

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Infeksi merupakan salah satu penyebab utama timbulnya penyakit di daerah tropis seperti Indonesia karena keadaan udara yang banyak berdebu, temperatur yang hangat dan lembab sehingga mikroba dapat tumbuh subur. Keadaan tersebut ditunjang dengan kemudahan transportasi dan keadaan sanitasi yang buruk sehingga memudahkan penyakit infeksi semakin berkembang (Kuswandi, 2001).

Infeksi adalah adanya suatu mikroorganisme pada jaringan atau cairan tubuh yang disertai suatu gejala klinis baik lokal maupun sistemik (Utama, 2006). Penyakit infeksi dapat disebabkan oleh empat kelompok besar hama penyakit, yaitu : bakteri, jamur, virus dan parasit (Jawetz *et al.*, 2001).

Dalam beberapa dekade terakhir ini infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus epidermidis* memang makin sering terjadi. *Staphylococcus epidermidis* memproduksi sejenis toksin atau zat racun. Bakteri ini juga memproduksi semacam lendir yang memudahkannya untuk menempel di mana-mana, termasuk di permukaan alat-alat yang terbuat dari plastik atau kaca. Lendir ini pula yang membuat bakteri *Staphylococcus epidermidis* lebih tahan terhadap fagositosis (salah satu mekanisme pembunuhan bakteri oleh sistem kekebalan tubuh) dan beberapa antibiotika tertentu (Sinaga, 2004).

Sebagai upaya penanggulangan, penyakit infeksi dapat diatasi melalui pengobatan menggunakan antibiotika (Naim, 2003). Obat yang digunakan untuk membasmi mikroba penyebab infeksi pada manusia ditentukan harus memiliki sifat toksisitas selektif setinggi mungkin. Artinya obat tersebut haruslah bersifat sangat toksik untuk mikroba, tetapi relatif tidak toksik terhadap hospes (Setiabudy dan Gan, 1995). Agen antibakteri yang optimal untuk pengobatan suatu infeksi adalah antibakteri yang mempunyai spektrum aktivitas yang paling sempit, dengan efek samping dan toksisitas minimal (Shulman dkk., 1994).

Antibiotik dapat mempengaruhi kesehatan manusia secara langsung maupun tidak langsung. Secara langsung antibiotik memiliki sifat toksik bagi manusia, sebagai contoh kloramfenikol memiliki efek samping yang cukup serius, yaitu penekanan aktivitas sumsum tulang yang berakibat gangguan pembentukan sel-sel darah merah. Risiko lain bagi kesehatan manusia secara tidak langsung dalam penggunaan antibiotik adalah terjadinya resistensi mikroba (Naim, 2002).

Penggunaan antibiotik secara besar-besaran untuk terapi dan profilaksis adalah faktor utama terjadinya resistensi. Banyak strain dari pneumococcus, staphylococcus, enterococcus, dan tuberculosis telah resisten terhadap banyak antibiotik, begitu juga klebsiella dan *Pseudomonas aeruginosa* juga telah bersifat multiresisten (Utama, 2006).

Sejarah resistensi bakteri terhadap antibiotik diawali dari ditemukannya staphylococcus yang resisten terhadap penicillin pada awal 1940-an. Sejak itu resistensi tunggal maupun multiple (*multidrug resistance*) dapat dipindahkan dari satu ke lain mikroorganisme yang dirawat di rumah sakit (Dwiprahasto, 2005).

Salah satu bakteri staphylococcus yang telah resisten dengan obat-obat antibiotika turunan penicillin yang umum dipakai adalah *Staphylococcus epidermidis*. Karena itu, untuk mengatasinya perlu antibiotik seperti vancomycin dan obat-obat sulfa, misalnya trimethoprim-sulfamethoxazole (Sinaga, 2004).

Berdasarkan uraian di atas maka penting untuk melakukan penelitian guna mengetahui sensitivitas *Staphylococcus epidermidis* yang diambil dari pus pasien di Rumah Sakit Umum Islam Kustati Surakarta terhadap beberapa antibiotik sehingga diharapkan dapat diperoleh informasi mengenai jenis antibiotika yang masih efektif dan yang kurang efektif untuk pengobatan penyakit infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus epidermidis*. Dengan demikian, dapat dipilih antibiotik yang tepat untuk pengobatan.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah tersebut, dapat dirumuskan suatu permasalahan yaitu bagaimanakah sensitivitas *Staphylococcus epidermidis* dari hasil isolasi, identifikasi pus pasien di Rumah Sakit Umum Islam Kustati Surakarta terhadap beberapa antibiotik?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui sensitivitas *Staphylococcus epidermidis* dari pus pasien di Rumah Sakit Umum Islam Kustati Surakarta terhadap beberapa antibiotik.

D. Tinjauan Pustaka

1. Pus

Pus merupakan cairan hasil proses peradangan yang terbentuk dari sel-sel (leukosit) dan cairan encer yang dinamakan liquor puris ; nanah (Dorland, 2002). Nanah adalah eksudat radang yang kaya protein dan mengandung leukosit yang masih hidup bercampur dengan debris yang berasal dari sel darah putih nekrotik aktif dan yang datang dari luar. Yang termasuk piogen (pembentuk nanah) salah satunya adalah staphylococcus. Infeksi kuman-kuman ini menimbulkan timbunan nanah setempat pada daerah implantasi kuman (Robbins dan Kumar, 1995).

Abses adalah suatu penimbunan nanah, biasanya terjadi akibat suatu infeksi bakteri. Jika bakteri menyusup ke dalam jaringan yang sehat, maka akan terjadi infeksi. Sebagian sel mati dan hancur, meninggalkan rongga yang berisi jaringan dan sel-sel yang terinfeksi. Sel-sel darah putih yang merupakan pertahanan tubuh dalam melawan infeksi, bergerak ke dalam rongga tersebut dan setelah menelan bakteri, sel darah putih akan mati. Sel darah putih yang mati inilah yang membentuk nanah, yang mengisi rongga tersebut. Akibat penimbunan nanah ini, maka jaringan di sekitarnya akan terdorong. Jaringan pada akhirnya tumbuh di sekeliling abses dan menjadi dinding pembatas abses. Hal ini merupakan mekanisme tubuh untuk mencegah penyebaran infeksi lebih lanjut. Jika suatu abses pecah di dalam, maka infeksi bisa menyebar di dalam tubuh maupun di bawah permukaan kulit, tergantung kepada lokasi abses (Anonim, 2007).

2. Infeksi Luka Pasca Operasi

Infeksi adalah terdapatnya mikroba hidup dalam jaringan hospes hidup. Penyakit infeksi adalah terdapatnya penyakit dalam hospes hidup akibat infeksi (Shulman dkk., 1994).

Infeksi luka terus menjadi masalah medis yang utama, karena bagaimana infeksi luka mempengaruhi hasil prosedur bedah dan karena pengaruhnya pada lama tinggal di rumah sakit serta biaya berobat. Banyak prosedur bedah yang seharusnya berhasil menjadi gagal karena terjadinya infeksi luka. Insidensi infeksi luka secara keseluruhan adalah sekitar 5 sampai 10 persen di seluruh dunia dan tidak berubah selama dasa warsa yang lalu. Banyak faktor yang mempengaruhi perkembangan infeksi luka pasca operatif. Beberapa faktor langsung dibawah kendali ahli bedah dan berhubungan langsung dengan teknik bedah. Faktor lain adalah berhubungan dengan pasien (*host*) dan penyakit dan efeknya pada infeksi luka dapat dimodulasi dengan keberhasilan yang terbatas.

Faktor-faktor yang mempengaruhi infeksi luka antara lain:

a. Faktor operatif

Termasuk di dalamnya kelas operasi, lama prosedur operasi, adanya jaringan mati, benda asing.

b. Faktor pasien

Terdiri dari usia, menurunnya kekebalan lokal atau sistemik, oksigenasi yang buruk, anemia, penyakit metabolisme, diabetes, uremia, keadaan nutrisi, malnutrisi, obesitas.

Sebagian besar infeksi luka menjadi jelas dalam 7 sampai 10 hari pasca operatif. Definisi infeksi luka yang paling sempit adalah hanya luka yang mengeluarkan pus dengan bakteri yang diidentifikasi dari biakan. Definisi yang lebih luas harus mencakup semua luka yang mengeluarkan pus, apakah hasil bakteriologi adalah positif atau tidak, luka yang dibuka oleh ahli bedah, dan luka yang dianggap oleh ahli bedah sebagai terinfeksi. Infeksi luka secara anatomik dapat diklasifikasikan sebagai superficial atau suprafacial dan profundus, yang mengenai fascia, otot, atau rongga abdomen. Sekitar tigaperempat dari semua infeksi luka adalah superficial, yang mengenai kulit dan jaringan subkutan saja (Cameron, 1997).

3. Bakteri

Bakteri adalah prokariot, DNANYA tidak terletak di dalam nukleus. Banyak bakteri mengandung lingkaran DNA ekstrakromosomal yang disebut plasmid. Di dalam sitoplasma tidak terdapat organel lain selain ribosom, yang berukuran lebih kecil dibandingkan sel-sel eukaryotik (Hart dan Shears, 2004).

Berdasarkan bentuk morfologisnya bakteri dapat digolongkan menjadi 3 golongan yaitu :

- a. Basil (bacillus) berbentuk tongkat pendek, silindris sebagian besar bakteri berupa basil. Basil dapat bergandeng-gandengan panjang (streptobasil), bergandengan dua-dua (diplobasil) atau terlepas satu sama lain.

- b. Kokus (coccus) adalah bakteri serupa bola-bola, golongan ini tidak sebanyak golongan basil, kokus ada bergandengan panjang serupa tali leher (streptokokus), bergandengan dua-dua (diplokokus), mengelompok berempat (tetrakokus), mengelompok (stafilokokus), mengelompok seperti kubus (sarsina).
- c. spiril (spirillum) yaitu bakteri berbentuk bengkok atau berbengkok-bengkok serupa spiral. Bakteri bentuk spiral ini tidak banyak terdapat dan merupakan golongan yang paling kecil (Dwijoseputro,1984).

Berdasar pengaruh temperatur terhadap kegiatan fisiologi ada 3 golongan bakteri yaitu :

- a. Bakteri termofil (potermik) yaitu bakteri yang tumbuh dengan baik pada temperatur tinggi 55°C sampai 65° C
- b. Bakteri mesofil (mesotermik) yaitu bakteri yang hidup dengan baik diantara temperatur 5°C sampai 60°C dan temperatur optimumnya 25°C sampai 40°C.
- c. Bakteri psikrofil (oligotermik) yaitu bakteri yang dapat hidup dengan baik diantara temperatur 0°C sampai 30°C sedang temperatur optimumnya 10°C sampai 20°C (Dwijoseputro, 1984).

Berdasar sifat pengecatannya, bakteri dibedakan atas :

- a. Bakteri Gram positif adalah bakteri yang pada pengecatan Gram tahan terhadap alkohol, sehingga tetap mengikat warna cat pertama (Gram A) dan tidak mengikat warna yang kedua sehingga bakteri

akan berwarna ungu. Contoh bakteri Gram positif adalah *Streptococcus* dan *Staphylococcus*.

- b. Bakteri Gram negatif adalah bakteri yang pada pengecatan Gram tidak tahan terhadap alkohol sehingga warna cat pertama (Gram A) akan dilunturkan dan bakteri akan mengikat warna yang kedua sehingga bakteri akan berwarna merah. Contoh bakteri Gram negatif adalah *E.coli*, *Shigella*, *Salmonella*, *Klebsiella* (Anonim, 1993).

Bakteri Gram positif maupun Gram negatif memiliki suatu membran plasma yang dibentuk oleh lapisan lemak dua lapis (*lipid bilayer*) bersama dengan protein. Pada keduanya, komponen struktural utama dari dinding sel adalah kerangka tiga dimensi dari polisakarida N-asetilglukosamin, asam N-asetilmuramat, dan asam amino yang dinamakan peptidoglikan (Hart dan Shears, 2004).

Bakteri Gram positif, hampir seluruh dinding selnya terdiri dari lapisan peptidoglikan dengan polimer-polimer asam teikoat yang melekat padanya. Bakteri Gram negatif memiliki dinding sel yang lebih kompleks, lapisan peptidoglikannya lebih tipis dibandingkan bakteri Gram positif dan dikelilingi oleh suatu membran luar yang terdiri dari lipopolisakarida dan lipoprotein. Komponen lipopolisakarida dari dinding sel Gram negatif merupakan molekul endotoksin yang memberikan sumbangan pada patogenesis bakteri (Hart dan Shears, 2004).

4. Staphylococcus

Staphylococcus merupakan sel yang berbentuk bola dengan diameter 1 μm , tersusun dalam bentuk kluster yang tidak teratur seperti anggur. Staphylococcus termasuk dalam bakteri Gram positif coccus. Coccus tunggal, berpasangan, tetrad, dan berbentuk rantai juga tampak dalam biakan cair. Staphylococcus tumbuh dengan cepat pada beberapa tipe media dan dengan aktif melakukan metabolisme, melakukan fermentasi karbohidrat dan menghasilkan bermacam-macam pigmen dari warna putih hingga kuning gelap. Beberapa merupakan anggota flora normal pada kulit dan selaput lendir manusia, yang lain ada yang menyebabkan supurasi dan bahkan septikemia fatal (Jawetz *et al.*, 2001).

Staphylococcus bersifat nonmotil dan tidak membentuk spora. Staphylococcus tumbuh dengan baik pada berbagai media bakteriologi di bawah suasana aerobik atau mikroaerofilik. Tumbuh dengan cepat pada temperatur 37° C, namun pembentukan pigmen yang terbaik adalah pada temperatur kamar (20-35°C). Staphylococcus menghasilkan katalase yang membedakannya dengan Streptococcus. Staphylococcus memfermentasi karbohidrat, menghasilkan asam laktat dan tidak menghasilkan gas (Jawetz *et al.*, 2001).

Staphylococcus bisa menyebabkan penyakit melalui kemampuannya memperbanyak diri dan menyebar secara luas di dalam jaringan.

Selain itu juga melalui substansi ekstraseluler yang dihasilkannya, seperti :

a. Katalase

Staphylococcus menghasilkan katalase yang mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen. Test katalase berfungsi untuk membedakan genus *staphylococcus* dan *streptococcus*, dimana pada genus *staphylococcus* memberikan hasil yang positif dengan ditandai terbentuknya gelembung udara dan *streptococcus* memberikan hasil yang negatif (Jawetz *et al.*, 1996).

b. Koagulase

Staphylococcus aureus menghasilkan koagulase, suatu protein mirip enzim yang dapat menggumpalkan plasma yang telah diberi oksalat atau sitrat dengan bantuan suatu faktor yang terdapat dalam banyak serum. Faktor serum bereaksi dengan koagulase untuk menghasilkan esterase dan menyebabkan aktivitas pembekuan, dengan cara yang mirip dengan pengaktifan protrombin menjadi trombin. Koagulase dapat mengendapkan fibrin pada permukaan *Staphylococcus*, yang mungkin dapat mengubah pola pemakanan bakteri oleh sel-sel fagosit atau perusakannya dalam sel ini (Jawetz *et al.*, 1996).

c. Enzim-enzim lain

Beberapa enzim lain yang diproduksi oleh *staphylococcus* antara lain : staphylokinase, proteinase, kinase dan beta laktamase (Todar, 2002).

d. Eksotoksin

Termasuk dalam kelompok ini adalah beberapa toksin yang dapat menyebabkan kematian pada binatang yang terinfeksi, nekrosis pada kulit dan mengandung hemolisin yang dapat dipisah melalui elektroforesis. Yang termasuk dalam kelompok ini, antara lain : alfa toksin, beta toksin, delta toksin, gamma toksin dan leukotoksin (Todar, 2002).

Staphylococcus mengandung antigen polisakarida dan protein seperti zat lain yang penting dalam struktur dinding sel. Genus *Staphylococcus* sedikitnya memiliki 30 spesies. Ada tiga tipe yang berkaitan dengan medis yaitu *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Staphylococcus saprophyticus*. *Staphylococcus* dapat menyebabkan penyakit karena kemampuannya melakukan pembelahan dan menyebar luas ke dalam jaringan dan melaui produksi beberapa bahan ekstraseluler. Beberapa dari bahan tersebut adalah enzim, yang lain dapat berupa toksin, meskipun fungsinya adalah sebagai enzim. Beberapa toksin berada dibawah kontrol genetik plasmid, beberapa di bawah kontrol baik kromosom maupun ekstrakromosom (Jawetz *et al.*, 2001).

5. *Staphylococcus epidermidis*

a. Sistematika Bakteri

Sistematika *Staphylococcus epidermidis* adalah sebagai berikut :

Divisio	: Protopyta
Classis	: Schizomycetes
Ordo	: Eubacteriales
Familia	: Micrococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Species	: <i>Staphylococcus epidermidis</i> (Salle, 1961).

b. Morfologi dan identifikasi

Staphylococcus epidermidis merupakan bakteri Gram positif berbentuk bola dengan diameter 1µm yang tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur. Pada biakan cair tampak bentuk coccus tunggal, berpasangan, berbentuk rantai. Bakteri ini tumbuh baik pada berbagai media bakteriologi dibawah suasana aerobik. Tumbuh dengan cepat pada temperatur 37°C namun pembentukan pigmen yang terbaik pada temperatur kamar (20-35°C). Sedangkan koloni pada media padat berbentuk bulat, lembut dan mengkilat. Koloni *Staphylococcus epidermidis* ini biasanya berwarna abu-abu hingga putih terutama pada isolasi primer, beberapa koloni menghasilkan pigmen hanya pada inkubasi yang diperpanjang. *Staphylococcus epidermidis* non patogenik, tidak bersifat invasif, koagulase negatif dan cenderung menjadi nonhemolitik (Jawetz *et al.*, 2001). *Staphylococcus epidermis* bersifat koagulase negatif, meragi glukosa, dalam keadaan anaerob tidak meragi manitol (Anonim,1994).

c. Patogenesis

Staphylococcus epidermidis terdapat sebagai flora normal pada kulit manusia dan pada umumnya, tidak menjadi masalah bagi orang normal yang sehat. Akan tetapi, kini organisme ini menjadi patogen oportunistik yang menyebabkan infeksi nosokomial pada persendian dan pembuluh darah. Organisme itu juga penyebab infeksi saluran kencing, terutama pada pasien anak-anak dan laki-laki lanjut usia yang telah mengalami penggunaan instrumen uretra. Kuman ini dapat merupakan penyebab infeksi kulit yang ringan yang disertai pembentukan abses dan infeksi tertentu khususnya endokarditis. Kuman ini juga disebut sebagai *Staphylococcus albus* (Anonim, 1994). *Staphylococcus epidermidis* menimbulkan infeksi pada neonatus, orang-orang yang sistem kekebalannya rendah, dan pada penderita yang menggunakan alat yang dipasang di dalam tubuh (Hart dan Shears, 2004).

6. Isolasi dan Identifikasi Bakteri

1. Isolasi Bakteri

Isolasi bakteri digunakan untuk memisahkan biakan atau bakteri campuran dengan menggunakan media kultur sehingga diperoleh isolat atau biakan murni.

Metode atau cara isolasi dapat dilakukan dengan berbagai cara antara lain:

a. Cara goresan (*Streak Plate Methode*)

Cara ini dilakukan dengan menggoreskan bahan yang mengandung bakteri pada permukaan media agar yang sesuai dalam cawan petri.

Setelah diinkubasi maka pada media bekas goresan akan timbul koloni terpisah.

b. Cara Taburan (*Pour Plate Methode*)

Cara ini dilakukan dengan menginokulasikan media agar yang sedang mencair pada suhu 50°C dengan suspensi bahan yang mengandung bakteri atau memasukkannya kedalam cawan petri steril. Setelah diinkubasi akan terlihat koloni-koloni tersebar di seluruh bagian media agar (Hadioetomo, 1985).

2. Pewarnaan Gram

Metode pewarnaan atau pengecatan Gram ditemukan oleh Christian Gram pada tahun 1884. Berdasar sifat bakteri terhadap cat Gram, bakteri dapat digolongkan menjadi Gram positif dan Gram negatif.

Ada beberapa teori tentang dasar perbedaan kedua golongan tersebut :

a. Teori Salton

Teori ini berdasarkan kadar lipid yang tinggi (20 %) di dalam dinding sel bakteri Gram negatif. Zat lipid ini larut selama pencucian dengan alkohol. Pori-pori pada dinding sel membesar, sehingga zat warna yang sudah diserap mudah dilepaskan dan bakteri menjadi tidak berwarna.

Bakteri Gram positif mengalami denaturasi protein pada dinding selnya oleh pencucian dengan alkohol. Protein menjadi keras dan beku, pori-pori mengecil sehingga kompleks ungu kristal Iodium dipertahankan dan bakteri tetap berwarna ungu.

b. Teori Permeabilitas Dinding Sel

Teori ini berdasarkan tebal-tipisnya lapisan peptidoglikan dalam dinding sel. Bakteri Gram positif mempunyai susunan dinding yang kompak dengan lapisan peptidoglikan yang terdiri dari 30 lapisan. Permeabilitas dinding sel kurang dan kompleks ungu kristal iodium tidak dapat keluar.

Bakteri Gram negatif mempunyai lapisan peptidoglikan yang tipis, hanya 1-2 lapisan dan susunan dinding sel tidak kompak. Permeabilitas dinding sel lebih besar sehingga masih memungkinkan terlepasnya kompleks ungu kristal iodium (Anonim, 2004).

Pewarnaan atau pengecatan Gram mengidentifikasikan bahwa bakteri Gram positif adalah bakteri yang pada pengecatan Gram tahan terhadap alkohol sehingga tetap mengikat cat pertama (cat Gram A) dan tidak mengikat cat kontras (cat Gram D) sehingga bakteri akan berwarna ungu. Bakteri Gram negatif adalah bakteri yang pada pengecatan Gram tidak tahan alkohol sehingga warna cat yang pertama (cat Gram A) dilunturkan dan bakteri akan mengikat warna kontras (cat Gram D) sehingga bakteri akan berwarna merah (Anonim, 2004).

3. Pemeriksaan Biokimiawi

a. Uji Katalase

Pemeriksaan ini bertujuan untuk membedakan jenis bakteri Gram positif antara *Streptococcus* (negatif) dan *Staphylococcus* (positif). Dasar pemeriksaan ini adalah kemampuan bakteri yang dapat

melakukan katalase, dimana mampu menguraikan H_2O_2 dan mengeluarkan gelembung oksigen (Hart dan Shears, 2004).

b. Uji Koagulase

Bertujuan untuk membedakan kemampuan koagulase positif (*Staphylococcus aureus*) dari bakteri *Staphylococcus* yang negatif. Prinsip uji ini didasarkan atas kemampuan bakteri yang mengandung enzim koagulase sehingga dapat membekukan plasma (Hart dan Shears, 2004).

Staphylococcus aureus mempunyai dua macam koagulase, yaitu :

- 1). Koagulase terikat atau faktor penjendalan yang terikat pada dinding sel bakteri. Bila suspensi bakteri dicampur dengan plasma maka enzim tersebut dapat menggumpalkan fibrin yang ada di dalam plasma membentuk deposit pada permukaan selnya. Kemampuan ini diduga untuk menghindarkan sel dari serangan sel fagosit hospes. Dapat dideteksi dengan *slide test* (untuk uji cepat atau *screening*).
- 2). Koagulase bebas adalah enzim ekstraseluler yang juga dapat menjendalkan fibrin. Dapat dideteksi dengan uji tabung (Anonim, 2004).

c. Uji DNase

DNase adalah enzim ekstraseluler yang dapat memotong DNA menjadi nukleotida yang dapat larut dalam asam, sedangkan DNA tidak larut dalam asam. Cara pemeriksaan uji DNase yaitu bakteri digoreskan pada media agar DNase, kemudian diinkubasikan pada suhu $35^{\circ}C$ selama 18-24 jam, lalu koloni digenangi dengan HCl 1M.

Tes dinyatakan positif bila daerah di sekitar koloni tampak jernih (Anonim, 2004).

d. Uji Manitol

Uji ini dapat digunakan untuk membedakan *Staphylococcus aureus* dan yang lain karena pada umumnya *Staphylococcus aureus* mampu memfermentasi manitol dalam keadaan anaerob, sedangkan spesies yang lain jarang. Ada dua cara pemeriksaan, yaitu :

- 1). Satu koloni bakteri diinokulasikan pada media agar manitol di dalam tabung, dengan cara menusukkan ke bawah sepanjang tabung, kemudian diinkubasikan pada 35⁰C selama 48 jam. Dinyatakan positif bila terjadi perubahan warna menjadi kuning pada bagian atas dan bawah media tersebut.
- 2). Bakteri digoreskan pada agar garam manitol (*Manitol Salt Agar* = MSA) dan diinkubasikan pada 37⁰C selama 36 jam. Bila daerah disekitar koloni berwarna kuning menunjukkan bahwa bakteri tersebut adalah *Staphylococcus aureus* (Anonim, 2004).

e. Uji Novobiosin

Uji ini dilakukan untuk membedakan *Staphylococcus epidermidis* dengan *Staphylococcus saprophyticus*. *Staphylococcus epidermidis* bersifat sensitif terhadap novobiosin sedangkan *Staphylococcus saprophyticus* bersifat resisten terhadap novobiosin (Levinson, 2004).

7. Antibiotik

Antibiotik ialah zat yang dihasilkan oleh suatu mikroba, terutama fungi, yang dapat menghambat atau dapat membasmi mikroba jenis lain. Obat yang digunakan untuk membasmi mikroba, penyebab infeksi pada manusia, ditentukan harus memiliki sifat toksisitas selektif setinggi mungkin. Artinya obat tersebut haruslah berifat sangat toksik untuk mikroba, tetapi relatif tidak toksik untuk hospes (Setiabudy dan Gan, 1995).

Berdasar mekanisme kerjanya, antimikroba dibagi dalam lima kelompok:

a. Yang mengganggu metabolisme sel mikroba

Antimikroba yang termasuk dalam kelompok ini ialah sulfonamide, trimetopim, asam amino salisilat (PAS) dan sulfon. Dengan mekanisme kerja ini diperoleh efek bakteristatik.

b. Yang menghambat sintesis dinding sel mikroba

Obat yang termasuk dalam kelompok ini ialah penicillin, sefalosporin, basitrasin, vankomisin, dan sikloserin. Dinding sel bakteri terdiri dari polipeptidoglikan yaitu suatu kompleks polimer mukopeptida (glikopeptida). Oleh karena tekanan osmotik dalam sel kuman lebih tinggi daripada diluar sel maka kerusakan dinding sel kuman akan menyebabkan terjadinya lisis, yang merupakan dasar efek bakterisidal pada kuman yang peka.

c. Yang mengganggu keutuhan membran sel mikroba

Obat yang termasuk dalam kelompok ini adalah polimiksin, golongan polien serta berbagai antimikroba kemoterapeutik,

umpamanya antiseptik *surface active agent* yaitu antiseptik yang mengubah tegangan permukaan, dapat merusak permeabilitas selektif dari membran sel mikroba. Kerusakan membran sel menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel mikroba yaitu protein, asam nukleat, nukleotida dan lain-lain.

d. Yang menghambat sintesis protein sel mikroba

Obat yang termasuk dalam kelompok ini ialah golongan aminoglikosida, makrolid, linkomisin, tetrasiklin dan kloramfenikol.

e. Yang menghambat sintesis asam nukleat sel mikroba

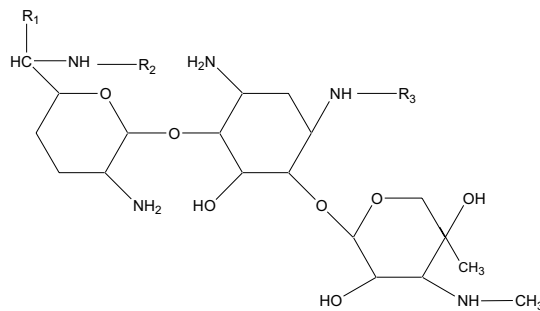
Antimikroba yang termasuk dalam kelompok ini ialah rifampisin, dan golongan kuinolon. Yang lainnya walaupun bersifat antimikroba, karena sifat toksisitasnya, pada umumnya hanya digunakan sebagai obat anti kanker, tetapi beberapa obat dalam kelompok terakhir ini dapat pula digunakan sebagai antivirus (Setiabudy dan Gan, 1995).

Berdasarkan daya kerjanya, antibiotik dibagi dalam dua kelompok, yaitu antibiotik bakteriostatik dan antibiotik bakterisidik. Kelompok pertama menghambat pertumbuhan dan perkembangan bakteri, kelompok yang kedua bekerja mematikan bakteri tersebut. Daya kerja ini nampaknya berkaitan pula dengan mekanisme kerja antibiotika tersebut. Adapun antibiotik yang bekerja menghambat sintesis protein bakteri, bersifat bakteriostatik, contohnya : kelompok tetrasiklin, kloramfenikol, linkomisin, eritromisin. Sedangkan antibiotik yang bekerja menghambat biosintesis dinding sel bakteri, bersifat bakterisidik,

contohnya : penisilin dan derivatnya : basitrasin, kelompok aminoglikosida, polimiksin, rifampisin (Wattimena dkk., 1991).

a. Gentamycin

Gentamycin termasuk dalam antibiotik golongan Aminoglikosida, Gentamycin dihasilkan oleh *Micromonospora purpurea* dan aktif terhadap berbagai macam bakteri Gram positif dan Gram negatif (Pelczar dan Chan, 1988).

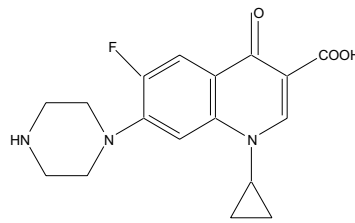


Gambar 1. Struktur Gentamycin

Mekanisme kerjanya adalah aminoglikosida masuk kedalam sel, aminoglikosid terikat pada ribosom 30S dan menghambat sintesis protein. Terikatnya aminoglikosid pada ribosom ini mempercepat transport aminoglikosid ke dalam sel, diikuti kerusakan membran sitoplasma, dan disusul kematian sel. Mekanisme resistensi bakteri terhadap aminoglikosid perlu diketahui untuk mengerti spektrum antimikrobanya. Bakteri dapat resisten terhadap aminoglikosid karena kegagalan penetrasi ke dalam kuman, rendahnya afinitas obat pada ribosom atau inaktivasi obat oleh enzim kuman (Setiabudy dan Gan, 1995).

b. Ciprofloxacin

Ciprofloxacin adalah senyawa bakterisid turunan fluorokuinolon. Strukturnya berhubungan dengan asam nalidiksat tetapi mempunyai khasiat antibakteri lebih besar dan spektrum yang lebih luas dibandingkan asam tersebut. Ciprofloxacin digunakan untuk pengobatan infeksi yang disebabkan oleh bakteri Gram negatif seperti *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella sp*, *Shigella sp*, *Enterobacter*, *Chlamydia sp*, *Salmonella sp*, dan *P. aeruginosa* serta bakteri Gram positif tertentu (Soekardjo dan Siswandono, 2000).



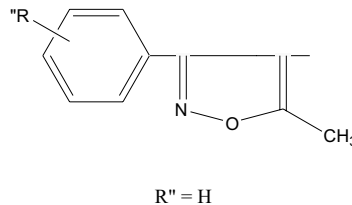
Gambar 2. Struktur Ciprofloxacin

Mekanisme kerja dari antibiotik ini dengan menghambat proses terbentuknya superkoil DNA yang berikatan dengan enzyme gyrase DNA yaitu suatu enzim yang penting pada replikasi dan perbaikan DNA (Shulman dkk., 1994). Resistensi bakteri terhadap antibiotik ini dapat terjadi karena adanya mutasi gen yang mengkode polipeptida sub unit A enzim gyrase DNA (Jawetz *et al.*, 2001).

c. Oxacillin

Oxacillin adalah turunan Penicillin yang tahan terhadap asam dan tahan terhadap enzim penisilinase. Oxacillin menghambat pertumbuhan bakteri dengan jalan menghambat dalam sintesis dinding sel bakteri (Katzung, 2004). Adanya gugus 3-fenil dan 5-metil pada cincin isosaksolil dapat

mencegah pengikatan penisilin dengan sisi aktif β -laktamase dan relatif stabil terhadap hidrolisis asam sehingga dapat diberikan secara oral dengan efek cukup baik (Soekardjo dan Siswandono, 2000).

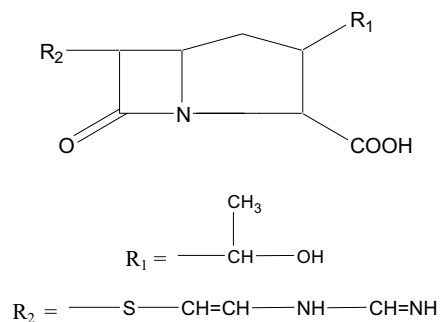


Gambar 3. Struktur Oxacillin

Spektrum antibakterinya serupa dengan penisilin G, digunakan untuk pengobatan infeksi staphylococcus yang tahan terhadap penisilin G. Kekuatan antibakterinya lebih rendah dibanding penisilin V (Soekardjo dan Siswandono, 2000). Khasiat oxacillin terhadap staphylococcus jauh lebih ringan (Tjay dan Raharja, 2002).

d. Imipenem

Imipenem suatu turunan tienamisin. Tienamisin diproduksi oleh *Streptomyces cattleya*. Imipenem mengandung cincin betalaktam dan cincin lima segi tanpa atom sulfur.

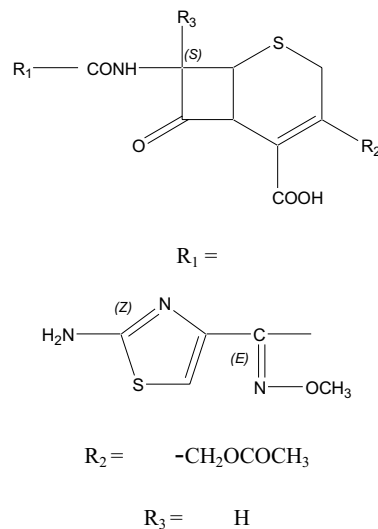


Gambar 4. Struktur Imipenem

Mekanisme kerja imipenem menghambat sintesis dinding sel kuman. Obat ini berspektrum sangat luas, termasuk kuman Gram positif dan Gram negatif, baik yang aerobik maupun anaerobik. Imipenem bersifat bakterisid. Selain itu obat ini resisten terhadap berbagai jenis betalaktamase baik yang diperantarai plasmid maupun kromosom. Imipenem sangat aktif terhadap kokus Gram positif, termasuk *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Pneumococcus*, dan *E.faecalis* serta kuman penghasil betalaktamase umumnya. Imipenem digunakan untuk pengobatan infeksi berat oleh kuman yang sensitif, termasuk infeksi nosokomial yang resisten terhadap antibiotik lain (Setiabudy dan Gan, 1995).

e. Cefotaxim

Cefotaxim adalah antibiotik golongan betalaktam yaitu sefalosporin generasi ketiga. Sefalosporin berasal dari ungus *Cephalosporium acremonium* yang diisolasi pada tahun 1948 oleh Brotzu.



Gambar 5. Struktur Cefotaxim

Mekanisme kerja antimikroba sefalosporin ialah dengan menghambat sintesis dinding sel mikroba. Cefotaxim sangat aktif terhadap kuman Gram positif maupun Gram negatif aerobik. Obat ini efektif untuk pengobatan meningitis oleh bakteri Gram negatif (Setiabudy dan Gan, 1995).

f. Novobiosin

Novobiosin berasal dari *Streptomyces niveus*. Berkhasiat bakterisid terhadap terutama bakteri Gram positif dan khususnya staphylococcus resisten. Novobiosin bersifat baik bakteriostatik maupun bakterisid.

Efek samping agak sering terjadi dan berupa reaksi-reaksi alergi, nausea dan muntah-muntah, urtikaria, dermatitis dan demam, kadang-kadang leucopenia (Tjay dan Rahardja, 1986).

8. Uji Sensitivitas Antibiotik

a. Difusi

Pada metode Difusi, media yang dipakai adalah agar Mueller Hinton.

Ada beberapa cara pada metode difusi ini, yaitu :

1). Cara Kirby Bauer

Suspensi bakteri ditambah aquades steril hingga kekeruhan tertentu sesuai dengan standart konsentrasi kuman 10^8 CFU per ml, suspensi kuman diratakan pada permukaan media agar dengan kapas lidi steril kemudian diletakkan kertas samir (disk) yang mengandung antibiotika diatasnya, diinkubasi 37° C selama 19-24 jam. Hasil dinyatakan dengan *zone radical* yaitu suatu daerah di sekitar disk di mana sama

sekali tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri. Potensi antibiotik diukur dengan mengukur diameter dari zona radikal. *Zone irractical* adalah suatu daerah di sekitar disk yang menunjukkan pertumbuhan bakteri dihambat oleh antibiotika tersebut, tapi tidak dimatikan. Di sini akan terlihat adanya pertumbuhan yang kurang subur atau lebih jarang, dibanding dengan daerah di luar pengaruh antibiotika tersebut (Anonim, 2004).

2). Cara Sumuran

Pada prinsipnya sama dengan cara Kirby Bauer, hanya saja setelah suspensi diratakan pada media agar kemudian pada agar tersebut dibuat sumuran dengan garis tengah tertentu menurut kebutuhan. Dalam sumuran, lalu ditetaskan larutan antibiotika yang digunakan. Diinkubasi pada 37° C selama 18-24 jam. Dibaca hasilnya, seperti pada cara Kirby Bauer (Anonim, 2004).

3). Cara Pour Plate

Urutan sama dengan cara Kirby Bauer, tetapi setelah dibuat suspensi kuman dengan larutan BHI sampai konsentrasi standar (10^8 CFU/ml), lalu dengan menggunakan ose khusus diambil dimasukkan ke dalam 4 ml agar base 1,5 % dengan suhu 50°C (diambil dari waterbath). Setelah itu suspensi kuman tersebut dibuat homogen, dan dituang pada media agar Mueller Hinton, ditunggu sampai beku dan kemudian dipasang disk antibiotika. Diinkubasi selama 15-20 jam pada suhu

37°C. Kemudian dibaca dan disesuaikan dengan standar masing-masing antibiotika (Anonim, 2004).

b. Dilusi Cair / Dilusi Padat

Pada prinsipnya antibiotika diencerkan hingga diperoleh beberapa konsentrasi. Pada dilusi cair, masing-masing konsentrasi obat ditambah suspensi kuman dalam media. Sedangkan pada dilusi padat tiap konsentrasi obat dicampur dengan media agar, lalu ditanami kuman (Anonim, 2004).

9. Resistensi Terhadap Antibiotik

Resistensi sel mikroba adalah suatu sifat tidak terganggunya sel mikroba oleh antimikroba. Sifat ini dapat merupakan suatu mekanisme alamiah untuk bertahan hidup (Setiabudy dan Gan, 1995).

Resistensi bakteri terhadap antibiotik membawakan masalah tersendiri yang dapat menggagalkan terapi dengan antibiotik. Resistensi dapat merupakan masalah individual epidemiologik. Resistensi adalah ketahanan mikroba terhadap antibiotik tertentu yang dapat berupa resistensi alamiah, resistensi karena adanya mutasi spontan (resistensi kromosomal) dan resistensi karena adanya faktor R pada sitoplasma (resistensi ekstrakromosomal) atau resistensi karena pemindahan gen yang resisten atau faktor R atau plasmid (resistensi silang).

a. Resistensi Alamiah

Beberapa mikroba tidak peka terhadap antibiotik tertentu karena sifat mikroba secara alamiah tidak dapat diganggu oleh antibiotik tersebut.

Hal ini disebabkan oleh tidak adanya reseptor yang cocok untuk dinding sel mikroba sehingga tidak dapat ditembus oleh antibiotik. Oleh sebab itu antibiotik tersebut mempunyai kekosongan dalam spektrum kerjanya.

b. Resistensi Kromosomal

Resistensi kromosomal terjadi karena mutasi spontan pada gen kromosom dengan frekuensi $1 : 10^7$ sampai $1 : 10^{12}$. Kromosom yang telah termutasi ini dapat dipindahkan sehingga terjadi populasi yang resisten. Pemindahan kromosom ini mengakibatkan terjadi resistensi silang. Pada mutasi spontan terjadi seleksi oleh antibiotik di mana bibit yang peka akan musnah dan bibit yang resisten akan tetap dan berkembang biak (Wattimena dkk.,1991).

Resistensi kromosomal dapat dibagi menjadi dua golongan yaitu:

- 1). Resistensi kromosomal primer di mana mutasi terjadi sebelum pengobatan dengan antibiotik dan selama pengobatan terjadi seleksi bibit yang resisten.
- 2). Resistensi kromosomal sekunder di mana mutasi terjadi selama kontak dengan antibiotik kemudian terjadi seleksi bibit yang resisten.

Penyebab terjadi resistensi mikroba adalah penggunaan antibiotik yang tidak tepat, misalnya penggunaan dengan dosis yang tidak memadai, pemakaian yang tidak teratur atau tidak kontinu, demikian juga waktu pengobatan yang tidak cukup lama. Maka untuk mencegah atau

memperlambat timbulnya resistensi mikroba, harus diperhatikan cara-cara penggunaan antibiotik yang tepat (Wattimena dkk., 1991).

Dalam resistensi ekstrakromosomal, yang berperan adalah faktor R yang terdapat diluar kromosom yaitu didalam sitoplasma. Faktor R ini diketahui membawakan resistensi bakteri terhadap berbagai antibiotik. Faktor R dapat dipindahkan dari bakteri yang satu ke bakteri yang lain sehingga terjadi resistensi silang. Dengan cara ini suatu bakteri dapat memperoleh sekaligus gen yang resisten terhadap enam sampai tujuh antibiotik. Pemindahan faktor R umumnya terjadi secara konjugasi, sedangkan pemindahan plasmid diantara berbagai staphylococcus terjadi secara transduksi (Wattimena dkk., 1991).

Staphylococcus sensitif terhadap beberapa antimikroba. Resistensinya dikelompokkan dalam bermacam-macam golongan :

- a). Biasanya menghasilkan enzim beta laktamase, yang berada dibawah kontrol plasmid, dan membuat organisme resisten terhadap beberapa penisilin (penisilin G, ampicilin, tikarsilin, piperasilin, dan obat-obat yang sama). Plasmid ditransmisikan dengan transduksi dan kadang juga dengan konjugasi.
- b). Resisten terhadap nafsilin (dan terhadap metisilin dan oxacillin) yang tidak tergantung pada produksi beta laktamase. Mekanisme resistensi nafsilin berkaitan dengan kekurangan PBP (*Penicillin Binding Protein*) tertentu dalam mikroorganisme.

- c). Akibat sifat toleran berdampak bahwa staphylococcus dihambat oleh obat tetapi tidak dibunuh oleh obat tersebut, misalnya pada perbedaan yang besar antara KHM (Kadar Hambat Minimal) dan KBM (Kadar Bunuh Minimal) dari obat antimikroba. Toleransi suatu saat dapat dihubungkan dengan kurangnya aktivasi enzim autolitik dalam dinding sel.
- d). Plasmid juga dapat membawa gen untuk resistensi terhadap tetrasiklin, eritromisin, aminoglikosida dan obat-obat lainnya. Hanya pada beberapa galur staphylococcus, hampir semua masih peka terhadap vankomisin (Jawetz *et al.*, 1996).

10. Media

Media adalah kumpulan zat-zat organik yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri dengan syarat-syarat tertentu, oleh karena itu media pembiakan harus mengandung cukup nutrisi untuk pertumbuhan bakteri (Tambayong, 2000). Syarat-syarat media yang digunakan untuk mendapatkan suatu lingkungan yang cocok bagi pertumbuhan bakteri adalah

a. Susunan Makanan

Media yang digunakan untuk pertumbuhan harus mempunyai :

- 1). Air, digunakan untuk pertumbuhan bakteri, menjaga kelembaban, dan untuk pertukaran zat (metabolisme).
- 2). Sumber karbon, bakteri dapat menggunakan senyawa karbon sederhana seperti CO_2 dan CH_4 atau senyawa karbon yang kompleks.
- 3). Sumber nitrogen, dapat digunakan unsur nitrogen sendiri atau senyawa nitrogen sederhana lainnya seperti NO_2 , NO_3 , NH_3 .

- 4). Mineral, dibutuhkan dalam jumlah agak besar dan terutama digunakan untuk menjaga agar tetap dalam keadaan isotonis serta agar dapat menjaga pH yang optimal.
- 5). Vitamin, dibutuhkan oleh beberapa bakteri tertentu.
- 6). Gas, bakteri membutuhkan gas tertentu dalam kehidupannya, baik CO₂ ataupun O₂.

b. Tekanan Osmose

Sifat bakteri hampir sama dengan sifat sel yang lain terhadap tekanan osmose, sehingga bakteri untuk pertumbuhannya membutuhkan media yang isotonis. Bila media tersebut hipotonis maka media tersebut akan mengalami *plasmoptysis*, sedangkan bila media tersebut hipertonis maka akan terjadi *plasmolysis*.

c. Derajat Keasaman (pH)

Umumnya bakteri membutuhkan pH netral. Namun, ada bakteri tertentu yang membutuhkan pH yang sangat alkalis (*vibrio*), yang membutuhkan pH sekitar 8-10 untuk pertumbuhan optimalnya.

d. Temperatur

Untuk mendapatkan pertumbuhan yang optimal, bakteri membutuhkan suhu tertentu. Umumnya untuk bakteri yang patogen membutuhkan temperatur sekitar 37°C, sesuai dengan temperatur tubuh. Namun ada bakteri patogen yang membutuhkan sekitar 42°C seperti *Camphylobacter*.

e. Sterilitas

Sterilitas media merupakan syarat yang sangat penting. Untuk mendapatkan media yang steril maka setiap tindakan (pengambilan media, penuangan media, dan lain-lain) serta alat-alat yang digunakan harus steril dan dikerjakan secara aseptik (Anonim, 2004).

11. Sterilisasi dan Desinfektan

Sterilisasi diidentifikasi tindakan untuk membebaskan alat dan media dari mikroba hampir semua tindakan yang dilakukan dalam diagnosis mikrobiologis. Sterilisasi diutamakan baik alat-alat yang digunakan maupun medianya. Suatu alat atau bahan dikatakan steril apabila alat atau bahan tersebut bebas dari mikroba baik dalam bentuk vegetatif maupun spora (Suriawiria, 1986).

Sterilisasi secara fisik adalah sterilisasi menggunakan faktor-faktor fisika misalnya temperatur tinggi, penyinaran, uap panas. Sterilisasi dapat dibagi menjadi:

a. Sterilisasi dengan pemanasan dapat dilakukan melalui :

1). Pemanasan langsung (*incinerator*)

Sterilisasi cara ini terutama digunakan untuk mensterilkan alat-alat yang terbuat dari bahan logam (ose, pinset), platina, nikrom dan alat-alat yang terbuat dari gelas (ujung pipet, bibir tabung, mulut erlenmeyer pada penuangan media).

2). Pemanasan kering dengan udara panas

Sterilisasi ini dilakukan dengan alat oven terutama untuk sterilisasi alat-alat gelas dan juga untuk bahan-bahan minyak dan powder seperti talk. Diatur dengan suhu berkisar antara $160^{\circ} - 170^{\circ}\text{C}$ selama 90 – 120 menit.

3). Pemanasan basah langsung

Sterilisasi ini dilakukan dengan menggunakan alat sterilisasi rebus atau panci diisi air secukupnya. Alat-alat yang disterilkan misalnya gunting, pinset, jarum, skapel. Cara pemanasan basah adalah mencuci alat-alat yang akan disterilkan kemudian dimasukkan dalam sterilisator dan dipanasi sampai mendidih.

4). Pemanasan basah tidak langsung (dengan uap air panas)

Sterilisasi dengan metode ini dipengaruhi oleh adanya tekanan, dibagi menjadi :

a). Pemanasan dengan uap air panas tanpa tekanan

Sterilisasi ini digunakan untuk mensterilkan media yang akan rusak bila disterilkan dengan uap air panas bertekanan (menggunakan *autoclave*). Sterilisasi ini dikerjakan dengan pemanasan 100°C selama 60 menit. Pada cara sterilisasi ini spora tidak mati.

b). Pemanasan dengan uap air bertekanan (*autoclave*)

Digunakan untuk sterilisasi media yang tahan terhadap pemanasan tinggi. Sterilisasi dikerjakan dengan *autoclave* pada suhu 120°C selama 10-20 menit.

Sterilisasi basah lebih cepat bila dibandingkan dengan sterilisasi kering karena pada sterilisasi basah terjadi proses koagulasi protein. Sedangkan pada sterilisasi kering terjadi oksidasi protein (Anonim, 2004).

b. Sterilisasi kimia

Desinfektan adalah bahan kimia yang dapat membunuh sel vegetatif mikroba pada obyek yang tidak hidup karena dapat merusak jaringan. Prosesnya disebut desinfeksi. Desinfektan adalah destruksi mikroorganisme vegetatif tetapi tidak spora. Infeksi dapat terjadi apabila terdapat mikroorganisme dalam jumlah besar. Tujuan desinfeksi adalah menurunkan jumlah mikroorganisme. Membunuh semua mikroorganisme merupakan hal yang sulit dan mahal sehingga biasanya dilakukan dengan berusaha menghancurkan sebagian besar dari mikroorganisme (Anonim, 2004).