

BAB II

LANDASAN TEORI

A. Tinjauan Pustaka

1. *Staphylococcus aureus*

1.1 Bakteri *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan salah satu bakteri penyebab infeksi tersering di dunia. Tingkat keparahan infeksi pun bervariasi, mulai dari infeksi minor di kulit (furunkulosis dan impetigo), infeksi traktus urinarius, infeksi traktus respiratorius, sampai infeksi mata dan *Central Nervous System* (CNS) (Septiani *et al.*, 2017).

1.2 Taksonomi *Staphylococcus aureus*

Klasifikasi ilmiah bakteri genus *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut (Soedarto, 2015) :

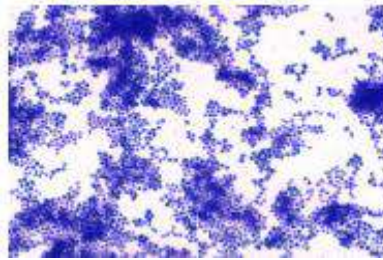
Domain	: <i>Bacteria</i>
Kingdom	: <i>Eubacteria</i>
Phylum	: <i>Firmicutes</i>
Class	: <i>Bacilli</i>
Ordo	: <i>Bacillales</i>
Family	: <i>Staphylococcaceae</i>
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Species	: <i>Staphylococcus aureus</i>

1.3 Morfologi *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus adalah bakteri gram positif (Gram +) berbentuk bulat. *Staphylococcus* berdiameter 0,8 - 1,0 mikron, tidak bergerak, dan tidak berspora. Koloni mikroskopik *Staphylococcus* berbentuk menyerupai buah anggur. Uji enzim katalase bersifat katalase positif. *Staphylococcus aureus* membentuk koloni besar berwarna agak kuning dalam media yang baik. *Staphylococcus aureus* biasanya bersifat hemolitik pada agar darah. *Staphylococcus* bersifat anaerob fakultatif dan dapat tumbuh karena melakukan respirasi aerob atau fermentasi dengan asam laktat. *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh pada suhu 15-45 °C (Radji, 2010).

Genus *Staphylococcus* mempunyai paling sedikit 45 spesies. Empat spesies dengan kepentingan klinis yang paling sering dijumpai adalah *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus lugdunensis*, dan *Staphylococcus saprophyticus*. *Staphylococcus aureus* bersifat koagulase positif, yang membedakan dari spesies lain. *Staphylococcus aureus* merupakan patogen utama untuk manusia. Hampir setiap orang akan mengalami beberapa jenis infeksi *Staphylococcus aureus* selama hidupnya, dengan keparahan yang beragam, dari keracunan makanan atau infeksi kulit minor sampai infeksi berat yang mengancam jiwa (Jawetz *et al.*, 2017).

Koloni *Staphylococcus aureus* berwarna kuning karena adanya pigmen *staphyloxanthin* yang bersifat sebagai faktor virulensi. Pada *Mannitol Salt Agar* (MSA) fermentasi mannitol oleh *Staphylococcus aureus* menghasilkan produk sampingan bersifat asam yang menurunkan pH medium yang menyebabkan indikator pH, merah fenol, berubah menjadi kuning. *Staphylococcus aureus* yang dibiakkan di medium Columbia agar dengan 5% darah domba defibrinasi pada suhu 37 °C pada penyinaran menunjukkan terjadinya zona hemolisis beta yang lebar disekeliling koloni (Soedarto, 2015).



Gambar 2.1 Mikroskopis *Staphylococcus aureus*

Sumber : Yuwono (2009)

Stafilokokus menghasilkan katalase, yang membedakannya dari streptokokus. Stafilokokus memfermentasi berbagai karbohidrat dengan lambat, menghasilkan asam laktat, tetapi tanpa gas. Aktifitas proteolitik sangat bervariasi antara galur yang satu dengan yang lainnya. Stafilokokus patogen menghasilkan banyak zat ekstraseluler. Stafilokokus relatif resisten terhadap pengeringan, pemanasan (dapat bertahan pada 50°C selama 30 menit) (Jawetz *et al.*, 2017).

1.4 Patogenitas *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus aureus* menyebabkan penyakit pada manusia melalui invasi jaringan dan atau karena pengaruh toksin yang dihasilkannya. Infeksi dimulai dari tempat koloni patogen pada tubuh, lalu ditularkan melalui tangan ke tempat bakteri dapat memasuki tubuh, misalnya di luka yang ada di kulit, tempat insisi pembedahan, tempat masuk kateter vaskuler, atau tempat lain yang lemah pertahanannya misalnya lokasi eksim. Pada infeksi kulit *Staphylococcus aureus* akan terbentuk abses atau bisul. Dari ini organisme akan menyebar secara hematogen. Dengan adanya enzim proteolitik *Staphylococcus aureus* dapat menimbulkan pneumonia, infeksi tulang dan sendi, maupun endokarditis. Pada hospes yang mengalami gangguan sistem imun misalnya penderita kanker yang mengalami neutropeni, terapi intravena yang dilakukan dapat menyebabkan komplikasi berat misalnya sepsis yang fatal akibat bakteremi *Staphylococcus aureus*. Pada penderita dengan fibrosis kistik, adanya *Staphylococcus aureus* yang menetap, dapat menyebabkan terjadinya resistensi terhadap antibiotika (Soedarto, 2015).

1.5 Struktur Antigen *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus* mengandung polisakarida dan protein yang bersifat antigenik. Sebagian besar bahan ekstraseluler yang dihasilkan bakteri ini juga bersifat antigenik. Polisakarida yang

ditemukan pada jenis yang virulen adalah polisakarida A dan yang ditemukan pada jenis yang tidak patogen adalah polisakarida B. Polisakarida A merupakan komponen dinding sel yang dapat larut dalam asam trikloroasetat. Antigen ini merupakan komponen peptidoglikan yang dapat menghambat fagositosis. Bakteriofaga terutama menyerang bagian ini. Antigen protein A berada di luar antigen polisakarida, kedua antigen ini membentuk dinding sel (Radji, 2010).

1.6 Uji Kualitas Pada Media

Uji kualitas media mencakup aspek yang luas, baik media buatan sendiri maupun media jadi, oleh karena itu penyiapan media harus diperhatikan. Hal-hal yang perlu diperhatikan dalam penyiapan media yaitu, sampel media dehidrasi harus ditimbang dan ditambahkan ke dalam air suling dan bebas mineral, lalu dicampur untuk membuat suspensi yang homogen kemudian panaskan untuk melarutkan zat - zat dalam medium. Panas yang digunakan harus diatur hanya cukup sampai membuat larutan yang sempurna, kecuali dinyatakan lain dalam prosedur. Pengocokan yang tetap selama proses pemanasan penting sebab bongkahan kecil agar atau bahan media yang akan dilarutkan dapat turun ke dasar wadah dan pemecahannya memerlukan jumlah panas yang tinggi. Pemanasan lebih lama akan menghasilkan denaturasi protein, karamelisasi karbohidrat, inaktivasi zat-zat gizi dan kehilangan kadar air yang

berarti karena penguapan. Media dilarutkan ke dalam wadah yang berukuran cukup dan sterilisasi dengan otoklaf. Setelah selesai harus segera dikeluarkan dari otoklaf untuk menghindari pemanasan yang lebih lama. Wadah berisi media agar harus dipindahkan ke waterbath air bersuhu 48 - 50°C sampai mencapai suhu yang diperlukan. Penyiapan lebih lama di penangas air harus dihindari.

pH setiap media harus diperiksa dengan pH meter setelah media dibiarkan dingin sampai suhu kamar. Untuk menguji media agar, dapat digunakan elektrode permukaan atau elektrode biasa. Media yang menyimpang > 0,2 unit pH dari pH optimum harus dibuang. Media dapat dituang ke dalam tabung atau cawan petri dalam ruangan bersih atau di bawah aliran udara laminar. Ruangan tersebut harus dijaga cukup terang, bebas dari bahan - bahan lain dan bebas dari lalu lalang selama proses pembagian. Kualitas media harus diperiksa dahulu sebelum media digunakan (PerMenKes No. 43, 2013).

1.7 Identifikasi *Staphylococcus aureus*

Pemeriksaan laboratorium *Staphylococcus* secara langsung dapat dilakukan dengan beberapa macam cara. Berbagai spesies *Staphylococcus* tumbuh dengan baik dalam kaldu biasa pada suhu 37°C. Kisaran suhu pertumbuhan adalah 15 - 40°C dan suhu optimum adalah 35°C. Dalam lempeng agar darah pada suhu 37°C, pembentukan pigmen kurang baik. Akan tetapi, apabila koloni

tersebut dipindahkan ke agar biasa atau perbenihan Loeffler dan diinkubasi pada suhu kamar, pembentukan pigmen akan sangat baik (Radji, 2010).

Secara laboratorium, proses identifikasi *Staphylococcus* dapat dilakukan dengan beberapa macam cara antara lain :

1) Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram bertujuan untuk mengamati morfologi sel *Staphylococcus* dan mengetahui kemurnian sel bakteri. Pengecatan gram merupakan salah satu pewarnaan yang paling sering digunakan, yang dikembangkan oleh Christian Gram (Dewi, 2013).

Pewarnaan gram dilakukan dengan cara kaca objek dibersihkan dengan kapas yang telah diberi alkohol kemudian kaca objek diberi label. Biarkan bakteri pada nutrient agar miring diambil dengan menggunakan ose jarum, kemudian ditotol pada bagian kaca objek lalu homogenkan dan sebarkan dengan menggunakan ose dengan gerakan melingkar. Biarkan apusan mengering di udara dan kemudian lakukan fiksasi panas dengan bunsen. Genangi apusan dengan kristal violet selama 1 menit. Bilas apusan dengan air keran secara perlahan - lahan. Genangi preparat dengan larutan peluntur iodin gram selama 1 menit. Bilas dengan air keran. Dekolorisasi dengan etil alkohol 95%. bilas dengan air keran secara perlahan. Genangi preparat

dengan safranin selama 45 detik. Bilas preparat dengan air mengalir secara perlahan. Keringkan dan amati di bawah lensa objektif celup minyak. Positif bakteri *Staphylococcus aureus* positif terbentuk coccus berwarna biru atau ungu (Cappuccino *et al.*, 2013).

2) *Nutrient Agar Plate*

Nutrient Agar Plate adalah medium padat untuk pertumbuhan mikroorganisme yang umum digunakan dalam berbagai kultur mikroorganisme. Ada berbagai jenis agar - agar yang tumbuh berbagai jenis bakteri baik. Beberapa memiliki lebih banyak garam di dalamnya, beberapa memiliki lebih banyak protein. Namun *Nutrient Agar* adalah medium standar untuk tumbuh berbagai jenis bakteri dan merupakan cara yang baik untuk mulai belajar tentang bagaimana koloni bakteri dapat tumbuh dan menyebar (Safitri Ratu dan Sinta N, 2010).

3) Uji Katalase

Uji katalase dilakukan dengan meneteskan hidrogen peroksida (H_2O_2) 3% pada gelas obyek yang bersih. Biakan dioleskan pada gelas obyek yang sudah ditetesi hidrogen peroksida dengan ose. Suspensi dicampur secara perlahan menggunakan ose, hasil yang positif ditandai oleh terbentuknya gelembung - gelembung udara (Dewi, 2013).

4) Uji Koagulase

Menurut Dewi (2013) Uji koagulase dilakukan dengan 2 metode, yaitu uji slide dan uji tabung. Uji slide digunakan untuk mengetahui adanya ikatan koagulase. Uji slide dikerjakan dengan cara setetes aquades atau NaCl fisiologis steril diletakkan pada kaca benda, kemudian satu ose biakan yang diuji disuspensikan. Setetes plasma diletakkan di dekat suspensi biakan tersebut, keduanya dicampur dengan menggosokkan ose kemudian digoyangkan. Reaksi positif apabila dalam waktu 2 - 3 menit terbentuk presipitat granuler. Uji tabung digunakan untuk mengetahui adanya koagulase bebas dengan cara 200 mikronliter plasma dimasukkan secara aseptis ke dalam tabung reaksi steril. Sebanyak 3 - 4 koloni biakan *Staphylococcus sp* yang diuji ditambahkan ke dalam tabung reaksi kemudian dicampur hati - hati. Selanjutnya, tabung dimasukkan ke dalam inkubator pada suhu 37°C. Pengamatan dilakukan pada 4 jam pertama, dan sesudah 18 - 24 jam. Reaksi positif akan terjadi apabila terbentuk gumpalan dan ketika tabung dimiringkan jelly tetap berada di dasar tabung.

5) Uji gula - gula

Menurut Dewi (2013) Uji gula - gula yang dilakukan pada penelitian ini adalah uji maltosa dan laktosa. Pertama - tama kaldu karbohidrat ditandai dengan etiket, kemudian biakan

bakteri diinokulasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Uji gula - gula bersifat positif apabila terlihat perubahan warna menjadi kekuningan dan negatif apabila warnanya tetap hijau.

6) Antibiogram metode Kirby - Bauer

Uji antibiogram dengan metode Kirby - Bauer dilakukan dengan cara memupuk bakteri pada media cair dengan cara biakan bakteri diinokulasikan ke dalam media cair dengan cara dimasukkan sampai kedalaman tiga perempat bagian dari permukaan media, kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 - 48 jam. Hasil positif jika kaldu menjadi keruh dan terdapat pada endapan (Dewi, 2013).

Bakteri yang dibiakkan pada media cair dipupuk pada media agar (MHA), dengan cara mencelupkan tangkai kapas steril ke dalam biakan organisme, kemudian kapas tersebut diusapkan pada seluruh permukaan lempengan sampai merata. Pada uji ini, cakram kertas saring yang telah mengandung antibiotik dengan kadar tertentu diletakkan di atas lempeng agar yang telah ditanami kuman. Diameter zona hambatan pertumbuhan kuman yang tampak menunjukkan sensitivitas kuman tersebut terhadap antibiotik yang diujikan. Penilaian terhadap zona hambatan dilakukan dengan membandingkan besarnya diameter zona hambatan dengan tabel. Hasil penilaiannya berupa sensitif (S), resisten (R), dan *intermediate* (I). Kuman yang sensitif

terhadap suatu jenis antibiotik akan memperlihatkan zona hambatan yang lebih besar dari jangkauan nilai yang terlihat pada tabel. Sebaliknya, kuman yang resisten tidak memperlihatkan adanya zona hambatan pertumbuhan atau menunjukkan zona hambatan yang diameternya lebih kecil dari jangkauan nilai pada tabel (Kuswiyanto, 2015).



Gambar 2.2 Antibiogram pada Mueller Hinton Agar

Sumber : Khusnan (2016).

2. Antibiotik

Pemilihan obat untuk uji kepekaan rutin yang dilakukan di laboratorium klinik didasari atas spektrum anti bakteri obat, maupun sifat farmakokinetik toksisitas dengan penjelasan seperti di bawah ini.

2.1 Definisi Antibiotik

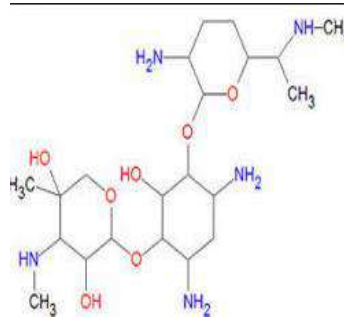
Antibiotik berasal dari kata anti yang berarti lawan dan bios yang berarti hidup. Antibiotik adalah zat-zat kimia yang dihasilkan oleh mikroorganisme hidup terutama fungi dan bakteri tanah, yang memiliki khasiat mematikan atau menghambat pertumbuhan perkembangbiakan bakteri sedangkan toksisitasnya terhadap manusia relatif kecil (Depkes, 1994).

Antibiotik adalah obat yang digunakan untuk mengatasi infeksi bakteri. Antibiotik bisa bersifat bakterisid atau bakteriostatik. Pada kondisi *immunocompromised* atau infeksi di lokasi yang terlindung, maka antibiotik bakterisid harus digunakan (PerMenKes, 2011).

2.2 Mekanisme Kerja Antibiotik

Beberapa antibiotika mempunyai khasiat terhadap dinding sel atau membran sel. Mekanisme kerja yang terpenting adalah perintangan selektif metabolisme bakteri, sehingga sintesis protein terhambat dan kuman musnah atau tidak berkembang lagi, misalnya kloramfenikol, tetrasiklin, aminoglikosida dan makrolida. Antibiotik tidak aktif terhadap kebanyakan virus kecil mungkin dikarenakan virus tidak memiliki proses metaboli yang sesungguhnya, melainkan bergantung sepenuhnya dari proses - proses tuan rumah (Depkes, 1994).

2.3 Antibiotik Gentamicin

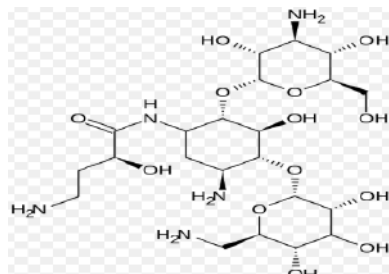


Gambar 2.3 Antibiotik Gentamicin

Sumber : Ayisa (2015).

Gentamicin merupakan *aminoglycoside* yang diisolasi dari *Micromonospora purpurea*. Rumus kimia gentamicin ini adalah $C_{12}H_{43}N_5O_7$. Zat ini aktif terhadap organisme gram - positif dan gram negatif serta banyak sifatnya yang menyerupai aminoglycoside lainnya. Aktifitas antimikroba pada antibiotik gentamicin secara in vitro menghambat banyak rantai *Staphylococci* dan *coliforms* serta bakteri - bakteri gram negatif lainnya. Secara tersendiri agen ini aktif, namun juga sebagai pendamping sinergistik dengan antibiotik beta laktam terhadap *pseudomonas*, *proteus*, *enterobacter*, *klebsiella*, *serratia*, *stenotrophomonas*, dan strain - strain gram negatif lainnya yang kemungkinan resisten terhadap beragam antibiotik lain. Seperti halnya semua *aminoglycoside*, gentamicin tidak memiliki aktivitas terhadap organisme anaerob (Bertram, 2004).

2.4 Amikasin



Gambar 2.4 Antibiotik Amikasin

Sumber : Kieobat (2016).

Amikasin adalah kanamisin semisintetik dan lebih resisten terhadap berbagai enzim yang dapat merusak aminoglikosida lain, rumus kimia antibiotik amikasin ini adalah $C_{22}H_{43}N_5O_{13}$ Amikasin memiliki spektrum aktivitas antimikroba terluas dari golongan aminoglikosida (Nurmala *et al.*, 2015). Menurut Bertram (2004), amikasin merupakan turunan semisintesis dari kanamisin. Agen ini resisten terhadap banyak enzim yang menghentikan gentamisin dan tobramisin. Seperti halnya aminoglikosida lain, amikasin juga bersifat nefrotoksik dan ototoksik khususnya terhadap bagian pendengaran dari saraf ke-8.

2.5 Sediaan Antibiotika

Menurut WHO terdapat banyak antibiotik dengan masing - masing fungsinya yang digunakan untuk pengobatan pasien. Adapun tersedia macam - macam sediaan antibiotik seperti di bawah ini.

- 1) Cakram *bensilpenisilin* digunakan untuk menguji kepekaan terhadap semua penisilin yang sensitif terhadap β -laktamase (seperti fenoksimetil penisilin oral dan fenitisilin). Isolat *Staphylococcus* yang masuk dalam kategori resisten menghasilkan β -laktamase dan harus diobati dengan penisilin G yang resisten terhadap β -laktamase atau dengan antimikroba lain, seperti eritromisin.
- 2) Cakram oksasilin mewakili seluruh anggota penisilin yang resisten terhadap β -laktamase (metilsilin, nafsilin, kloksasilin, dan fluklosasilin). Bukti klinis yang kuat menunjukkan bahwa terdapat resistensi silang antara golongan metisilin dan sefalosporin. Jadi, tidaklah berguna dan meyesatkan untuk memasukkan sefalotin dalam antibiogram untuk *Staphylococcus*. Jenis resistensi ini lebih jelas jika suhu inkubasi diatur pada 35 °C atau jika waktu inkubasi diperpanjang.
- 3) Hasil untuk cakram tetrasiklin dapat diterapkan untuk klotetrasiklin, oksitetrasiklin, dan anggota lain dari golongan ini. Walaupun demikian, sebagian besar *Staphylococcus* yang

resisten terhadap tetrasiklin normalnya tetap sensitif terhadap minosiklin.

- 4) Hasil untuk cakram *kloramfenikol* dapat diterapkan untuk tiamfenikol, obat terkait dengan spektrum antimikroba yang sebanding tetapi tanpa resiko anemia aplastik yang sudah diketahui.
- 5) Hanya satu wakil *sulfonamid* (sulfafurazol) yang diperlukan dalam pengujian.
- 6) Cakram *kotrimaksazol* mengandung kombinasi trimetropin dan suatu sulfonilamid (sulfametoksazol). Kedua komponen kombinasi yang sinergis ini mempunyai sifat farmakokinetik yang sebanding dan umumnya bekerja sebagai obat tunggal.
- 7) *Ampisilin* adalah prototipe kelompok penisilin spektrum luas dengan aktivitas melawan banyak bakteri gram positif dan gram negatif. Umumnya kepekaan terhadap ampisilin juga berlaku untuk golongan lain amoksisilin, pivampisilin, talampisilin.
- 8) *Sefalotin* yang perlu diuji secara rutin karena spektrumnya mewakili semua sefalosporin generasi pertama yang lain (sefaaleksin, sefaadrin, sefaloridin, sefazolin, sefapirin). Walaupun beberapa sefalosporin dapat digunakan untuk mengobati *Staphylococcus* yang berat, kepekaan galur yang menginfeksi dapat diperoleh dengan oksasilin seperti yang telah disebutkan.

- 9) *Eritromisin* digunakan untuk menguji kepekaan terhadap makrolida yang lain (oleandomisin, spiramisin).
- 10) *Aminoglikosida* membentuk sekelompok obat yang terkait secara kimiawi, yang mencakup streptomisin, gentamisin, kanamisin, netilmisin, dan tobramisin. Obat-obat ini terbukti memiliki efektivitas yang sama terhadap patogen-patogen yang sensitif.
- 11) *Nitrofurantoin* penggunaannya terbatas hanya untuk pengobatan infeksi saluran kemih, dan sebaiknya jangan diuji terhadap mikroorganisme yang didapatkan dari bahan lain selain urine (WHO, 2003).

3. Faktor Pertumbuhan Bakteri

Menurut Radji (2010) faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri terdiri atas :

a. Suhu

Sebagian besar bakteri tumbuh optimal pada suhu tubuh manusia. Beberapa bakteri dapat tumbuh dalam lingkungan ekstrem yang berada di luar batas pertahanan organisme eukariot. Bakteri digolongkan menjadi tiga bagian besar berdasarkan perbedaan suhu tumbuh yaitu antara lain psikrofil, mesofil, dan termofil.

Bakteri psikrofil adalah bakteri yang tumbuh pada suhu 0 °C dengan suhu optimum 15 °C dan tidak tumbuh pada suhu kamar (25 °C). bakteri psikotrof atau psikrofil fakultatif adalah bakteri

yang tumbuh pada suhu 0 °C dengan suhu optimum 20-30 °C dan tidak tumbuh pada suhu lebih dari 40 °C. Bakteri mesofil adalah bakteri yang tumbuh optimal pada suhu 25-40 °C dan merupakan bakteri yang paling banyak dibutuhkan.

Menurut Jawetz (2017) beberapa organisme merupakan hipertermofilik dan dapat tumbuh pada suhu yang melebihi suhu titik didih air, yang terdapat di bawah tekanan tinggi di bagian laut yang dalam.

b. pH

pH adalah derajat keasaman suatu larutan. Kebanyakan bakteri tumbuh subur pada pH 6,5 - 7,5. Sangat sedikit bakteri yang dapat tumbuh di bawah pH asam (di bawah pH 4). Beberapa bakteri disebut asidofil karena dapat menoleransi keasaman. Salah satu tipe bakteri kemoautotrof yang ditemukan di dalam drainase air di tambang tembaga dan pabrik oksidasi sulfur dari asam sulfat dapat bertahan pada pH 1. Ketika dibiakkan di laboratorium, bakteri sering memproduksi asam yang biasanya berpengaruh pada pertumbuhan bakteri itu sendiri. Untuk menetralkan asam dan mempertahankan pH, dapar kimia dapat ditambahkan ke dalam media. Pepton dan asam amino bekerja sebagai dapar dalam beberapa media perbenihan. Banyak media yang juga mengandung garam fosfat

sebagai dapar. Garam fosfat tidak memengaruhi bakteri bahkan mengandung fosfor sebagai nutrisi.

c. Tekanan Osmotik

Bakteri memperoleh semua nutrisi dari cairan di sekitarnya. Bakteri membutuhkan air untuk pertumbuhan. Tekanan osmotik yang tinggi dapat menyebabkan air keluar dari dalam sel. Penambahan garam dalam larutan yang akan meningkatkan tekanan osmotik. Konsentrasi garam atau gula yang tinggi menyebabkan air keluar dari sel bakteri sehingga menghambat pertumbuhan atau plasmolisis, efek tekanan osmotik berhubungan dengan jumlah ion dan molekul terlarut didalam larutan.

Beberapa organisme disebut halofil ekstrem karena dapat beradaptasi dengan baik pada kadar garam yang tinggi. Beberapa bakteri bahkan membutuhkan garam untuk pertumbuhannya. Bakteri yang seperti ini digolongkan sebagai halofil obligat. Organisme yang hidup di dalam air beragam tinggi seperti di laut mati membutuhkan hampir 30% garam. Sengkelit (ose) yang digunakan untuk menginokulasi bakteri harus dicelupkan terlebih dahulu ke dalam larutan garam. Halofil fakultatif tidak membutuhkan konsentrasi garam tinggi, tetapi dapat tumbuh dalam larutan garam 2%. Pada konsentrasi ini, bakteri-bakteri lain kemungkinan mati atau terhambat

pertumbuhannya. Beberapa spesies halofil lain bahkan dapat tumbuh pada kondisi dengan konsentrasi garam 15%.

d. Faktor Kimia

Selain air, unsur penting yang dibutuhkan untuk pertumbuhan mikroorganisme adalah unsur kimia, antara lain karbon, nitrogen, sulfur, fosfor, dan unsur kelumit (misalnya Cu, Zn dan Fe). Beberapa unsur lain juga diperlukan oleh bakteri untuk sintesis materi seluler, yaitu nitrogen dan sulfur untuk sintesis protein, nitrogen dan fosfor untuk sintesis DNA, RNA, dan ATP. Molekul ATP sangat penting penyimpanan dan transfer energi kimia di dalam sel. Kandungan nitrogen kurang lebih 14% berat kering suatu sel bakteri, sedangkan sulfur dan fosfor sekitar 4%.

Bakteri juga membutuhkan sejumlah kecil unsur mineral (misalnya K, Mg, Ca, Fe, Cu, Zn, dan Mo) sebagai kofaktor, yang merupakan unsur penting untuk memfungsikan beberapa jenis enzim. Unsur-unsur ini terdapat dalam air dan komponen media lain secara alam

e. Oksigen

Mikroorganisme yang menggunakan oksigen menghasilkan lebih banyak energi dari nutrien yang diperoleh daripada mikroba yang tidak menggunakan oksigen (anaerob). Bakteri yang membutuhkan oksigen untuk hidup disebut bakteri aerob

obligat. Bakteri aerob obligat memiliki kelemahan, yaitu oksigen sangat sedikit terlarut di dalam media dan air di lingkungan bakteri tersebut. Oleh sebab itu, kebanyakan bakteri aerob telah berkembang sehingga mempunyai kemampuan untuk bertumbuh tanpa oksigen. Mikroorganisme seperti ini disebut anaerob fakultatif.

f. Faktor pertumbuhan organik

Komponen organik penting yang tidak dapat diproduksi sendiri oleh bakteri disebut faktor pertumbuhan organik. Komponen ini harus didapatkan langsung dari lingkungan pertumbuhan bakteri. Salah satu contoh faktor pertumbuhan organik untuk manusia adalah vitamin. Kebanyakan vitamin berfungsi sebagai koenzim, yaitu kofaktor organik yang dibutuhkan beberapa enzim agar berfungsi dengan optimal. Sebagian besar bakteri dapat menyintesis vitaminnya sendiri dan tidak bergantung pada sumber dari luar. Akan tetapi, beberapa bakteri kekurangan enzim untuk menyintesis beberapa vitamin tertentu. Untuk bakteri - bakteri seperti ini, vitamin tertentu tersebut disebut sebagai faktor pertumbuhan organik.

4. Uji *Susceptibility* bakteri *Staphylococcus aureus*

Prinsip uji *susceptibility* terhadap antimikroba adalah penentuan terhadap bakteri penyebab penyakit yang kemungkinan menunjukkan resistensi terhadap suatu antimikroba atau kemampuan suatu antimikroba untuk menghambat pertumbuhan bakteri yang tumbuh *in vitro*, sehingga dapat dipilih sebagai antimikroba yang berpotensi untuk pengobatan. Uji kepekaan antimikroba dilakukan pada isolat mikroba yang didapatkan dari spesimen pasien untuk mendapatkan agen antimikroba yang tepat untuk mengobati penyakit infeksi yang disebabkan oleh mikroba tersebut (Soleha, 2015).

Hasil uji kepekaan, sebagaimana yang telah dilaporkan kepada klinisi, adalah penggolongan mikroorganisme tersebut ke dalam salah satu dari dua kategori kepekaan atau lebih. Sistem yang paling sederhana hanya terdiri atas dua kategori yaitu sensitif dan resisten. Klasifikasi ini, walaupun mempunyai banyak keuntungan untuk tujuan statistik dan epidemiologis, terlalu kaku untuk digunakan oleh klinisi. Oleh karena itu, sering kali digunakan klasifikasi tiga kategori. Metode Kirby-Bauer dan modifikasinya menggunakan tiga kategori kepekaan, klinisi dan pekerja laboratorium harus memahami definisi yang tepat serta kepentingan klinis kategori - kategori tersebut (WHO, 2003).

a. Sensitif

Sensitif merupakan keadaan dimana mikroba sangat peka terhadap suatu antimikroba bila infeksi yang disebabkan cenderung merespon pengobatan dengan antimikroba pada dosis yang dianjurkan (WHO, 2003).

b. Intermediate

Kepekaan intermediate ini mencakup dua keadaan. Ini dapat diterapkan pada galur - galur yang “peka sedang” terhadap suatu antimikroba yang dapat digunakan untuk pengobatan dengan dosis yang lebih tinggi (misalnya β -laktam) karena toksisitasnya yang rendah, atau karena zat antimikroba tersebut terkonsentrasi pada fokus infeksinya. Klasifikasi ini juga berlaku untuk galur - galur yang menunjukkan “kepekaan intermediet” terhadap antimikroba yang lebih tinggi. Pada keadaan ini, kategori intermediet berperan sebagai zona penyangga antara sensitif dan resisten (WHO, 2003).

c. Resisten

Istilah ini menunjukkan bahwa organisme diperkirakan tidak berespon terhadap antimikroba tersebut, tanpa memandang dosis dan lokasi infeksi (WHO, 2003).

5. Metode Pemeriksaan Uji Kepekaan Bakteriologi

Menurut Soleha (2015) kepekaan antimikroba dalam melawan bakteri dapat diukur menggunakan metode yang biasa dilakukan, yaitu :

a. Metode Dilusi

Metode dilusi terdiri dari dua teknik pengerjaan, yaitu teknik dilusi perbenihan cair dan teknik teknik dilusi agar yang bertujuan untuk penentuan aktivitas antimikroba secara kuantitatif, antimikroba dilarutkan ke dalam media agar atau kaldu, yang kemudian ditanami bakteri yang akan di tes. Setelah diinkubasi semalam, konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri disebut dengan MIC (*minimal inhibitory concentration*).

b. Dilusi perbenihan cair

Dilusi perbenihan cair terdiri dari makrodilusi dan mikrodilusi. Pada prinsipnya pengerjaannya sama hanya berbeda dalam volume. Untuk makrodilusi volume yang digunakan lebih dari 1 ml, sedangkan mikrodilusi volume yang digunakan 0,05 ml sampai 0,1 ml.

Secara umum untuk penentuan MIC, pengenceran antimikroba dilakukan penurunan konsentrasi setengahnya misalnya mulai dari 16, 8, 4, 2, 1, 0,5, 0,25 konsentrasi terendah yang menunjukkan hambatan pertumbuhan dengan jelas baik

dilihat secara visual atau alat semiotomatis, disebut dengan konsentrasi daya hambat minimum.

c. Dilusi Agar

Pada teknik dilusi agar, antibiotik sesuai dengan pengenceran akan ditambahkan ke dalam agar, sehingga akan memerlukan perbenihan agar untuk kontrol tambah penambahan antibiotik, konsentrasi terendah antibiotik yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri merupakan MIC antibiotik yang diuji.

Penentuan konsentrasi minimum antibiotik yang dapat membunuh bakteri dilakukan dengan menanam bakteri pada perbenihan cair yang digunakan untuk MIC ke dalam agar kemudian diinkubasi semalam pada 37°C.

d. Metode difusi

Cakram kertas, yang telah dibubuhkan sejumlah tertentu antimikroba, ditempatkan pada media yang telah ditanami organisme yang akan diuji secara merata. Tingginya konsentrasi dari antimikroba ditentukan oleh difusi dari cakram dan pertumbuhan organisme uji dihambat penyebarannya sepanjang difusi antimikroba (terbentuk zona jernih disekitar cakram), sehingga bakteri tersebut merupakan bakteri yang sensitif terhadap antimikroba. Ada hubungan persamaan yang hampir linear (berbanding lurus) antara log MIC, seperti yang

diukur oleh metode dilusi dan diameter zona daya hambat pada metode dilusi.

6. Kendali Mutu Uji Kepekaan

Menurut WHO (2003) perlunya pengendalian mutu dalam uji kepekaan hasil akhir suatu uji difusi cakram dipengaruhi oleh sejumlah besar variabel. Beberapa faktor mudah dikendalikan misalnya, kepekatan inokulum dan suhu inkubasi, tetapi laboratorium jarang mengetahui komposisi tepat suatu media komersial atau variasi mutu antar batch, dan laboratorium tidak dapat mengabaikan kandungan antimikroba dalam cakram. Oleh karena itu, hasil pengujian harus dipantau secara terus-menerus dengan program kendali mutu.

Ketelitian dan ketepatan uji uji dikontrol dengan menggunakan serangkaian galur kontrol secara paralel dengan kepekaan terhadap antimikroba yang diketahui. Galur-galur kendali mutu ini diuji dengan menggunakan metode yang sama persis dengan organisme uji. Ukuran zona yang ditunjukkan oleh organisme kontrol harus masuk dalam kisaran diameter yang ada pada tabel. Jika hasilnya terus-menerus keluar dari kisaran tersebut, ini harus dianggap sebagai petunjuk telah terjadinya kesalahan teknis dalam pengujian, atau reagensinya yang saalh. Setiap reagen dan setiap langkah uji harus diusut sampai penyebab kesalahan ditemukan dan dihilangkan.

Program pengendalian mutu harus menguji galur bakteri rujukan bakteri rujukan baku secara paralel dengan biakan-biakan klinis dengan agar Mueller - Hinton atau batch cakram baru.

a. Galur-galur baku untuk kendali mutu

Galur baku yang digunakan untuk kendali mutu adalah *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853). Biakan ini ditanam pada nutrien agar miring dan disimpan pada lemari pendingin.

b. Menyiapkan inokulum

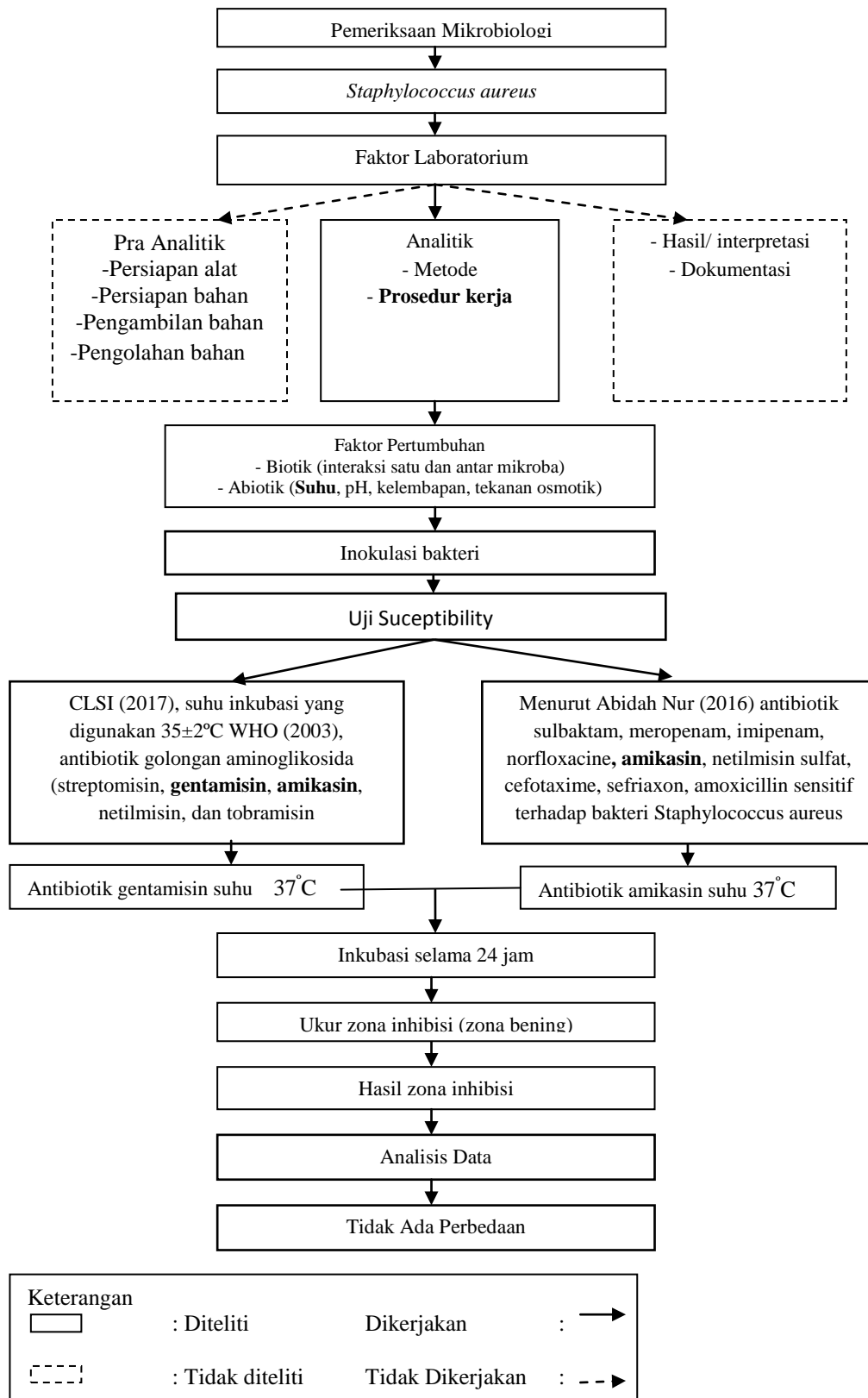
Biakan dapat diinokulasikan pada media cair (NaCl atau BHI) tertentu, dan diinkubasi sampai menjadi keruh. Media inokulasi yang berisi bakteri dan menjadi keruh dapat digoreskan pada lempeng agar dan diinkubasi semalaman. Kemudian koloni tunggal diambil dan dilakukan uji kepekaan (Patty, 2016).

c. Membaca Lempeng

Setelah diinkubasi 16-18 jam, diameter zona hambatan harus diukur dengan menggunakan penggaris dan dicatat bersama dengan tanggal uji pada suatu grafik kendali mutu khusus. Grafik ini harus menampilkan data untuk tiap kombinasi galur-galur cakram. Grafik di dalam milimeter dengan petunjuk kisaran zona dapat diterima. Hasil yang menyimpang, yang tidak dapat dijelaskan oleh adanya kesalahan teknis dalam

prosedur, mungkin menunjukkan pencemaran atau perubahan dalam kepekaan atau ciri pertumbuhan galur kontrol (WHO, 2013).

B. Kerangka Pemikiran



Bagan 2.1 kerangka pemikiran

C. Hipotesis

“Tidak terdapat perbedaan zona inhibisi pada uji kepekaan antibiotik gentamisin dan amikasin Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* pada Suhu Inkubasi 37°C.”