

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

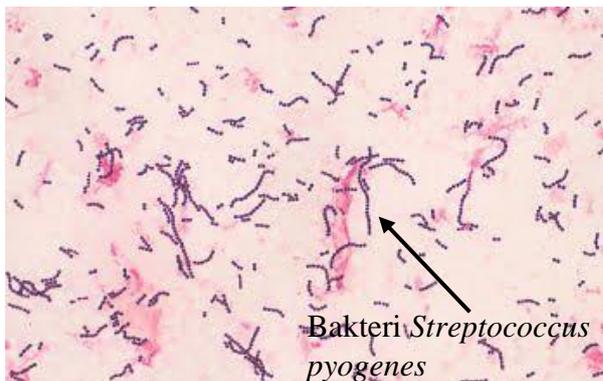
A. Telaah Pustaka

1. Bakteri *Streptococcus pyogenes*

a. Taksonomi (Agustin, 2018)

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Lactobacillales
Famili	: Streptococcaceae
Genus	: <i>Streptococcus</i>
Spesies	: <i>Streptococcus pyogenes</i>

b. Morfologi dan sifat

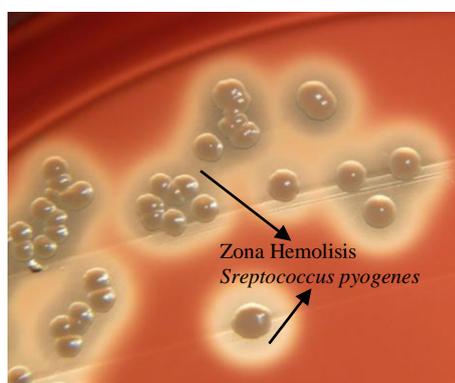


Gambar 1. Morfologi Mikroskopis Bakteri *Streptococcus pyogenes*
Sumber : <http://microbe-canvas.com>

Bakteri *Streptococcus pyogenes* bersifat Gram positif karena memiliki kadar peptidoglikan (>50 %) yang lebih tinggi daripada lapisan lipid dan lipoprotein (0 – 3 %) (Soedarto, 2015).

Bakteri ini tidak berflagel sehingga tidak bergerak (nonmotil). Susunan bakteri ini berderet yang diakibatkan oleh pembelahan pada salah satu bidang dan anak sel tidak memisah secara tuntas seperti pada Gambar 1. (Gupte, 1990).

Bakteri *Streptococcus pyogenes* memiliki kapsul dari asam hialuronat yang dapat diamati di awal pembenihan dan dapat dibedakan dengan *Pneumococcus*. Kapsul ini berfungsi untuk mencegah fagositosis. Dinding sel bakteri *Streptococcus pyogenes* terdiri dari protein (antigen M, T dan R), karbohidrat spesifik dan peptidoglikan. Protein M terdapat pada pili yang berbentuk rambut dalam kapsul bakteri ini dan dilindungi oleh *lipoteichoic acid* untuk membantu melekat pada sel epitelial (Agustin, 2018).



Gambar 2. Zona Hemolisis *Streptococcus pyogenes*
Sumber : www.bacteriainphotos.com

Koloni bakteri *Streptococcus pyogenes* berukuran kecil, berdiameter 0,5 – 1 mm, berwarna kelabu dan dikelilingi zona jernih (Gambar 2.) yang disebabkan oleh hemolisin yang memecah seluruh eritrosit (Soedarto, 2015). Hemolisin yang dihasilkan bakteri ini ada 2 jenis, yaitu : Streptosilin O dan Streptosilin S.

Streptosilin O terdiri dari kolesterol yang dapat menentukan virulensi, tidak tahan oksigen dan pemanasan. Streptosilin S terdiri dari serum lipoprotein tidak khas, nefrotoksik, tidak bersifat antigenik dan tahan panas (Gupte, 1990).

c. Produk ekstraseluler

Bakteri *Streptococcus pyogenes* menghasilkan produk ekstraseluler berupa :

1) Streptokinase

Streptokinase tersusun dari 414 asam amino. Bakteri menyebar melalui jaringan merupakan akibat plasmin. Plasmin tersebut terbentuk dari perubahan plasminogen oleh streptokinase (Pardede, 2009).

2) Streptolisin

Streptolisin terdapat 2 jenis, yaitu : Streptolisin O (*oxygen labile*) dan Streptolisin S (*serum soluble*). Streptolin O dapat menyebabkan demam reumatik pasca *Streptococcus*. Streptolisin S menyebabkan hemolisis pada media agar darah (Pardede, 2009).

3) Hialurodinase

Hialurodinase dapat merusak jaringan dan memecah asam hialuronat. Hal ini menyebabkan infeksi tersebar ke jaringan. Jumlah hialurodinase akan meningkat selama terjadi infeksi (Pardede, 2009).

d. Patogenitas

Kasus kematian 500.000 orang per tahun disebabkan oleh bakteri *Streptococcus pyogenes* patogen nomor satu di dunia. Faringitis streptokoal dan impetigo lebih sering terjadi dan kurang berbahaya. Bakteri ini tidak menyebabkan komplikasi demam rematik pada sendi, ginjal dan katup jantung. Penyebab komplikasinya adalah antibodi yang dihasilkan oleh sistem imun tubuh (Soedarto, 2015).

Bakteri *Streptococcus pyogenes* juga menyebabkan septikemia yang disebabkan oleh infeksi kulit bernanah pada luka. Erisipelas terjadi pada kulit orang tua dengan ciri kulit memerah dan membengkak. Selain itu, dapat menyebabkan sepsis purperalis pada alat kelamin (Gupte, 1990).

e. Pertumbuhan dan pembiakan

Pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes* sangat baik pada media yang mengandung darah, serum atau cairan transudat pada pH 7,4 – 7,6 dan suhu optimal 37°C. Bakteri *Streptococcus pyogenes* mati pada suhu 55°C selama 30 – 60 menit. Bakteri ini tidak tahan dalam tingtur iodine fenol 1/200, kresol 1/75, merkuri krom 2% dan heksilresorcinol 1/1000. Obat yang menyebabkan bakteri ini cepat resisten adalah kloramfenikol, tetrasiklin dan streptomisin (FK UNBRAU, 2003).

2. Media pertumbuhan bakteri

Media pertumbuhan bakteri harus mengandung kebutuhan nutrisi dan faktor-faktor fisik seperti suhu, pH lingkungan ekstraseluler dan kebutuhan oksigen. Setiap bakteri memiliki kebutuhan yang berbeda yang mempengaruhi hasil kultur.

a. Kebutuhan Nutrien

1) Karbon

Karbon diperlukan untuk semua struktur dan fungsi seluler mikroba. Berdasarkan kebutuhan karbon terdapat 2 jenis mikroba, yaitu :

a) Autotrof

Organisme ini hanya bertahan pada media yang mengandung senyawa anorganik yang berbentuk karbon dioksida.

b) Heterotrof

Organisme ini hanya dapat diisolasi pada media organik seperti glukosa (Cappuccino dan Sherman, 2014).

2) Nitrogen

Nitrogen banyak terkandung dalam protein dan asam nukleat. Protein bertanggung jawab atas aktivitas metabolik sel sebagai molekul fungsional dan membentuk sesuatu sebagai molekul struktural. Asam nukleat berperan aktif dalam sintesis protein dalam sel yang terdiri dari *Deoxyribonucleic Acid*

(DNA) dan *Ribonucleic Acid* (RNA) (Cappuccino dan Sherman, 2014).

3) Unsur nonlogam

a) Sulfur

Sulfur termasuk komponen protein yang terintegral dengan beberapa asam amino. Sulfur terdapat pada senyawa organik, anorganik dan unsur sulfur dasar.

b) Fosfor

Seluruh sel mikroba dapat menggunakan garam-garam fosfor untuk mensintesis senyawa organik berenergi tinggi Adenosin Trifosfat (ATP) dan membantu pembentukan DNA dan RNA (Cappuccino dan Sherman, 2014).

4) Unsur logam

Unsur logam yang digunakan untuk aktivitas seluler secara efisien terdiri dari mikronutrien dengan konsentrasi sedikit. Contoh mikronutrien tersebut yaitu ion Ca^{2+} , Zn^{2+} , Na^+ , K^+ , Cu^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} dan Fe^{3+} . Aktivitas seluler tersebut meliputi osmoregulasi, pengaturan aktivitas enzim dan transport elektron selama oksidasi hayati (Cappuccino dan Sherman, 2014).

5) Vitamin

Vitamin merupakan koenzim yang dibutuhkan dalam jumlah sedikit untuk aktivitas metabolik normal (Cappuccino dan Sherman, 2014).

6) Air

Air digunakan untuk membantu nutrient-nutrien berbobot rendah melintasi membran sel (Cappuccino dan Sherman, 2014).

7) Energi

Aktivitas metabolik kehidupan seluler terdiri dari transpor aktif, biosintesis dan biodegradasi makromolekul yang dipengaruhi oleh ketersediaan energi konstan dalam sel. Terdapat 2 tipe bioenergetik mikroorganisme, yaitu :

a) Fototrof

Mikroorganisme memerlukan sumber energi berupa energi radiasi.

b) Kemotrof

Mikroorganisme memerlukan sumber energi dari oksidasi senyawa kimia yang menggunakan senyawa organik seperti glukosa dan anorganik seperti H_2S dan $NaNO_2$ (Cappuccino dan Sherman, 2014).

b. Media pertumbuhan bakteri

1) Media selektif atau diferensial

Media selektif atau diferensial digunakan untuk mengamati morfologi dan biokimia kelompok organisme tertentu. Contoh jenis media ini, yaitu :

a) Agar Garam Manitol

Media ini hanya dapat menumbuhkan bakteri *Staphylococcus* sp. karena kandungan konsentrasi garamnya yang tinggi (NaCl 7,5%) dapat menghambat pertumbuhan bakteri lainnya. Selain itu, media ini juga dapat digunakan untuk melihat aktivitas bakteri *Staphylococcus* sp. memfermentasikan manitol dengan indikator pH fenol merah. Bakteri *Staphylococcus* sp. yang memfermentasikan manitol akan membentuk zona kuning, sedangkan yang tidak akan tetap berwarna merah (Cappuccino dan Sherman, 2014).

b) Agar *Mac Conkey*

Media ini hanya digunakan untuk mengisolasi bakteri Gram negatif. Pertumbuhan bakteri Gram positif dihambat oleh kristal violet. Media ini juga dapat digunakan untuk mengetahui fermentasi laktosa bakteri Gram negatif dengan adanya laktosa, garam empedu dan pH merah netral. Koloni bakteri Gram negatif yang

memfermentasikan laktosa akan berwarna merah karena menghasilkan asam berlebih untuk mengendapkan garam empedu dan mengabsorpsi merah netral. Sedangkan, koloni bakteri Gram negatif yang tidak memfermentasikan laktosa tidak berwarna (transparan) karena tidak menghasilkan asam (Cappuccino dan Sherman, 2014).

c) Agar Eosin Metilen Biru (Levine)

Komposisi media ini terdiri dari laktosa, pewarnaan eosin dan metilen blue. Media ini biasanya digunakan untuk mengidentifikasi bakteri *Escherechia coli* dengan ciri khas koloninya. Bakteri *Escherechia coli* menghasilkan banyak asam dan mengendapkan pewarna ke permukaan pertumbuhan sehingga koloni *Escherechia coli* memiliki ciri khas berwarna biru hitam dan mengkilap hijau metalik (Cappuccino dan Sherman, 2014).

2) Media diperkaya

Media ini sangat baik digunakan untuk kultur organisme karena sudah diperkaya dengan nutrien tinggi seperti darah, serum atau ekstrak khamir. Contoh media ini adalah media agar darah (Cappuccino dan Sherman, 2014).

c. Media *Blood Agar Plate* (BAP)

Media BAP atau media Agar Darah merupakan media yang digunakan untuk kultur bakteri seperti bakteri *Streptococcus* sp.

Media ini mengandung 5 – 10 % darah sehingga dapat untuk melihat aktivitas hemolisis eritrosit oleh bakteri (Cappuccino dan Sherman, 2014).

3. Darah manusia

a. Darah

Darah merupakan cairan jaringan yang berfungsi untuk menyalurkan oksigen ke seluruh sel tubuh, mengangkut hasil sisa metabolisme dan menyusun sistem imun tubuh. Komposisi darah terdiri dari korpuskula 45% dan plasma darah 55%. Korpuskula terdiri dari :

1) Eritrosit 90%

Eritrosit memiliki fungsi utama untuk menyalurkan oksigen ke seluruh sel tubuh dengan hemoglobin. Darah berwarna merah saat heme pada hemoglobin mengikat oksigen.

2) Trombosit 0,6 – 1,0%

Trombosit berperan pada proses pembekuan darah.

3) Leukosit 0,25%

Leukosit sebagai sistem kekebalan tubuh dan fagositosis.

Sedangkan plasma darah merupakan larutan air yang mengandung protein seperti albumin, faktor pembekuan darah dan hormon (Mallo dkk, 2012).

b. Donor darah

Donor darah dilakukan oleh orang yang memiliki riwayat kesehatan baik yang dievaluasi oleh konsultan medis yang bertanggung jawab terhadap pendonor. Pengambilan darah menggunakan sistem tertutup dengan teknik aseptik dan *venepuncture* steril tunggal. Kemudian, darah donor dimasukkan dalam kantung bebas pirogen dan steril yang mengandung antikoagulan serta dilakukan sesuai dengan petunjuk produsen (Kiswari, 2014).

Darah donor sekitar 420 mL dimasukkan ke dalam kantong dengan 120 mL larutan pengawet darah sitrat-fosfat-dekstrose adenin (CPD-adenin). Penyimpanan darah donor dilakukan pada suhu 4°C selama 28 hari dengan persentase jumlah sel yang masih hidup 80%. Darah donor tidak dapat digunakan setelah 35 hari karena terjadi penurunan jumlah sel yang hidup (Jones dan Wickramasinghe, 1995).

c. Darah donor kedaluwarsa

Darah donor yang telah melewati batas masa simpan dan tidak bisa digunakan untuk transfusi. Hal ini disebabkan oleh penurunan jumlah sel yang hidup (Bakta, 2007).

d. Produk darah donor

Produk darah donor terdapat 4 jenis, yaitu :

1) Darah utuh (*whole blood*)

Darah utuh merupakan darah donor sebanyak 250 – 450 mL dengan antikoagulan 15 mL/ 100 mL darah yang memiliki masa simpan sampai 35 hari. Komponen darah seperti trombosit dan faktor pembekuan dapat menurun pada darah yang telah disimpan (Bakta, 2007).

2) Paket sel darah merah (*packed red cell*)

Paket sel darah merah didapatkan dari darah utuh donor yang telah dipisahkan eritrositnya dengan plasma. Pemisahan ini berfungsi untuk memperpanjang masa hidup eritrosit secara *in vitro*. Paket ini memiliki waktu simpan 35 hari pada suhu 2 – 6°C (Bain, 2012).

3) Konsentrat trombosit

Konsentrat trombosit didapatkan dari trombosit 4 donor. Trombosit disimpan pada suhu 20 – 24°C selama 5 hari dan digerakkan pada alat penggoyang otomatis (agigator) (Bain, 2012).

4) Plasma beku segar (*fresh-frozen plasma*)

Plasma beku segar (*fresh-frozen plasma*) merupakan plasma yang membeku secara alami oleh faktor koagulasi dalam plasma dan memiliki masa simpan selama 2 tahun pada suhu

-30°C Plasma beku segar memiliki peran mayor untuk mengoreksi defisiensi faktor VIII dan fibrinogen. (Bain, 2012).

4. Viabilitas bakteri

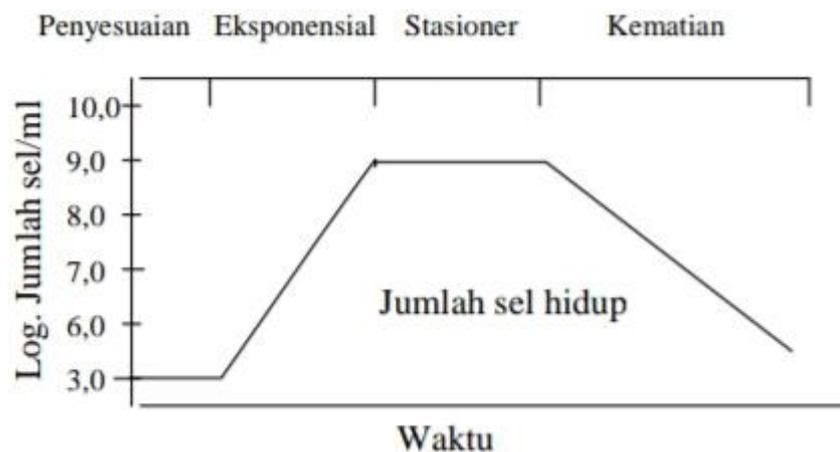
a. Viabilitas bakteri

Viabilitas bakteri merupakan kemampuan pertumbuhan bakteri. Pertumbuhan bakteri ditandai dengan jumlah koloni yang mampu hidup pada pengaruh kebutuhan nutrien dan faktor-faktor fisik (Winarni, 2006). Kemampuan pertumbuhan bakteri dapat diukur dengan pengenceran biakan dengan air steril sampai didapatkan 30 – 300 bakteri pada cawan petri (Volk dan Wheeler, 1988).

Jumlah bakteri akan meningkat jika diinokulasikan pada media yang sesuai. Hal tersebut disebabkan oleh pembelahan sel secara aseksual dengan cara pembelahan biner. Bakteri akan melakukan pembelahan dari satu sel menjadi dua sel dengan cepat pada kondisi optimum. Terdapat 3 fase pembelahan sel, yaitu :

- 1) Fase pertama, terbentuknya sekat tegak lurus memanjang yang membelah sitoplasma sel
- 2) Fase kedua, terbentuknya dinding melintang oleh sekat tersebut dengan lubang kecil yang berguna untuk menghubungkan protoplasma kedua sel (plasmodesmida)
- 3) Fase terakhir, kedua sel terpisah menjadi individu baru (Hakim, 2015)

b. Kurva pertumbuhan bakteri



Gambar 3. Kurva Pertumbuhan Bakteri

Sumber : Winarni, 2006.

1) Fase lag (adaptasi)

Fase ini tidak didapatkan penambahan jumlah sel karena tidak terjadi pembelahan tetapi ukuran sel meningkat karena biosintetis makromolekul seluler untuk mempercepat metabolisme (Cappuccino dan Sherman, 2014).

2) Fase logaritmik (log)

Fase ini terjadi peningkatan eksposional dengan cara pembelahan biner pada kondisi nutrien dan fisik yang optimum. Fase ini memiliki waktu generasi. Waktu generasi adalah waktu yang dibutuhkan untuk menggandakan jumlah populasinya (Cappuccino dan Sherman, 2014).

3) Fase stationer

Fase stationer menunjukkan keseimbangan antara jumlah sel bakteri yang hidup dan mati. Pertambahan jumlah bakteri

disebabkan oleh kecepatan pembelahan sel secara maksimal (Soedarto, 2015).

4) Fase penurunan atau kematian

Fase ini merupakan fase bakteri mulai kekurangan nutrisi dan terbentuk metabolit toksik yang mengakibatkan penurunan jumlah bakteri (Soedarto, 2015).

c. Teknik isolasi bakteri

1) Metode cawan gores

Metode ini melibatkan penyebaran satu ose biakan di seluruh permukaan agar lempeng untuk isolasi kualitatif. Metode ini dapat dilakukan tanpa pengenceran. Metode ini memiliki banyak cara, salah satunya yang sering digunakan adalah metode gores sektor atau kuadran (Cappuccino dan Sherman, 2014).

2) Metode cawan tuang

Teknik ini memerlukan pengenceran organisme pada media agar yang dicairkan, kemudian baru dituangkan pada cawan petri steril secara aseptik hingga media memadat (Harti, 2015).

3) Metode cawan sebar

Teknik ini memerlukan pengenceran organisme sebelum diinokulasi. Teknik ini menggunakan batang bengkok berbentuk huruf "L" steril untuk menyebarkan sel-sel ke permukaan media agar padat. Teknik ini sering digunakan

untuk mempermudah menghitung jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada media (Cappuccino dan Sherman, 2014).

d. Teknik perhitungan bakteri

1) *Total Plate Count* (TPC)

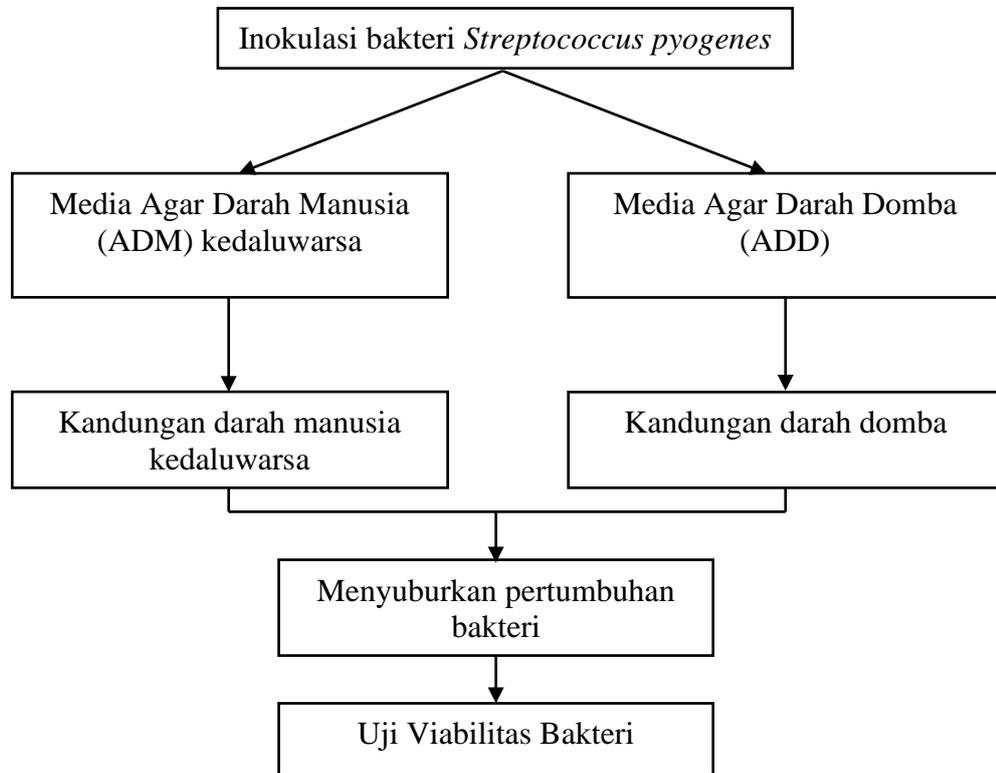
Teknik ini memerlukan pengenceran bakteri secara aseptik sebelum diinokulasi. Bakteri yang sudah diencerkan diinokulasi dengan metode cawan sebar dan diinkubasi. Dihitung jumlah pertumbuhan bakteri pada setiap cawan petri yang ditumbuhi 30 – 300 koloni bakteri (Lizayana dkk, 2016).

2) *Optical Density* (OD)

Teknik perhitungan ini menghitung bakteri berdasarkan absorbansi menggunakan spektrofotometer. Panjang gelombang yang digunakan 610 nm. Teknik ini bisa menggunakan 1 mL sampel (Lizayana dkk, 2016).

B. Kerangka Teori

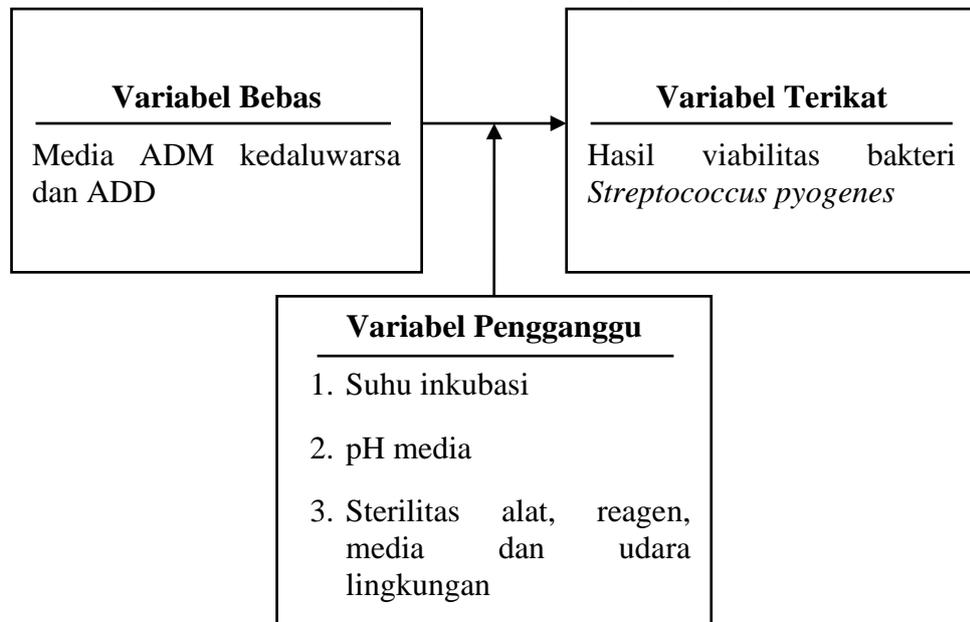
Kerangka teori penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Kerangka teori

C. Hubungan Antar Variabel

Hubungan antar variabel penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 5.



Gambar 5. Hubungan Antar Variabel

D. Hipotesis Penelitian

Tidak ada perbedaan viabilitas bakteri *Streptococcus pyogenes* yang diinokulasi pada media Agar Darah Manusia (ADM) kedaluwarsa dan Agar Darah Domba (ADD).