

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. *Staphylococcus aureus*

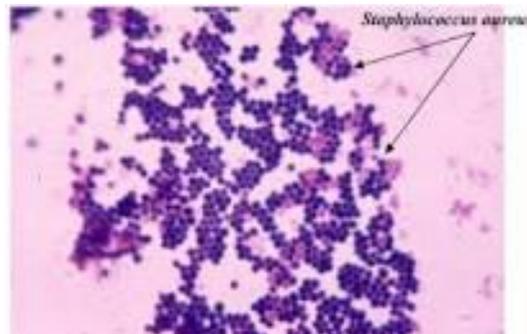
#### 2.1.1. Sejarah dan Morfologi *S. aureus*

*Staphylococcus aureus* merupakan nama spesies yang merupakan bagian dari genus *Staphylococcus*. *S. aureus* adalah bakteri flora normal pada kulit, mulut, dan saluran pernapasan bagian atas. *S. aureus* dapat menyebabkan infeksi paru-paru, radang selaput otak, radang tulang, sinusitis, radang amandel, sepsis, dan infeksi kulit serta saluran pencernaan. Bakteri ini merupakan Gram positif berbentuk bulat berdiameter 0,7-1,2  $\mu\text{m}$ , fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak (Hasanah, 2017).

Bakteri ini pertama kali diamati dan dibiakan oleh Pasteur dan Koch. *S. aureus* diteliti secara lebih terinci oleh Ogston dan Rosenbach pada tahun 1880-an. Nama genus *Staphylococcus* diberikan oleh Ogston karena bakteri ini, pada pengamatan mikroskopis berbentuk seperti setangkai buah anggur yang tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur. Sedangkan nama spesies aureus diberikan oleh Rosenbach karena pada biakan murni, koloni bakteri ini terlihat berwarna kuning-keemasan (Madhaiyan *et al.*, 2020).

#### 2.1.2. Klasifikasi *S. aureus*

Domain: *Bacteria*; Kingdom: *Bacteria*; Filum: *Eubacteria*; Kelas: *Firmicutes*; Ordo: *Bacillales*; Famili: *Staphylococcaceae*; Genus: *Staphylococcus*; Species: *S. aureus* (Rosenbach, 1884).



Gambar 2.1 *Staphylococcus aureus* (Toelle, 2014)

### 2.1.3. Penyakit yang Disebabkan oleh *S. aureus*

Rosenbach mengungkapkan bahwa *S. aureus* merupakan penyebab infeksi pada luka dan furunkel. *S. aureus* dikenal secara luas sebagai penyebab infeksi pada pasien pasca bedah dan pneumonia terutama pada musim dingin. Ciri khas infeksi yang disebabkan oleh *S. aureus* adalah radang supuratif (bernanah) pada jaringan lokal dan cenderung menjadi abses. Manifestasi klinis yang paling sering ditemukan adalah furunkel pada kulit dan impetigo pada anak-anak. Infeksi superfisial ini dapat menyebar (metastatik) ke jaringan yang lebih dalam menimbulkan osteomielitis, artritis, endokarditis dan abses pada otak, paru-paru, ginjal serta kelenjar mammae (Kwieceński dan Horswill, 2020).

Pneumonia yang disebabkan *S. aureus* sering merupakan infeksi sekunder setelah infeksi virus *influenza*. *S. aureus* dikenal sebagai bakteri yang paling sering mengkontaminasi luka pasca bedah yang memicu komplikasi. Sumber pencemaran pada infeksi pasca bedah ini di antaranya berasal dari penderita *carrier* seperti dokter, perawat atau petugas kesehatan yang terlibat dalam perawatan dan pembedahan pasien serta peralatan medis yang terkontaminasi. Bila terjadi

bakteriemia, infeksi dapat bersirkulasi dan menyebar ke berbagai organ (Cheung *et al.*, 2021).

## **2.2. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)**

### **2.2.1. Sejarah MRSA**

Perang dunia kedua merupakan momen penting dalam sejarah resistensi *S. aureus* terhadap antimikroba. Berbagai manifestasi infeksi *S. aureus* termasuk sepsis dapat diatasi dengan antimikroba penisilin pada masa itu. Pada tahun 1948 di Inggris, sekitar 60% isolat *S. aureus* telah resisten terhadap penisilin. Pada akhir tahun 1950-an di berbagai negara Eropa angka resistensi *S. aureus* terhadap penisilin telah mencapai 90%. Resistensi terhadap penisilin ini terbukti terjadi karena *S. aureus* memproduksi enzim beta-laktamase (penisilinase) yang dapat memecah cincin beta-laktam penisilin sehingga antimikroba tersebut menjadi tidak aktif (Frickmann, 2018).

Upaya pengobatan infeksi galur *S. aureus* resisten penisilin membuahkan hasil ketika pada tahun 1959 ditemukan antimikroba semisintetik yang tahan terhadap penisilinase yaitu metisilin (*methicillin*). Keberhasilan ini tidak bertahan lama karena ditemukan galur *S. aureus* resisten terhadap metisilin yang dikenal dengan sebutan *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) (Shenoy *et al.*, 2014).

Pembentukan galur MRSA ditemukan pada dua macam isolat yaitu isolat dari penderita yang sebelumnya terpapar metisilin. Hal ini berarti resistensi tersebut bersifat induktif. Isolat lainnya dari penderita yang belum pernah terpapar metisilin

yang berarti resistensi bersifat bawaan (intrinsik). Resistensi intrinsik diduga disebabkan dua hal yaitu karena mutasi spontan atau karena tertular dari pasien *carrier*. MRSA merupakan galur multi-resisten yaitu bakteri ini tidak peka (resisten) terhadap semua golongan beta-laktam, dan terhadap lebih dari 2 antimikroba non beta-laktam seperti makrolida (eritromisin), inhibitor sintesa protein (tetrasiklin, kloramfenikol) dan kuinolon (Andrade *et al.*, 2020).

Segera setelah metisilin dipasarkan, muncul galur MRSA di Inggris dan Afrika pada tahun 1962. Sepuluh tahun kemudian terjadi wabah MRSA di negara-negara Eropa seperti Inggris, Denmark, Perancis, Polandia dan Swiss. Pada saat yang sama juga ditemukan MRSA di Turki, India dan Australia. MRSA pertama kali dilaporkan di Amerika Serikat pada tahun 1968 dan menjadi wabah 10 tahun kemudian. Selama kurun waktu tahun 1970 prevalensi MRSA di Eropa menurun, hal ini diduga karena kebijakan pemakaian antimikroba terutama pengurangan penggunaan tetrasiklin dan diterapkannya standard *higiene*. Tetapi pada saat yang sama di Amerika Serikat dan Australia justru terjadi peningkatan prevalensi MRSA yang terus meningkat hingga tahun 1990-an (Shenoy *et al.*, 2014).

### **2.2.2. Mekanisme Resistensi MRSA**

*S. aureus* berubah menjadi galur resisten metisilin (MRSA) karena mendapat sisipan suatu elemen DNA berukuran besar antara 20-100 kb yang disebut *Staphylococcal Cassette Chromosome mec* (SCCmec). SCCmec terintegrasi ke dalam kromosom *S. aureus* pada regio di dekat origin of replication

(ori) kromosom. SCCmec selalu mengandung *mecA* yaitu gen yang menyandi PBP2a yang mendasari resistensi MRSA (Cafiso *et al.*, 2010).

Resistensi MRSA terhadap metisilin dan terhadap semua antimikroba golongan beta-laktam disebabkan perubahan pada *protein binding penicillin* (PBP) yang normal yaitu PBP 2 menjadi PBP 2a. PBP 2a memiliki afinitas yang sangat rendah terhadap beta laktam sehingga sekalipun bakteri ini dibiakan pada medium mengandung konsentrasi tinggi beta laktam, MRSA tetap dapat hidup dan mensintesa dinding sel (tumbuh). Eksplorasi pada struktur PBP 2a menunjukkan adanya perubahan pada situs pengikatan (*binding site*) yang mengakibatkan rendahnya afinitas. PBP 2a disandi oleh gen *mecA* yang merupakan bagian SCCmec (Kemalaputri *et al.*, 2017).

*Protein binding penicillin* adalah sekelompok protein yang terlibat dalam biosintesa peptidoglikan yaitu mengkatalisa reaksi transpeptidasi (pembentukan anyaman peptida). Peptidoglikan *Staphylococcus* memiliki ciri khas berukuran panjang, berupa struktur anyaman (*cross linkage*) dengan rantai samping pentaglisin yang fleksibel. Peptidoglikan ini menjadi target antimikroba betalaktam. Resistensi terjadi karena produksi enzim beta-laktamase seperti pada galur *S. aureus producing betalactamases* dan perubahan pada struktur PBP seperti yang terjadi pada MRSA (Zhang *et al.*, 2022).

PBP 2 memiliki aktifitas unik yaitu selain sebagai enzim transpeptidase ternyata juga memiliki aktifitas transglukosilase. Afinitas PBP 2a yang sangat rendah terhadap beta laktam mengakibatkan antimikroba ini tidak dapat mempengaruhi reaksi transpeptidasi. Selain itu karena aktifitas transglukosilasi PBP

2a sama sekali tidak terpengaruh oleh beta laktam maka diduga resistensi MRSA juga ditentukan oleh keutuhan fungsi transglukosilasi dari PBP 2a ini (Liana, 2014).

Syarat mutlak resistensi MRSA adalah adanya PBP 2a meskipun dalam jumlah minimal, tetapi ternyata peningkatan produksi PBP 2a tidak berkorelasi dengan homogenitas resistensi. Sepasang galur MRSA dengan *mecA* yang sama dan produksi PBP 2a yang juga sama tinggi ternyata menghasilkan ekspresi resistensi yang berbeda. Faktor genetik lain seperti gen beta-laktamase dan faktor eksternal seperti temperatur, osmolaritas, kandungan ion, tekanan oksigen dan cahaya juga mempengaruhi ekspresi resistensi (Zeng *et al.*, 2016).

### **2.2.3. Pengobatan pada MRSA**

Belum ada terapi infeksi MRSA yang benar-benar efektif. Glikopeptida vankomisin yang merupakan *drug of choice* untuk infeksi MRSA ternyata memiliki efek bakterisidal yang lambat dan sering menimbulkan kegagalan terapi. Masalah menjadi semakin rumit dengan ditemukannya galur MRSA yang menurun kepekaannya terhadap vankomisin dan MRSA yang resisten vankomisin. Antimikroba lain seperti teikoplanin, rifampin, fosfomisin, dan trimetoprim-sulfametoksazol memiliki kemanjuran yang lebih rendah dibandingkan dengan vankomisin. Juga telah terbukti adanya galur MRSA yang resisten terhadap antimikroba tersebut (Geriak, 2019).

Vankomisin adalah prototipe glikopeptida yang diisolasi pertama kali pada tahun 1956 dari jamur *Streptomyces orientalis* di Kalimantan. Zat ini mulai dipakai sebagai antimikroba pada tahun 1958 dan terus meningkat penggunaannya setelah

menyebarnya MRSA. Secara *in vitro*, vankomisin aktif terhadap bakteri Gram positif anaerob seperti *Staphylococcus*. Vankomisin hanya dapat diberikan secara intravena dan tidak dapat diberikan secara intramuskuler (IM) maupun per oral karena akan menimbulkan nyeri dan absorpsi yang buruk pada saluran pencernaan (McGuinness *et al.*, 2017). Vankomisin dikatakan peka/aktif terhadap *Staphylococcus* bila mampu mematikan pada konsentrasi 4 µg/mL, intermediet antara 8-16 µg/mL dan resisten pada konsentrasi 32 µg/mL (CLSI, 2020).

Teikoplanin adalah glikopeptida yang diproduksi oleh *Actinoplanes teichomyceticus*. Teikoplanin aktif terhadap Gram positif, kurang alergenik, tidak membutuhkan monitoring ketat dan lebih mudah diberikan dibandingkan vankomisin. Secara *in vitro* terbukti bahwa kombinasi teikoplanin dengan aminoglikosida bersifat sinergis. Obat ini digunakan untuk menggantikan vankomisin jika terjadi alergi pada pemberian vankomisin (Lai *et al.*, 2013). Kelemahan glikopeptida untuk terapi infeksi MRSA adalah efek bakterisidalnya yang lambat sehingga diperkirakan tidak efektif secara *in vivo* karena memerlukan pemberian berulang, lama untuk mencapai sterilisasi darah dan sangat tinggi tingkat kejadian infeksi berulang (*relapse*) (Zhou *et al.*, 2018).

Trimetoprim pertama kali digunakan untuk mengatasi infeksi bakteri pada manusia pada tahun 1962 dan dikombinasikan dengan sulfonamid menjadi kotrimoksazol pada tahun 1968. Kombinasi kedua obat inhibitor sintesa asam folat ini bersifat sinergis. Kotrimoksazol memiliki kemampuan bakterisidal yang cepat pada konsentrasi 4 kali MIC tetapi tidak direkomendasikan untuk terapi infeksi berat MRSA seperti endokarditis dan pneumonia (Paul *et al.*, 2015). Trimetoprim

aktif terhadap *S. aureus in vitro* pada nilai MIC antara 0.05-1.0 mg/L dan sulfametoksazol 0.4-8.0 mg/L (CLSI, 2020).

Rifampin adalah senyawa semisintetik derivat dari rifamisin-B yaitu antimikroba makrolida yang diproduksi oleh jamur *Streptomyces mediterranei*. Rifampin lebih kuat dan mudah larut dibandingkan dengan rifamisin-B. Pemberian rifampin per oral akan diabsorpsi secara lengkap dan cepat. Selain per oral obat ini dapat pula diberikan secara intra vena (Eum *et al.*, 2021). Rifampin aktif terhadap MRSA dan MSSA dengan MIC antara 0.003-0.3 mg/L (CLSI, 2020).

Fosfomisin adalah produk fermentasi *Streptomyces spp.*, tetapi saat ini sudah dapat dibuat secara sintesis. Obat ini diberikan secara per oral, dan dapat dikombinasi dengan golongan beta-laktam atau aminoglikosida untuk diberikan secara parenteral untuk kasus MRSA sistemik (berat) (Pujol *et al.*, 2021). Kadar MIC efektif terhadap MRSA antara 32-200 mg/L (CLSI, 2020).

### **2.3. Daun Berenuk (*Crescentia cujete*)**

#### **2.3.1. Klasifikasi dan Morfologi Berenuk**

Berenuk memiliki tinggi 6-10 m, dengan batang pendek, bercabang, dengan batang panjang, mahkota terbuka yang khas. Daun tumbuh berkerumun dan bunga tumbuh pada cabang besar atau pada batang, daunnya memiliki panjang 56 cm. Buah berenuk berbentuk bulat atau lonjong, berwarna hijau, halus dan keras, berdiameter 15-20 cm, dan daging buah berwarna putih (Ridwanuloh dan Nurohmah, 2021).

Kingdom: *Plantae*; Subkingdom: *Tracheobionta*; Superdivisi: *Spermatophyta*; Divisi: *Magnoliophyta*; Class: *Magnoliopsida*; Subkelas: *Asteridae*; Ordo: *Scrophulariales*; Famili: *Bignoniaceae*; Genus: *Crescentia*; Species: *C. cujete* (Linnaeus, 1753).



Gambar 2.2 Daun berenuk (dokumentasi pribadi)

### 2.3.2. Manfaat di Masyarakat

Berenuk telah lama digunakan dalam pengobatan tradisional. Daging buah berenuk biasanya digunakan masyarakat untuk mengobati diare, sakit perut, flu, bronkitis, batuk, asma, uretritis, ekspektoran, antitusif, dan pencahar. Daun berenuk digunakan untuk mengobati luka baru, sakit kepala, hipertensi, hematoma, dan tumor (Hasanah, 2017). Untuk obat luka baru dengan cara dipakai sebanyak 10 gram daun berenuk, dicuci dan ditumbuk sampai halus, ditempelkan pada bagian yang luka dan dibalut dengan kain bersih (Sostales, 2016).

### 2.3.3. Kandungan Daun Berenuk

Daun berenuk mengandung beberapa zat antibakteri antara lain flavonoid 0,52%, tanin 0,64% dan fenol 0,46%. Flavonoid pada tumbuhan mempunyai pengaruh farmakologis zat antimikroba. Selain itu flavonoid juga dapat mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi. Tanin mampu menghambat aktivitas kerja enzim pada bakteri, yaitu dengan cara mengikat dan mengendapkan protein pada mukus dan sel epitel mukosa. Sedangkan fenol mempunyai kemampuan untuk merusak membran sel dengan cara menurunkan tegangan permukaan (Hasanah dan Widhiastuti, 2018).

## 2.4. *Minimum Inhibitory Concentration (MIC)*

### 2.4.1. Pengertian Uji MIC

Uji *Minimum Inhibitory Concentration (MIC)* adalah metode yang digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antimikroba suatu zat terhadap mikroorganisme target. Uji MIC dianggap sebagai standar utama (*gold standar*) untuk menentukan kerentanan organisme terhadap antimikroba dan juga digunakan untuk menilai kinerja semua metode pengujian kerentanan lainnya. Uji MIC digunakan di laboratorium diagnostik untuk memastikan resistensi yang tidak biasa atau untuk memberikan jawaban yang pasti ketika hasil batas diperoleh dengan pengujian lain (Andrews, 2001). Uji MIC dapat ditentukan dengan metode difusi cakram maupun dengan metode dilusi atau tabung enceran (Nissa *et al.*, 2018). Uji MIC dinyatakan dalam satuan mg/L atau  $\mu\text{g/mL}$  (Kowalska-Krochmal dan Dudek-Wicher, 2021).

#### **2.4.2. Macam-macam Metode Uji Kepekaan Bakteri**

Metode pengenceran dalam agar yaitu antibiotik diencerkan dalam medium agar dengan konsentrasi tertinggi dan kemudian diencerkan secara bertingkat dengan konsentrasi yang lebih rendah. Bakteri yang diuji ditambahkan ke dalam medium agar yang mengandung antibiotik dengan konsentrasi yang berbeda-beda. Hasil MIC ditentukan sebagai konsentrasi antibiotik terendah yang mencegah pertumbuhan bakteri (Kowalska-Krochmal dan Dudek-Wicher, 2021).

Metode pengenceran menggunakan media cair digunakan untuk menentukan MIC. Dalam metode ini, organisme yang akan diuji diinokulasikan ke dalam tabung reaksi yang berisi larutan pengenceran dengan konsentrasi yang berbeda. Organisme kemudian diinkubasi dalam kondisi yang sesuai, dan MIC ditentukan sebagai konsentrasi terendah dari zat antimikroba yang menghambat pertumbuhan organisme (Andrews, 2001).

Metode gradien melibatkan penggunaan strip atau cawan yang mengandung gradien konsentrasi antibiotik yang telah ditentukan sebelumnya. Bakteri yang diuji ditanam pada piring tersebut dan hasil MIC ditentukan sebagai titik dimana pertumbuhan bakteri berhenti pada strip atau cawan (Kowalska-Krochmal dan Dudek-Wicher, 2021).

### **2.4.3. Hubungan antara MRSA dengan Uji MIC**

Secara fenotipik resistensi MRSA bersifat heterogen artinya dalam satu biakan, nilai MIC sangat bervariasi tergantung tipe SCCmec yang dikandungnya. Ekspresi resistensi MRSA juga dipengaruhi konsentrasi paparan beta-laktam. Pada kondisi terdapat beta-laktam maka nilai MIC akan mendekati nilai sensitif (Witasari *et al.*, 2022).