

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. *Staphylococcus aureus*

a. Klasifikasi dan taksonomi

Klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* menurut Soedarto, 2015 adalah sebagai berikut :

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

b. Morfologi dan sifat fisik

Staphylococcus aureus adalah bakteri berbentuk bulat atau kokus dengan diameter 0,4 – 1,2 μm dan rata-rata 0,8 μm . Bakteri ini bersifat aerob atau anaerob fakultatif. *Staphylococcus aureus* dapat bertahan hidup di lingkungan dengan kadar garam tinggi (halofilik) misalnya NaCl 10 % (Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, 2003).

Staphylococcus aureus bersifat Gram positif pada pewarnaan gram dan berbentuk seperti kelompok anggur jika dilihat di bawah mikroskop. *Staphylococcus aureus* tidak membentuk spora, tidak aktif bergerak (non motil) dan pada uji katalase bersifat katalase positif. Bakteri ini mampu bertahan hidup di lingkungan yang kering dan panas sampai suhu 50°C (Soedarto, 2015).

Stafilokokus memiliki koloni berbentuk bulat, halus dan mengkilat pada media padat. *Staphylococcus aureus* biasanya memiliki koloni yang berwarna abu-abu hingga kuning emas (Brooks dkk, 2005). *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh pada suhu antara 28-38°C atau sekitar 35°C. Suhu optimal untuk pertumbuhan *Staphylococcus aureus* adalah 37°C jika bakteri tersebut diisolasi dari seorang penderita. Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* memerlukan pH optimal sekitar 7,4 (Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, 2003).

c. Daya tahan

Stafilokokus adalah bakteri yang paling tahan terhadap bahan-bahan kimia di antara bakteri yang tidak membentuk spora, sehingga galur stafilokokus tertentu digunakan untuk standar tes evaluasi bahan-bahan antiseptik atau antibiotik misalnya *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. Bakteri ini pada agar miring dalam suhu kamar atau keadaan beku tahan hidup sampai beberapa bulan, sedangkan dalam keadaan kering pada pus dapat hidup 14-16 minggu. Bakteri ini dapat bertahan hidup selama lima belas menit terhadap fenol 2%, tiga menit dalam

hidrogen peroksida 3% dan hanya mampu bertahan hidup selama satu menit dalam tincura iodii (Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, 2003).

Beberapa galur dari *Staphylococcus aureus* resisten terhadap golongan obat penisilin karena menghasilkan enzim penisilinase, tapi biasanya masih peka terhadap golongan penisilin yang tahan terhadap penisilinase misalnya metisilin dan oksasilin (Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, 2003). Stafilocokus yang resisten terhadap metisilin dan oksasilin, memiliki gen *mecA* pada kromosomnya (Brooks dkk, 2005). Galur *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap antibiotik jenis metisilin disebut *Methicillin-resistance Staphylococcus aureus* (MRSA). Sedangkan galur *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap antibiotik jenis vankomisin disebut *Vancomycin- resistance Staphylococcus aureus* (VRSA) (Soedarto, 2015).

d. Struktur antigen

Suatu antigen ditemukan oleh Rantz pada kokus Gram positif dan basil Gram positif. Antigen rantz ini didapat dengan cara ekstraksi dari Stafilocokus galur tertentu menggunakan lisozim. Antigen ini jika disensitisasi sengan sel darah merah dapat menimbulkan pembentukan hemaglutinin dalam serum (Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, 2003).

Staphylococcus aureus memiliki antigen karbohidrat (Ag-KH) dan antigen protein. Antigen karbohidrat tipe A (Ag-KH tipe A)

ditemukan pada strain yang patogen. Reaksi hipersensitif tipe segera (*immediate type*) dalam 20-30 menit berupa *wheal* dan eritema akan terjadi apabila Ag-KH tipe A disuntikkan secara intradermal pada penderita yang terinfeksi stafilokokus (Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, 2003).

Polisakarida murni yang telah dipisahkan dari kompleks karbohidrat-protein tidak bersifat antigenik dan tidak bersifat patogen terhadap kelinci dan tikus putih. Kompleks antigen protein dari stafilokokus akan menghasilkan presipitin bila disuntikkan pada kelinci sedangkan protein yang dimurnikan tidak toksik terhadap kelinci bila disuntikkan secara intradermal (Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, 2003).

Sebagian besar bakteri *Staphylococcus aureus* mengandung suatu komponen yang disebut protein A pada dinding selnya. Protein A ini memiliki berat molekul sekitar 13.000 Da dan berikatan secara kovalen dengan peptidoglikan (Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, 2003). Protein A pada sebagian besar galur *Staphylococcus aureus* dapat berikatan dengan fragmen c (Fc) pada immunoglobulin G (IgG) kecuali IgG3. Fragmen antibodi (Fab) masih bisa bebas berikatan dengan antigen spesifik walaupun IgG terikat pada protein A. Protein A telah dikembangkan menjadi reagen yang penting di laboratorium diagnostik bidang imunologi. Immunoglobulin G (IgG) terhadap antigen spesifik suatu bakteri jika dilekatkan pada protein A, dapat

mengaglutinasi bakteri yang mempunyai antigen tersebut (Brooks dkk, 2005).

e. Metabolit bakterial

Terdapat tiga jenis metabolit pada bakteri stafilokokus, yaitu metabolit non toksin, eksotoksin dan enterotoksin (Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, 2003).

1). Metabolit non toksin

a) Antigen permukaan

Bentuk metabolit non toksin pada bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu antigen permukaan atau materi kapsul. Antigen kapsul ini berfungsi untuk mencegah fagositosis, mencegah reaksi koagulasi dan mencegah melekatnya bakteriofag.

b) Antigen koagulasi

Antigen koagulasi merupakan suatu antigen protein yang dihasilkan oleh *Staphylococcus aureus* (stafilokokus yang patogen). Antigen ini bersifat sebagai *clotting agent*, proteolitik dan esterolitik. Terdapat dua bentuk antigen koagulasi, yaitu *free coagulase* dan *bound coagulase (clumping factor)*. *Free coagulase* dibebaskan ke dalam medium dan memerlukan aktivasi oleh faktor plasma atau CRF (*Coagulase Reacting Factor*) untuk mengubah fibrinogen menjadi fibrin. Plasma yang dipakai adalah plasma darah kelinci dan tes biasanya dilakukan di dalam tabung. *Bound coagulase (clumping factor)*

tidak didapatkan dalam filtrate kultur dan tidak memerlukan aktivasi oleh faktor plasma atau CRF (*Coagulase Reacting Factor*). Plasma yang dipakai adalah plasma dari darah manusia dan tes koagulase dilakukan di atas gelas objek.

Tes koagulase tersebut sangat penting untuk menentukan patogenitas bakteri stafilocokus. *Staphylococcus aureus* pada umumnya memberikan hasil koagulase positif. Bila hasil tes pada gelas objek menunjukkan koagulase negatif maka harus dilakukan tes koagulase tabung. Tes koagulase dengan hasil positif palsu dapat ditunjukkan oleh bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens* dan *Streptococcus faecalis*. Bakteri-bakteri tersebut menggunakan sitrat (antikoagulan dalam plasma) dan membebaskan kalsium menimbulkan reaksi penggumpalan sehingga terjadi reaksi positif palsu. Penggunaan sitrat sebagai antikoagulan perlu digantikan dengan EDTA untuk mengatasi hal tersebut.

Beberapa galur stafilocokus yang menghasilkan fibrinolisin dalam jumlah banyak dapat menunjukkan reaksi negatif palsu pada tes koagulase. Penggumpalan yang seharusnya terjadi oleh koagulase sulit terlihat karena kemungkinan dilisiskan kembali. Tes koagulase dengan masa inkubasi yang lebih lama (24 jam) perlu dilakukan bila dalam waktu 4 jam tidak terbentuk koagulum.

c) Hialuronidase

Hialuronidase dihasilkan oleh 93,6% galur dengan tes koagulase yang positif dan tidak dihasilkan oleh galur dengan tes koagulase negatif. Hialuronidase dapat dihasilkan secara *in vitro* bila medium diperkaya dengan tirosin dan triptofan. Hialuronidase yang dihasilkan menyebabkan bakteri bersifat invasif, tetapi sifat ini hanya terjadi pada fase awal dari infeksi dan cepat dinetralkan pada reaksi peradangan.

d) Stafilokinase (fibrinolisin)

Stafilokinase dihasilkan oleh 80% galur dengan tes koagulase positif. Stafilokokus dengan tes koagulase negatif juga dapat menghasilkan stafilokinase. Enzim ini mengaktivasi enzim protease dalam plasma menghasilkan *lytic agent*. Enzim ini memiliki sifat antigenik dan tidak tahan terhadap panas (*heat labile*).

stafilokinase

Plasminogen $\xrightarrow{\hspace{2cm}}$ plasmin fibrinolitik

e) Protease

Protease merupakan enzim yang bersifat proteolitik. Enzim ini dapat menyebabkan nekrosis pada jaringan yang diinvasi termasuk jaringan tulang.

f) Fosfatase

Fosfatase dapat digunakan untuk menentukan patogenitas bakteri. Galur Stafilokokus dengan tes koagulase positif umumnya lebih banyak menghasilkan fosfatase daripada galur stafilokokus dengan tes koagulase negatif, walaupun kadang-kadang galur stafilokokus dengan tes koagulase negatif dapat menghasilkan fosfatase lebih banyak. Fosfatase kurang dianjurkan jika digunakan untuk menentukan patogenitas bakteri.

g) DNase

DNase merupakan enzim yang diproduksi oleh 90-96% galur stafilokokus dengan tes koagulase positif. Enzim ini tahan terhadap pemanasan (*heat resistant*). Enzim DNase dapat memecah DNA menjadi fosfomononukleotida. Enzim ini terdiri atas rantai polipeptida tunggal dan terdapat pada permukaan sel. Bakteri yang ditanam pada *Deoxyribonuclease Test Medium* dapat memperlihatkan aktivitas DNase. Enzim DNase yang dihasilkan bakteri dapat diamati sebagai daerah terang atau halo pada penuangan HCl atau merah rose dengan toluidine biru di sekitar koloni yang telah dieramkan pada suhu 37°C selama 24-36 jam.

2). Eksotoksin

Eksotoksin pada stafilokokus bersifat mematikan. Eksotoksin ini tidak tahan terhadap panas (*thermo labile*) dan dapat menyebabkan nekrosis pada lapisan dermis. Beberapa eksotoksin dapat dipisahkan dengan elektroforesis yaitu sebagai berikut :

a) Toksin alfa (-toxin)

Toksin alfa bersifat leukosidal atau mematikan leukosit dan makrofag. Toksin ini dapat menyebabkan lisis pada erosit kelinci dan dapat merusak trombosit. Toksin alfa dapat menyebabkan nekrosis dan mempunyai efek letal pada penyuntikan intrakutan. Toksin alfa dapat dipakai untuk menentukan virulensi.

b) Toksin beta (-toxin)

Toksin beta dapat menyebabkan lisis (meskipun lemah) pada eritrosit biri-biri dan bersifat toksik untuk hewan. Toksin ini mempunyai sifat *hold cold type* pada eritrosit sapi, artinya pada BAP (*Blood Agar Plate*) yang dibuat dari darah sapi dan diinkubasikan pada suhu 37°C tampak dekolorisasi di sekitar koloni dan terjadi hemolisis komplis saat didinginkan dalam lemari es selama 24 jam.

c) Toksin delta (*-toxin*)

Toksin delta mempunyai sifat non toksik. Toksin ini dapat merusak sel eritrosit manusia dan kuda.

d) *Panton-Valentin* (PV)

Panton-Valentin (PV) atau leukosidin mempunyai sifat tahan terhadap pemanasan dan non hemolitik. *Panton-Valentin* dapat dinetralisir oleh kolesterol. Metabolit ini bersifat leukosidal atau dapat mematikan sel darah putih pada semua spesies kecuali biri-biri dan bisa dihasilkan oleh beberapa galur dengan tes koagulase negatif.

Eksotoksin atau hemolisin adalah toksin yang dapat melisiskan eritrosit dan akan membentuk zona hemolisis pada media agar darah (Bhakdi dkk, 1989). Eksotoksin memiliki peran penting dalam patogenitas dan merupakan faktor virulensi pada *Staphylococcus aureus* (Moraveji dkk, 2014). Eksotoksin ini juga berkontribusi pada tingkat keparahan penyakit (Da Silva dkk, 2005). Toksin bersifat hemolitik, dermonekrotik dan aktivitas neurotoksiknya dianggap sebagai faktor utama patogenitas *Staphylococcus aureus* (Dinges dkk, 2000). Toksin merupakan sfingomielinase yang dapat melisiskan eritrosit (Larsen dkk, 2002).

3). Enterotoksin

Enterotoksin terutama dihasilkan oleh galur yang mengandung faga grup III atau 30% oleh galur dengan tes koagulase positif. Enterotoksin diproduksi bila bakteri ditanam pada media semi solid dengan konsentrasi CO₂ 30%. Enterotoksin adalah protein yang mempunyai berat molekul sekitar 35.000 Da. Enterotoksin bersifat tahan terhadap pemanasan atau pendinginan selama 30 menit. Toksin ini sering menjadi penyebab dari kasus keracunan makanan. Muntah dan diare pada kasus keracunan makanan dapat terjadi jika seseorang menelan enterotoksin lebih dari 25µg.

4). Toksin epidermolitik

Toksin epidermolitik dapat menyebabkan terjadinya *scaled skin syndrome*. Sindrom ini ditandai dengan pengelupasan lapisan epidermis kulit sebagai akibat lisisnya perlekatan antar sel pada stratum germinativum tanpa disertai peradangan dan kematian sel.

5). *Toxic shock syndrome toxin*

Toxic shock syndrome dapat menyebabkan terjadinya sindrom klinik berupa panas (febris), ruam kulit, hipotensi bahkan sampai syok. Toksin ini diperkirakan dapat merangsang sel-sel imunokompeten dalam jumlah yang cukup banyak, sehingga digolongkan dalam superantigen.

f. Infeksi *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus selain bersifat sebagai flora normal pada manusia, bakteri ini juga dapat menyebabkan infeksi. Infeksi dapat terjadi jika bakteri yang hidup sebagai flora normal masuk ke dalam tubuh melalui luka yang ada di kulit, tempat insisi pembedahan, tempat masuk kateter vaskuler atau tempat lain yang lemah pertahanannya seperti lokasi eksim atau luka lecet kecil lainnya (Soedarto, 2015).

Staphylococcus aureus dapat menyebabkan infeksi di beberapa organ tubuh manusia. *Staphylococcus aureus* yang menginfeksi kulit menyebabkan terjadinya furunkel atau bisul, karbunkel (bisul yang besar), impetigo dan *Scaled Skin Syndrome* (Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, 2003). Impetigo ditandai dengan adanya lepuh atau kelainan vesikular berisi cairan yang berukuran besar (Johnson dkk, 2011). *Scaled Skin Syndrome* dapat berkembang menjadi penyakit yang lebih serius yang disebut penyakit Ritter dan terutama terjadi pada bayi. Penyakit Ritter merupakan kumpulan gejala klinis yang disebabkan oleh toksin eksfoliatif (Soedarto, 2015).

Infeksi pada kuku menyebabkan paronikhia dan pada saluran pernafasan dapat menyebabkan bronchitis, tonsillitis dan pneumonitis. Paronikhia merupakan inflamasi kulit yang terjadi di sekeliling kuku jari atau kuku kaki (Sari dan B, 2018). Bakteri ini juga dapat menginfeksi otak menyebabkan meningitis dan ensefalomielitis, sedangkan pada

traktus urogenitalis menyebabkan sistitis dan pielitis. Enterotoksin *Staphylococcus aureus* jika tertelan dapat menyebabkan keracunan makanan dengan gejala muntah dan diare (Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, 2003). *Staphylococcus aureus* merupakan penyebab utama infeksi nosokomial pneumonia, infeksi nosokomial pasca bedah dan infeksi nosokomial aliran darah (Soedarto, 2015). Infeksi pada kuku dan kulit ditunjukkan pada Gambar di bawah ini.



Gambar 1. Infeksi Paronikhia

Sumber : <https://www.halodoc.com/waspada-ini-5-g4jala-dari-paronikia>



Gambar 2. Infeksi Furunkel

Sumber : <https://www.deherba.com/bisul-furuncle-bagaimana-cara-mengobati-dan-mencegahnya.html>



Gambar 3. Impetigo

Sumber : <https://www.nhs.uk/conditions/impetigo/>



Gambar 4. *Scaled Skin Syndrome*

Sumber : <https://www.alodokter.com/ssss>

Toxic shock syndrome toxin (TSST-1) adalah salah satu jenis metabolit bakteri *Staphylococcus aureus* yang dapat menyebabkan terjadinya *Toxic Shock Syndrome* (TSS). *Toxic shock syndrome* adalah suatu keadaan yang ditandai dengan panas mendadak, diare, syok, *diffuse maculo erythematous rash*, hiperemi pada konjungtiva, orofaring dan membrane mukus vagina. Penyakit ini biasanya terjadi pada perempuan yang sedang menstruasi dan perempuan yang memakai tampon (Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, 2003).

g. Reaksi biokimia

Staphylococcus aureus memfermentasi manitol pada *Manitol Salt Agar* (MSA) menghasilkan produk sampingan bersifat asam yang menurunkan pH medium dan menyebabkan indikator pH merah fenol berubah warna menjadi kuning. *Manitol Salt Agar* (MSA) adalah media pertumbuhan yang digunakan untuk membedakan *Staphylococcus aureus* dengan spesies *Staphylococcus* lainnya karena spesies *Staphylococcus* lain tidak memfermentasi manitol (Soedarto, 2015).

Staphylococcus aureus menunjukkan terjadinya hemolisis beta atau daerah terang di sekeliling koloni jika dibiakkan pada media

agar yang ditambahkan dengan 5% darah domba (Soedarto, 2015). Semua galur stafilokokus dapat meragikan gula-gula sederhana (glukosa, laktosa, sukrosa, dll.) dan dapat mereduksi nitrat menjadi nitrit (Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, 2003). Koloni *Staphylococcus aureus* berwarna kuning pada *Triptych Soy Agar* karena adanya pigmen *Staphyloxanthin* yang bersifat sebagai faktor virulensi (Soedarto, 2015).

h. Diagnosis

Infeksi *Staphylococcus aureus* yang berat memerlukan pemeriksaan darah atau pemeriksaan cairan jaringan misalnya dari biopsi kulit atau nanah yang terinfeksi dengan membiakkannya di laboratorium mikrobiologi (Soedarto, 2015). Bakteri yang telah diisolasi dari penderita kemudian ditumbuhkan pada media *Blood Agar Plate* (BAP) atau pada medium selektif *Mannitol Salt Agar* (MSA). Koloni yang tumbuh pada medium tersebut kemudian dilakukan pewarnaan gram.

Tes biokimia digunakan untuk identifikasi jenis bakteri. Stafilokokus menunjukkan katalase positif pada tes katalase yang membedakannya dengan Streptokokus (Brooks dkk, 2005). Sedangkan *Staphylococcus aureus* menunjukkan koagulase positif yang membedakannya dengan stafilokokus lain (Hart dan Paul, 1997).

2. Media pertumbuhan

Stafilokokus dapat tumbuh dengan baik pada media bakteriologi yang ada di laboratorium dalam suasana aerobik atau mikroaerofilik (Brooks dkk, 2005). Beberapa media pertumbuhan untuk bakteri *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut :

a. Agar NaCl 7,5%

Media agar NaCl 7,5% dapat menghambat pertumbuhan organisme kecuali mikroorganisme yang halofilik (suka garam). Media ini sangat bermanfaat untuk mendeteksi bakteri genus Stafilokokus (Capuccino dan Sherman, 2014).

b. *Nutrient Agar Plate* (NAP)

Nutrient Agar Plate (NAP) digunakan untuk menunjukkan adanya pembentukan pigmen *Staphylococcus aureus*. Pigmen bakteri akan menunjukkan warna kuning emas pada media ini. Koloni bakteri *Staphylococcus aureus* yang tumbuh pada media NAP berbentuk bulat dengan diameter 1-2 mm. Permukaan koloni mengkilat dan konsistensi koloni lunak (Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, 2003).

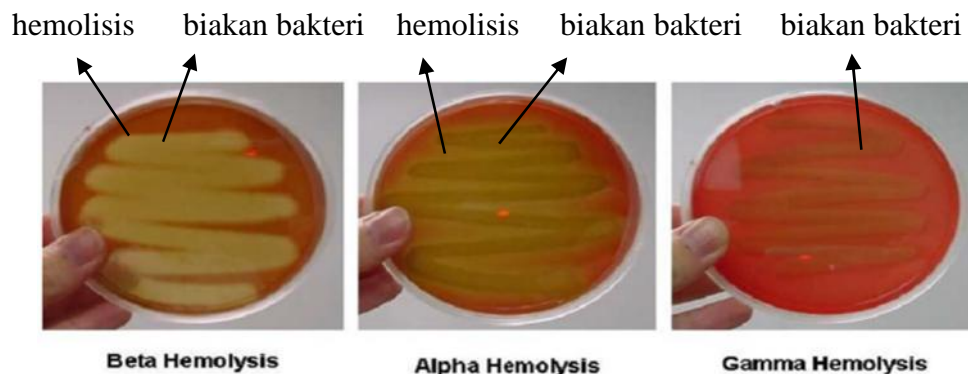
c. *Mannitol Salt Agar* (MSA)

Mannitol Salt Agar mengandung NaCl dengan konsentrasi 7,5%. Konsentrasi garam NaCl tersebut dapat menghambat pertumbuhan sebagian besar bakteri selain stafilokokus. *Mannitol Salt Agar* mengandung karbohidrat manitol yang akan difermentasikan oleh *Staphylococcus aureus*. Fenol merah yang terkandung dalam *Mannitol*

Salt Agar berfungsi sebagai indikator pH untuk mendeteksi asam yang dihasilkan oleh *Staphylococcus aureus*. Zona terang di sekitar koloni akan terbentuk jika *Staphylococcus aureus* memfermentasikan manitol pada media *Mannitol Salt Agar* (Capuccino dan Sherman, 2014).

d. Agar Darah Domba (ADD)

Agar Darah Domba dibuat dari agar (*agar base*) yang ditambahkan dengan 5-10% darah domba yang telah didefibrinasi. Media *agar base* mengandung sejumlah kecil karbohidrat alami sebagai sumber energi bagi bakteri dan natrium klorida sebagai pengatur kesetimbangan tekanan osmosis (Krihariyani dkk, 2016). Darah domba mengandung glukosa, protein, lemak dan trigliserid (Astuti dkk, 2008). Agar Darah Domba digunakan untuk menentukan tipe hemolisis bakteri. Hemolisis adalah proses terjadinya lisis eritrosit yang menyebabkan hemoglobin dalam eritrosit terbebas (Saputro dan Junaidi, 2015). Hemoglobin merupakan protein berupa pigmen berwarna merah yang membawa oksigen dan kaya akan zat besi (Syaifuddin dalam Suma dkk, 2018). Tipe hemolisis dapat diklasifikasikan menjadi tiga yaitu hemolisis alfa, beta dan gama yang ditunjukkan pada Gambar 5.



Gambar 5. Tipe Hemolisis Bakteri

Sumber : darahdomba.com/index.php/2018/10/17media-blood-agar-plate/

Hemolisis alfa terjadi jika sel-sel darah merah pada media agar darah lisis secara tidak sempurna dan menghasilkan zona kehijauan (halo) di sekitar koloni. Hemolisis beta terjadi jika sel-sel darah merah lisis secara sempurna dan menunjukkan zona jernih di sekitar koloni. Sedangkan pada hemolisis gamma tidak terjadi lisis pada sel-sel darah merah (Capuccino dan Sherman, 2014).

3. Agar Darah Manusia

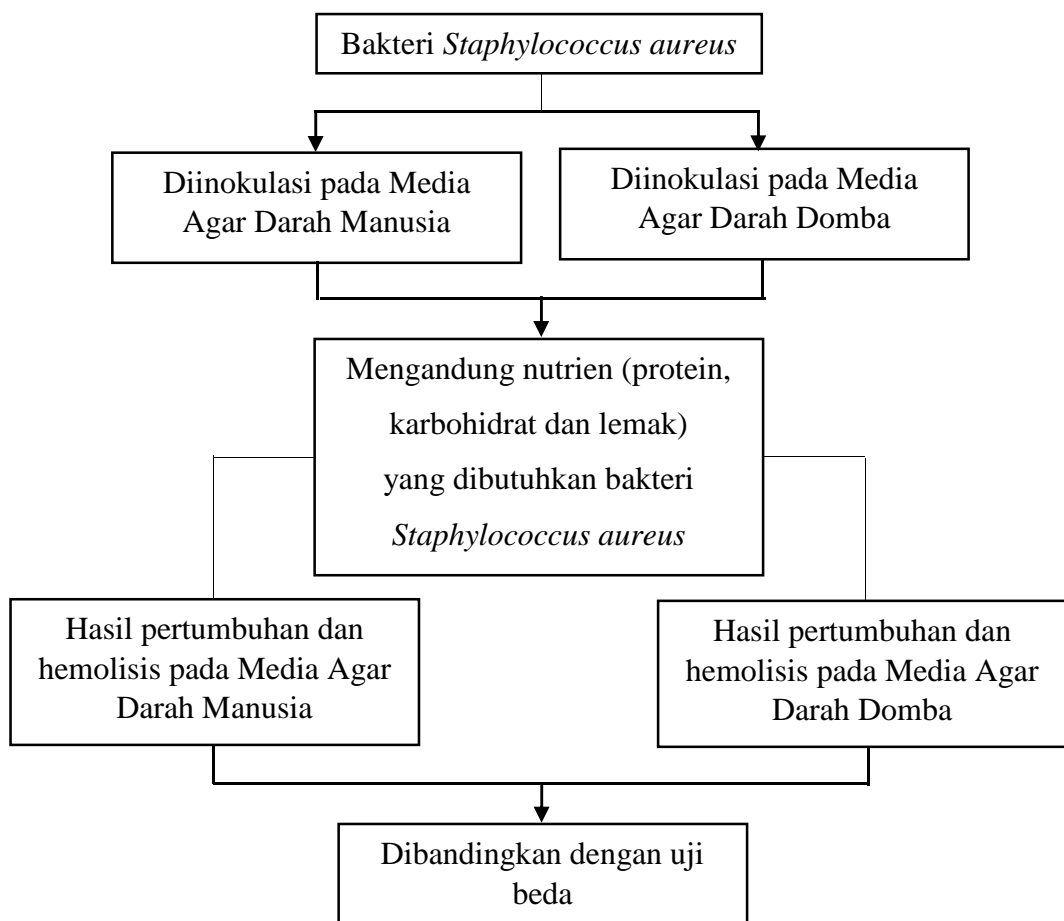
Agar darah manusia dibuat dari media *agar base* yang ditambahkan 5-10% darah manusia donor kedaluwarsa. Darah manusia mengandung protein (50%), lemak (40%) dan karbohidrat (10%) yang dapat mendukung pertumbuhan bakteri (Hoffbrand, 1987).

Darah donor yang disimpan dalam waktu yang lama dapat menyebabkan perubahan bentuk pada eritrosit. Semakin lama darah disimpan maka kadar asam laktat akan meningkat namun kadar ATP menurun. Penurunan kadar ATP menyebabkan pompa ion Na-K tidak stabil

sehingga menyebabkan eritrosit mudah lisis (Yeh dkk, 2009). Penelitian Mudatsir, 2012 menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan hasil uji hemolisis bakteri *Streptococcus pyogenes* pada media agar darah manusia yang kedaluwarsa satu minggu sampai empat minggu.

B. Kerangka Teori

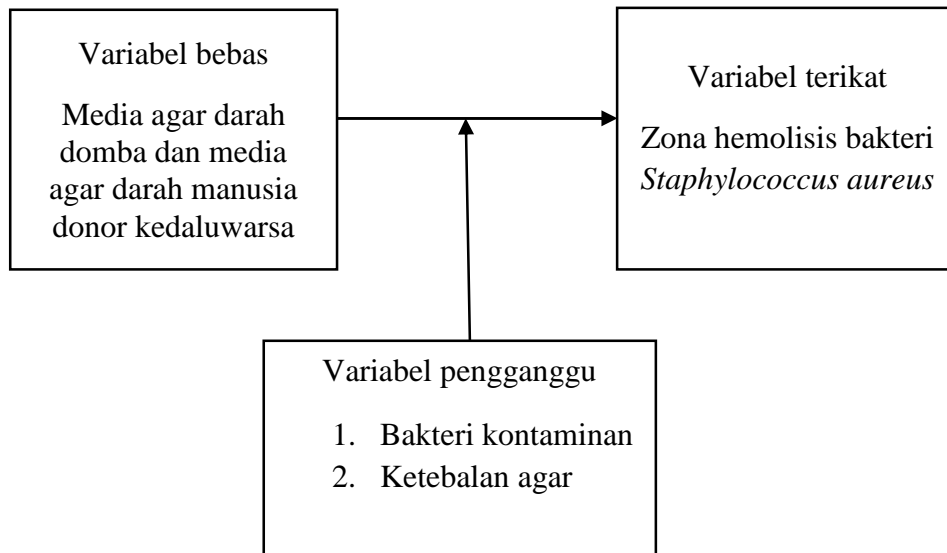
Kerangka teori penelitian ini ditunjukkan pada Gambar. 6.



Gambar 6. Kerangka Teori

C. Hubungan Antar Variabel

Hubungan antar variabel penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 7.



Gambar 7. Hubungan Antar Variabel

D. Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah tidak ada perbedaan hasil uji hemolisis bakteri *Staphylococcus aureus* yang diinokulasi pada media agar darah manusia donor kedaluwarsa dengan darah domba.