10-20 detik, segera aliri dengan air selama beberapa detik untuk menghentikan aktivitas dekolorisasi, dianginkan hingga kering
- f. Olesan bakteri ditetesi dengan safranin selama 20-30 detik, dicuci dengan air mengalir selama beberapa detik untuk menghabiskan sisa-sisa cat. Selanjutnya air dihisap dengan kertas penghisap dan kering anginkan
- g. Melakukan pengamatan dengan mikroskop dan sel-sel yang tampak (Morello, 2003; Pollack dkk, 2009).

Prosedur uji biokimia sebagai berikut :

1. Uji fermentasi karbohidrat
  - a. Inokulasi isolat murni bakteri secara tusukan ke dalam tabung berisi media yang mengandung 0,5-1 % karbohidrat (glukosa, laktosa, manitol, maltosa, dan sukrosa) dan tabung *Durham* yang dimasukkan dalam keadaan terbalik
  - b. Tabung ditutup dan diinkubasi selama 24 jam
  - c. Terjadi fermentasi jika warna berubah menjadi kuning, tabung *Durham* berfungsi menangkap gas yang terbentuk

2. Uji *Methyl red*
  - a. Inokulasi isolat murni bakteri pada media MR-VP dan diinkubasi selama 24 jam
  - b. Tambahkan 5 tetes reagen *Methyl red* ke dalam tabung
  - c. Dikocok secara hati-hati, hasil positif jika terjadi warna merah dalam waktu 30 menit
3. Uji *Vogel-Proskauer*
  - a. Inokulasi isolat murni pada media MR-VP, diinkubasi selama 24 jam
  - b. Ditambahkan 0,6 ml larutan alpha-naphtol 5 % dilanjutkan 0,2 ml KOH 40 %
  - c. Dikocok hati-hati, longgarkan tutupnya, ulangi setiap 5 menit
  - d. Positif jika terjadi warna merah setelah 30 menit
4. Uji urease
  - a. Inokulasikan media urea broth yang mengandung indikator fenol merah dengan 1 tetes kultur murni bakteri
  - b. Hasil positif terjadi perubahan warna menjadi merah setelah 24 jam
5. Uji hidrogen sulfida (H<sub>2</sub>S), Uji indol, dan Uji motilitas
  - a. Isolat murni bakteri diinokulasikan secara tusukan pada media *sulfide-indole-motility* (SIM) sedalam  $\frac{3}{4}$  bagian dari lapisan permukaan
  - b. Diinkubasikan selama 24 jam dan diamati hasilnya
  - c. H<sub>2</sub>S positif jika terbentuk endapan berwarna hitam, indol positif jika terbentuk warna merah/merah muda setelah ditambahkan reagen *Kovac's*,

sedangkan motilitas akan tampak berawan atau kabut yang menandakan pergerakan bakteri dari tusukan inokulasi

#### 6. Uji sitrat

- a. Isolat murni bakteri diinokulasikan secara goresan zig-zag menggunakan ose dan secara tusukan menggunakan jarum inokulasi pada media *Simmons citrate* agar miring, kemudian diinkubasi selama 24 jam
- b. Dilihat perubahan warna dari hijau menjadi biru jika positif (Morello dkk, 2003; Pollack dkk, 2009).

### **F. Uji Kepekaan Bakteri Terhadap Antibiotik**

Pengujian kepekaan bakteri terhadap antibiotik dilakukan dengan cara menentukan aktivitas bakteri. Hal ini sangat bermanfaat untuk menentukan terapi dan juga untuk menentukan dosis yang tepat. Terdapat beberapa cara yang di gunakan untuk menentukan aktivitas bakteri, yaitu :

#### 1. Metode dilusi

Prinsip metode ini adalah pengenceran antibiotik sehingga diperoleh beberapa konsentrasi obat yang ditambah suspensi kuman dalam media. Sedangkan pada dilusi padat, tiap konsentrasi obat dicampur dengan media agar lalu ditanami kuman dan diinkubasi. Pada metode ini yang diamati adalah ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri atau kuman atau jika mungkin, tingkat kesuburan dari pertumbuhan kuman, dengan cara menghitung jumlah koloni, cara dilusi ini dapat digunakan untuk menentukan Kadar Hambat Minimum

(KHM) atau Kadar Bunuh Minimum (KBM) (Jawetz dkk, 2005; Willey dkk, 2008).

## 2. Metode difusi

Pada metode ini yang diamati adalah diameter daerah hambatan pertumbuhan kuman karena difusinya obat ini titik awal pemberian ke daerah difusi sebanding dengan kadar obat yang diberikan. Metode ini dilakukan dengan cara menanam kuman pada media agar padat tertentu kemudian diletakkan kertas samir atau disk yang mengandung obat atau dapat juga dibuat sumuran kemudian diisi obat dan dilihat hasilnya (Jawetz dkk, 2005; Willey dkk, 2008).

Cara difusi agar, metode ini memakai media Muller Hinton agar. Cara Kirby Bauer atau disebut *filter paper disk agar diffusion method*, juga dikenal sebagai CLSI / *Clinical Laboratory Standards Institute*. Prosedurnya sebagai berikut:

- a. Diambil beberapa koloni kuman lalu disuspensikan ke dalam 0,5 ml BHI (Brain Heart Infusion) cair, diinkubasikan 4 jam pada 37<sup>0</sup> C
- b. Suspensi tersebut ditambah dengan akuades steril hingga kekeruhan tertentu sesuai dengan standard konsentrasi kuman 10<sup>8</sup> CFU (Colony Forming Unit) per ml
- c. Kapas lidi steril dicelupkan ke dalam suspensi kuman lalu ditekan-tekan pada dinding tabung hingga kapasnya tidak terlalu basah, lalu dioleskan pada permukaan media agar hingga rata

d. Lalu diletakkan kertas samir / disk yang mengandung antibiotik di atasnya, inkubasi dalam suhu  $37^{\circ}$  C selama 18-24 jam

e. Pembacaan hasil :

Jika tidak ada penghambatan maka organisme dilaporkan resisten (R). Jika terdapat zona hambatan di sekitar disk, harus diukur diameter zona hambatnya kemudian dibandingkan dengan tabel standar dan bila masih sensitif diberikan simbol *Susceptible* (S). Pada beberapa kasus tidak dapat diidentifikasi apakah antibiotika tersebut sensitif atau resisten. Untuk kasus tersebut diberi simbol (I) atau Intermediate (Morello dkk, 2003).

### 3. Uji E

Uji E dapat digunakan untuk pengujian kepekaan dalam kondisi tertentu. Sangat mudah digunakan pada bakteri *anaerob*. Sebuah cawan petri yang berisi agar dengan bakteri, diletakkan strip uji E pada permukaan secara radial dari pusat. Setiap strip mengandung gradien antibiotik dan diberi label dengan skala konsentrasi hambat minimal. Konsentrasi terendah terdapat pada tengah-tengah cawan. Setelah diinkubasi selama 24-48 jam akan muncul zona elips hambatan. KHM di tentukan dengan titik potong antara zona hambatan dengan skala nilai pada strip KHM (Willey dkk, 2008).

Tabel 1. Penilaian Diameter Zona Hambatan Beberapa Antibiotik untuk bakteri *Enterobacteriaceae* berdasarkan CLSI (*Clinical Laboratory Standards Institute*) (Volume 27 No.1, Januari 2007)

No	Disc Antibiotika	Kode	Potensi	Resistensi (mm)	Intermediate (mm)	Sensitif (mm)
1	Ampicillin	AMP	10 µg	13	14-16	17
2	Amikacin	AK	30 µg	14	15-16	17
3	Gentamycin	GN	10 µg	12	13-14	15
4	Erythromycin	E	15 µg	13	14-17	18
5	Penicillin G	P	10 µg	20	21-28	29
6	Ciprofloxacin	CIP	5 µg	15	16-20	21
7	Sulfametoxazol/ Trimetoprim	SXT	25 µg	10	10-15	16
8	Ceftriaxone	CRO	30 µg	13	14-20	21
9	Cefotaxime	CTX	30 µg	14	15-22	23
10	Ceftazidime	CAZ	30 µg	14	15-17	18

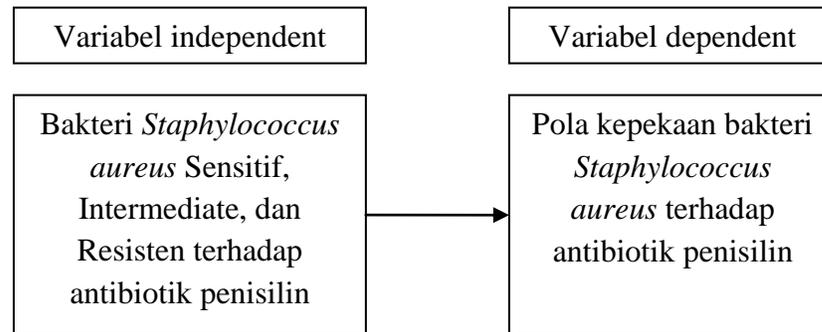
## G. Kerangka Teori

Infeksi adalah invasi dan berkembang biaknya mikroorganisme patogen (bakteri, parasit, fungi, virus, prion, atau viroid) pada bagian tubuh dan jaringan yang menyebabkan kerusakan jaringan. Kemudian berkembang menjadi penyakit dikarenakan berbagai mekanisme seperti metabolisme kompetitif, toksin, replikasi intra seluler, atau reaksi antigen-antibodi (Dorland, 2002; Willey dkk, 2008).

Antibiotik telah lama digunakan untuk mengobati penyakit menular dan akhir-akhir ini telah cenderung berlebihan dan tidak rasional digunakan. Kecenderungan ini telah meningkatkan prevalensi antibiotik yang sebelumnya sensitif dalam melawan bakteri. Pemilihan obat antibiotik secara rasional



## H. Kerangka Konsep



## I. Hipotesis

Berdasarkan kerangka teori diatas dapat diajukan hipotesis bahwa *Staphylococcus aureus* memiliki tingkat resistensi yang cenderung meningkat terhadap antibiotik penisilin dari tahun ke tahun.