

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Bakteri *Streptococcus pyogenes*

a. Morfologi dan Sifat

Streptococcus adalah bakteri Gram positif dengan bentuk *coccus* atau bulat, memiliki karakteristik yaitu membentuk untaian seperti rantai. Membelah diri dengan cara memanjang pada rangkaian rantai tersebut. Rantai memiliki panjang yang beragam dan dapat disebabkan oleh faktor lingkungan. Sebagian dari *Streptococcus* merupakan flora normal pada manusia, sedang beberapa diantaranya merupakan bakteri yang dapat menyebabkan sensitisasi pada manusia. *Streptococcus* termasuk kelompok bakteri yang heterogen. Ada sekitar dua puluh jenis dan dapat dicirikan dengan berbagai variasinya seperti karakteristik koloni, pola zona hemolisis pada media agar darah, komposisi antigen hingga reaksi biokimia (Brooks, 2005).

Streptococcus merupakan bakteri non motil atau tidak bergerak dan tidak memiliki spora. Pembenuhan dilakukan dengan memperkaya media menggunakan darah, serum atau cairan asites. *Streptococcus* dibagi dalam aerob obligat dan aerob fakultatif. Selanjutnya *Streptococcus* yang termasuk dalam aerob fakultatif akan dilakukan

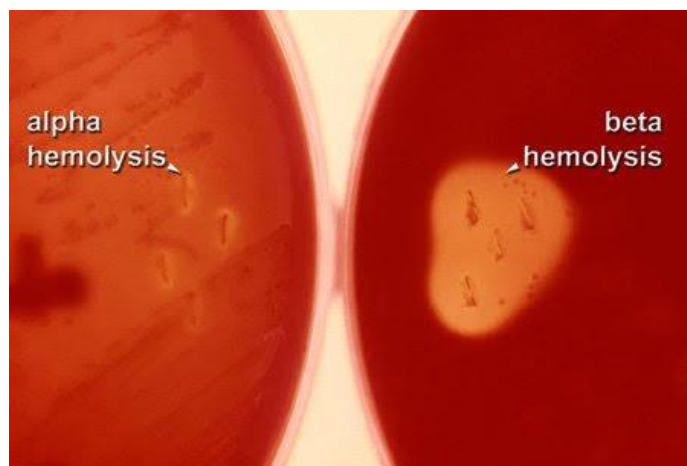
pengelompokan berdasarkan sifat hemolisisnya pada agar darah (Gupte, 1990).

1) Hemolisis alfa (α)

Memiliki ciri-ciri yaitu dapat membuat zona berwarna kehijauan di sekeliling koloni. Zona hemolisis ini memiliki lebar 1 - 2 milimeter dengan tepian yang tidak rata (Gupte, 1990).

2) Hemolisis beta (β)

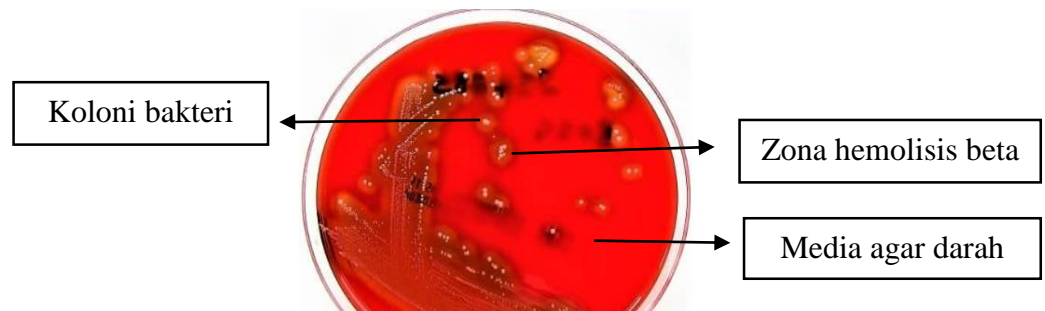
Ciri-ciri dari *Streptococcus* jenis ini adalah dapat membuat zona hemolisis yang jernih tanpa warna, memiliki batas yang tegas dan diameter zona hemolisisnya 2 – 4 milimeter (Gupte, 1990).



Gambar 1. Hemolisis alfa (α) dan Hemolisis beta (β)

(Sumber : <https://medicinenet.com/>)

Streptococcus pyogenes merupakan bakteri kokus yang tersusun seperti rantai, termasuk bakteri Gram positif, tidak berspora dan nonmotil. Koloni bulat berdiameter 0,5 – 1,0 mm dengan bentuk agak cembung, jernih dan membentuk zona hemolisis (Gupte, 1990).



Gambar 2. *Streptococcus pyogenes* pada media agar darah

(Sumber : <https://paramedicsworld.com/>)

Streptococcus pyogenes termasuk dalam kelompok A dalam pengelompokan Lancefield berdasarkan antigennya. Bakteri ini bersifat hemolisis beta (β) dan secara tipikal memproduksi hemolisis beta (β) dalam jumlah besar, diameternya lebih besar dari 0,5 milimeter (Brooks, 2005).

Reaksi biokimia dari bakteri *Streptococcus pyogenes* adalah dengan tidak menghasilkan enzim katalase dan oksidase, tetapi dapat melakukan metabolisme secara fermentasi terhadap sejumlah besar gula (Bhatia dan Ichhpujani, 2004). Bakteri ini dapat meragikan laktosa, glukosa, salisin, sorbitol, maltosa, desktrin dan lain-lain dengan membentuk asam tanpa gas. Tidak mencairkan gelatin serta tidak larut dalam empedu 10%. Peka terhadap sulfonamida dan sangat peka terhadap basitrin dan sifat ini dapat dipakai dalam identifikasi cepat *Streptococcus* hemolitik kelompok A (Gupte, 1990).

Streptococcus dalam sputum atau eksudat dan ekskret hewan dapat hidup dalam beberapa minggu. Dalam medium biasa pada suhu

kamar, dapat hidup selama 10 hari sampai 2 minggu. Semua spesies *Streptococcus* mati pada suhu 60°C selama 30 – 60 menit. Pasteurisasi 62°C mati dalam waktu 30 menit. Bakteri ini akan mati dalam waktu 15 menit di dalam tingtur iodium, fenol 1/200, kresol 1/75, merkurokrom 2% dan heksilresorsinol (FK UNBRAW, 2003).

Streptococcus pyogenes sangat rentan, baik secara fisik maupun dengan kimia. *Streptococcus pyogenes* dapat mati pada suhu 55°C dalam 30 menit. Dapat juga mati dengan desinfektan biasa, tetapi tahan terhadap sinar matahari dan dapat bertahan selama berminggu-minggu. Bakteri ini sensitif terhadap penisilin dan berbagai macam obat antimikroba, secara alami resisten terhadap aminoglikosida dan telah memperoleh resistensi terhadap sulfonamid, tetrasiklin dan sampai batas tertentu terhadap klindamisin (Bhatia dan Ichhpujani, 2004). Sedangkan kloramfenikol dan streptomisin meskipun efektif tapi cepat terjadi resistensi (FK UNBRAW, 2003).

b. Taksonomi (Soedarto, 2015)

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

c. Pertumbuhan dan Pemiakan

Menurut Brooks (2005), sebagian besar *Streptococcus* dapat tumbuh pada media yang padat dan tampak sebagai koloni yang discoid, koloni ini dapat berdiameter 1 – 2 mm. Pertumbuhan *Streptococcus* cenderung lambat pada media padat atau media cair jika tanpa diperkaya dengan cairan jaringan atau cairan darah. Kebutuhan nutrisi sangat beragam diantara jenis yang berbeda.

Streptococcus pyogenes adalah anaerob fakultatif dan pertumbuhan terbaik dapat dicapai pada pH 7,4 – 7,6 dengan suhu 37°C. Pertumbuhan pada media biasa hasilnya tidak terlalu baik dan media dengan darah atau darah domba lebih disukai. Pertumbuhan pada media yang memiliki darah jarang melebihi 1 mm setelah 24 jam inkubasi (Bhatia dan Ichhpujani, 2004).

Streptococcus pyogenes mampu tumbuh baik pada media agar dengan penambahan darah pada media tersebut. Media agar darah merupakan media selektif untuk *Streptococcus*. Dalam media cair yang diperkaya oleh glukosa atau serum, *Streptococcus* tumbuh subur dengan memberikan kekeruhan dan endapan di bagian bawah serta di sepanjang sisi tabung (Bhatia dan Ichhpujani, 2004).

d. Patogenitas

Streptococcus pyogenes merupakan salah satu patogen yang banyak menginfeksi manusia. Diperkirakan 5-15% individu normal memiliki bakteri ini dan biasanya terdapat pada saluran pernafasan,

namun tidak menimbulkan gejala penyakit. *Streptococcus pyogenes* dapat menginfeksi ketika pertahanan tubuh menurun atau ketika organisme tersebut mampu berpenetrasi melewati pertahanan yang ada. Bila bakteri ini tersebar sampai ke jaringan yang rentan, maka infeksi *supuratif* dapat terjadi. Infeksi ini dapat berupa faringitis, tonsilitis, impetigo dan demam *scarlet*. *Streptococcus pyogenes* juga dapat menyebabkan penyakit invasif seperti infeksi tulang, *necrotizing fasciitis*, radang otot, meningitis dan endokarditis (Cunningham, 2000).

Demam rematik dan glomerulonefritis merupakan penyakit streptokokus akibat komplikasi non supuratif atau sekuele. Demam rematik akut dapat terjadi apabila penderita yang terinfeksi *Streptococcus pyogenes* 1-5 minggu sebelumnya tidak mendapat penanganan segera (Cunningham, 2000).

2. Media Pertumbuhan Bakteri

Mikroorganisme membutuhkan nutrien-nutrien dasar dan faktor-faktor fisik tertentu untuk bertahan hidup. Berbagai macam media yang ada di laboratorium menyediakan kebutuhan nutrisi yang dibutuhkan sel-sel mikroba. Kebutuhan nutrisi bakteri antara lain karbon, oksigen, nitrogen, unsur logam, unsur non logam, vitamin, air dan energi.

a. Media pertumbuhan bakteri

Media dibutuhkan oleh bakteri sebagai tempat pertumbuhan. Dalam laboratorium, ada beberapa jenis media yang digunakan.

Macam-macam media pertumbuhan bakteri berdasarkan tujuannya, yaitu:

1) Media Selektif atau Diferensial

Media selektif digunakan untuk mengisolasi kelompok bakteri yang spesifik. Media ini memudahkan untuk isolasi bakteri tertentu karena mengandung zat-zat kimia yang dapat menghambat pertumbuhan suatu jenis bakteri dan membantu pertumbuhan bakteri lainnya. Sedangkan media diferensial berfungsi untuk membedakan kelompok-kelompok organisme berdasarkan morfologi dan sifat biokimia, setelah proses inokulasi dan inkubasi akan terlihat perubahan karakteristik pada tampilan pertumbuhan bakteri atau media di sekeliling koloni. Media yang termasuk sebagai media selektif atau diferensial adalah Agar Garam Manitol, Agar *MacConkey*, dan *Levine* atau Agar Eosin-Metilen Biru (Cappuccino dan Sherman, 2014).

2) Media Diperkaya

Menurut Cappuccino dan Sherman (2014), media diperkaya merupakan media yang telah ditambah dengan bahan bernutrisi tinggi, seperti darah, serum atau ekstrak khamir untuk tujuan kultivasi organisme selektif. Media agar darah merupakan salah satu contoh dari media diperkaya. Penambahan darah pada media agar memiliki fungsi antara lain sebagai penyubur, nutrisi bakteri, sumber unsur hara, dan membedakan kemampuan

melisiskan sel darah. Agar darah memiliki nutrisi antara lain lipid, kolesterol, protein (albumin dan globulin), glukosa, asam amino, amilase, kreatinin, natrium, zat besi, vitamin, urea, asam urat, magnesium, fosfat, mangan dan yodium.

Media BAP yang umum digunakan dan menjadi standar adalah media BAP dengan penambahan darah domba. Media tersebut mampu menumbuhkan bakteri secara maksimal. Namun, penggunaan media BAP dari darah domba dinilai kurang ekonomis untuk negara berkembang seperti Indonesia. Selain itu, Indonesia memiliki iklim tropis yang kurang cocok untuk pemeliharaan domba (Yeh dkk., 2009).

b. Domba Wol dan Domba Lokal

1) Domba

Taksonomi domba menurut Ensminger (2002) adalah :

Kingdom : Animalia

Filum : Chordata

Kelas : Artiodactyla

Ordo : Bovidae

Genus : *Ovis*

Spesies : *Ovis aries*

Domba wol tergolong sebagai hewan ruminansia kecil yang sulit dikembangbiakan di tempat beriklim tropis seperti Indonesia karena iklim yang panas menyebabkan domba wol mudah

dehidrasi sehingga berakibat kematian (Mulyono, 2005). Karakteristik domba (*Ovis*) adalah ruminansia dengan wol tebal yang dipelihara untuk dimanfaatkan wol, daging dan susunya. Domba yang paling banyak dikenal adalah *Ovis aries* atau domba peliharaan (Anggorodi, 1990).

Domba di Indonesia diklasifikasikan menjadi tiga kelompok, yaitu Domba Ekor Tipis (*Javanese thin-tailed*), Domba Ekor Gemuk (*Javanese fat-tailed*) dan Domba Priangan (*Priangan of west java*) atau Domba Garut (Mulyaningsih, 2006).

2) Domba Ekor Tipis (*Javanese thin-tailed*)

Merupakan domba domestikasi atau hasil peranakan. Domba ekor tipis disebut domba kacang, domba jawa dan dikenal juga sebagai domba lokal atau domba kampung (Mulyono, 2005). Domba lokal satu genus dengan domba wol, namun memiliki keunggulan yaitu mampu bertahan hidup pada tekanan iklim dan pakan yang berkualitas rendah, juga tahan terhadap penyakit dan parasit (Mulyaningsih, 2006).

Menurut Dellman dan Brown (1989), mamalia tidak memiliki perbedaan yang spesifik mengenai komposisi darah yaitu total darah berkisar 7-8% dari bobot tubuh, plasma sebesar 75-85% dan sisanya sel darah sebesar 25-35% yang terdiri atas eritrosit, leukosit dan platelet.

3) Eritrosit Domba

Pembentukan eritrosit domba terjadi di tulang belakang. Domba memiliki eritrosit berukuran $\pm 4,8 \mu\text{m}$ dengan bentuk cakram bikonkaf dan pinggiran sirkuler. Karakteristik eritrosit domba yaitu tidak berinti dan nonmotil (Swenson, 1984).

Kandungan utama dalam eritrosit domba yaitu hemoglobin, lipid, kolesterol, protein, dan enzim. Bahan organik lain yang terkandung dalam eritrosit domba adalah asam amino, urea, natrium, kalium, magesium, fosfat, kreatinin, dan glukosa (Schalm, 1975).

3. Media Darah Manusia

a. Darah manusia

Setiap orang rata-rata memiliki kurang lebih 70 ml darah dalam setiap kilogram berat badan, atau sekitar 3,5 liter untuk orang dengan berat badan 50 kg. Sebanyak 50-60% darah terdiri atas cairan dan sisanya merupakan sel-sel darah (Kiswari, 2014).

1) Plasma dan Serum

Plasma merupakan komponen darah yang berupa cairan. Mengandung 90% air dan 10% sisanya merupakan bahan terlarut, seperti glukosa, hormon, ion-ion, asam amino, dan berbagai macam protein. Pada dasarnya serum sama dengan plasma, tapi tidak mengandung faktor pembekuan darah atau fibrinogen (Kiswari, 2014).

Bahan organik pada plasma ialah protein yang disebut plasma protein, berkisar 6 – 8 %. Pada individu terdapat sekitar 200 – 300 gram protein dalam bentuk koloid dan mempengaruhi kekentalan atau viskositas darah. Albumin merupakan protein plasma yang paling besar jumlahnya, berkisar 4 – 5 % dari berat plasma. Dan globulin yang berbentuk lebih lonjong partikelnya daripada albumin, terdapat kurang lebih 2,5% dari berat plasma. Protein plasma yang lain ialah fibrinogen, dalam darah ada sekitar 0,35%. Serum ialah plasma yang telah hilang fibrinogennya (Depkes RI, 1989).

2) Bagian Korpuskuli

Bagian korpuskuli merupakan elemen seluler yang terdapat dalam darah atau dapat juga disebut sebagai komponen sel-sel darah (Depkes RI, 1989). Sel-sel darah terdiri atas sel darah merah atau eritrosit, sel darah putih atau leukosit, dan sel platelet atau trombosit (Kiswari, 2014).

3) Eritrosit Manusia

Eritrosit merupakan sel darah yang tidak berinti, bulat, agak oval tampak seperti cakram bikonkaf dengan ukuran 7-8 μm . Komposisi eritrosit antara lain membran eritrosit, hemoglobin, lemak, protein, kolesterol, enzim, zat besi, urea, asam amino, kreatinin, kalium, bilirubin, natrium, magnesium, vitamin A, vitamin K, amilase dan fosfat (Handayani dan Sulistyono, 2008).

b. Darah Donor

Darah donor diambil dengan teknik aseptik ke dalam kantong plastik yang mengandung sejumlah antikoagulan. Darah disimpan pada suhu 4 - 6°C dan dapat disimpan selama 21-28 hari. Ada beberapa lembaga transfusi darah yang menggunakan pengawet sel darah sehingga waktu penyimpanan darah bertambah menjadi 28-35 hari (Hoffbrand dan Pettit, 1989).

Darah diambil sebanyak 450 ml lalu dimasukkan ke dalam wadah plastik steril yang disebut dengan kantong darah dan berisi antikoagulan sitrat. Komponen-komponen utama dalam darah donor antara lain eritrosit, plasma, dan trombosit (Bain, 2015).

4. Hemolisis Bakteri *Streptococcus pyogenes*

a. Hemolisis

Streptococcus pyogenes merupakan bakteri Gram positif yang termasuk dalam golongan bakteri hemolisis beta (β). Ciri-ciri dari *Streptococcus* jenis ini adalah dapat membuat zona hemolisis yang jernih tanpa warna, memiliki batas yang tegas dan diameter zona hemolisisnya 2 – 4 mm (Gupte, 1990).

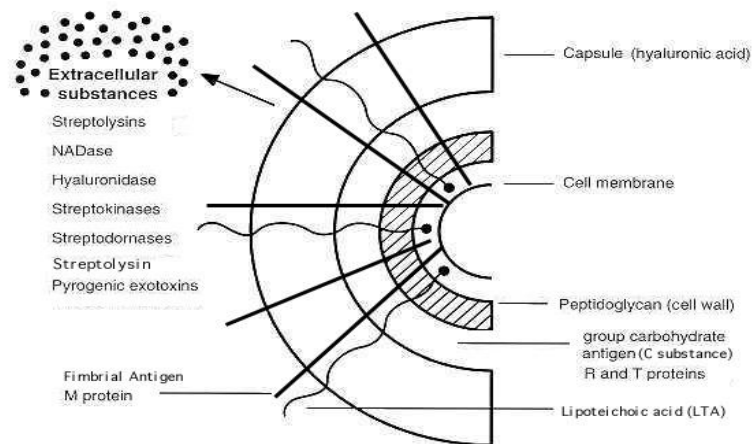
Bakteri *Streptococcus pyogenes* pada media agar darah dapat menyebabkan zona hemolisis yang luas dan terang pada sekitar koloni. Pada zona hemolisis tersebut tidak ditemukan sel darah merah sama sekali. Sifat hemolisis ini disebabkan oleh adalah streptolisin yang dihasilkan oleh bakteri *Streptococcus* (FK UNBRAW, 2003).

Bakteri *Streptococcus pyogenes* dapat menghasilkan toksin hemolisin, toksin ini dibagi menjadi 2, yaitu Streptolisin O (*oxygen-labile*) yang imunogenik dan Streptolisin S (*oxygen-stabile*) yang tidak imunogenik. Streptolisin O merupakan penyebab demam rematik dan streptolisin S dapat menyebabkan rusaknya lisosom sel hospes dan menjadi faktor utama terbentuknya zona hemolisis beta pada media agar darah. Kedua toksin ini dapat menghancurkan eritrosit, leukosit dan trombosit (Pardede, 2009).

Hemolisin dapat menyebabkan kerusakan berat pada sel darah merah inang (eritrosit). Lisis (ledakan atau penghancuran) sel darah merah ini merupakan sumber persediaan zat besi untuk bakteri dan lisinya sel darah merah ini dapat membahayakan inang. Toksin ini juga berkontribusi terhadap kematian sel darah putih, terutama pada lisosom (Paul, 2011).

Perbedaan konsentrasi darah akan berpengaruh terhadap ukuran area hemolisis dan akan mempengaruhi penentuan tipe hemolisis. Penggunaan darah dengan konsentrasi rendah akan mempersulit pembedaan hemolisis alfa dan beta. Tetapi konsentrasi darah yang tinggi dalam medium akan menyebabkan strain hemolitik beta tampak non hemolitik. Plat agar yang ideal untuk isolasi primer adalah mengandung 5% darah defibrinasi, dengan ketebalan kurang lebih 4 milimeter (Saleh, 2019).

b. Struktur antigen



Gambar 3. Struktur Sel *Streptococcus pyogenes*
(Sumber : Todar, 2002)

Streptococcus hemolitik dapat dibagi dalam kelompok serologi dan grup yang lain dapat dibagi lagi menurut jenisnya. Beberapa substansi antigen yang dapat ditemukan pada *Streptococcus* kelompok A yaitu :

1) Kapsul

Dinding sel dari *Streptococcus* dikelilingi oleh hyaluronic acid yang merupakan antifagosit dan sebagai faktor virulensi. Tingkat enkapsulasi sangat bervariasi di antara strain *Streptococcus* grup A (Brooks, 2005).

2) Kelompok Antigen Dinding Sel Spesifik

Pengelompokan serologi didasarkan pada karbohidrat yang terdapat dalam dinding sel *Streptococcus*, pengelompokan ini disebut dengan Lancefield grup A-H, K-U. Dinding sel

Streptococcus pyogenes mengandung antigen polisakarida (Bhatia dan Ichhpujani, 2004).

3) Protein M

Substansi ini merupakan faktor virulen utama pada *Streptococcus pyogenes* grup A. Bakteri dengan protein M yang kaya dapat melawan fagositosis oleh leukosit polimorfonuklear dan berkembang biak dengan cepat dalam darah manusia (Bhatia dan Ichhpujani, 2004).

4) Protein T

Protein T tidak memiliki kaitan dengan virulensi dari bakteri *Streptococcus*. Tidak seperti protein M, protein T mempunyai sifat resisten terhadap tripsin dan pepsin tetapi tidak tahan terhadap asam dan panas. Protein T sering digunakan dalam diferensiasi jenis *Streptococcus* (Brooks, 2005).

5) Protein R

Protein R adalah serangkaian antigen yang dapat menyebabkan reaksi silang dalam pengelompokan. Antigen ini bersifat protektif. Protein R diyakini sebagai bentuk cacat atau bentuk tidak aktif dari protein M (Bhatia dan Ichhpujani, 2004).

6) Nukleoprotein

Dapat disebut juga sebagai substansi P, memiliki spesifisitas serologi kecil dan dihasilkan dari ekstraksi bakteri *Streptococcus* dengan alkali lemah (Brooks, 2005).

c. Toksin dan enzim

1) Hemolisin

Hemolisin merupakan salah satu toksin yang dieksresikan oleh bakteri *Streptococcus pyogenes* (Gupte,1990). Banyak *Streptococcus* mampu untuk melakukan proses hemolisis sel darah merah secara in vitro pada berbagai tingkatan. Kerusakan sempurna yang terjadi pada eritrosit disertai dengan terlepasnya hemoglobin disebut dengan beta hemolisis. Sedangkan lisis eritrosit yang tidak lengkap dengan susunan pigmen hijau disebut dengan alfa hemolisis (Brooks, 2005).

Streptococcus pyogenes dapat menghasilkan dua hemolisin, yaitu Streptolisin O dan Streptolisin S.

a) Streptolisin O (SLO)

Streptolisin O berukuran ± 57 kDa dan sensitif terhadap oksigen. SLO adalah toksin yang bergantung pada kolesterol yang terdapat pada membran sitoplasma dari berbagai tipe sel eukariotik seperti eritrosit, leukosit, makrofag, trombosit dan beberapa jenis sel lain. SLO berkontribusi dalam terbentukkan hemolisis beta yang terdapat didalam agar darah.

b) Streptolisin S (SLS)

Streptolisin S berukuran $\pm 2,7$ kDa dan stabil terhadap oksigen. SLS dapat membentuk pori-pori hidrofilik pada membran sitoplasma yang mengandung kolesterol dan menyebabkan lisis osmotik pada sel inang. SLS dapat melisiskan eritrosit, limfosit, neutrofil, trombosit, lisosom, mitokondria dan banyak tipe sel mamalia lainnya. SLS menyebabkan beta hemolisis pada sekitaran koloni di permukaan agar darah (Barnett, 2015).

2) Streptokinase

Banyak bakteri *Streptococcus* beta hemolitik grup A yang menghasilkan streptokinase. Streptokinase dapat mengubah plasminogen pada plasma menjadi plasmin, yang merupakan sebuah enzim proteolitik yang mengurai fibrin dan protein lain. Proses penguraian ini dapat dihambat dengan antibodi spesifik yaitu antistreptokinase (Brooks, 2005).

3) Streptodornase

Semua strain *Streptococcus pyogenes* menghasilkan setidaknya satu sampai empat tipe deoksiribonuklease (DNase). Tipe B merupakan nuklease dominan yang terdapat pada *Streptococcus pyogenes*. Antibodi terhadap DNase berkembang setelah terjadinya infeksi dan dapat diketahui melalui diagnosis (Bhatia dan Ichhpujani, 2004).

4) Hyaluronidase

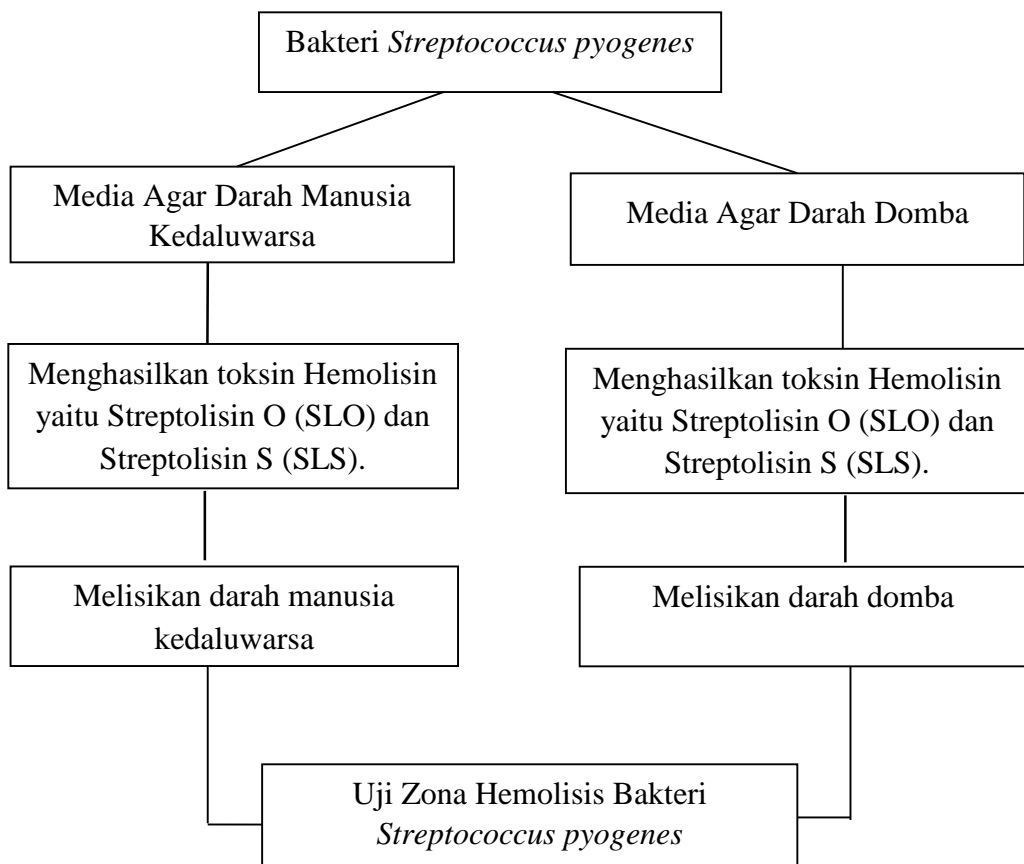
Hyaluronidase dapat memecah asam hyaluronat yang merupakan komponen penting dari jaringan ikat. Hyaluronidase dibebaskan oleh *Streptococcus* grup A untuk membuka jalan sehingga dapat membantu penyebaran organisme penyebab infeksi (faktor penyebaran). Hampir semua strain *Streptococcus pyogenes* menghasilkan enzim ini (Bhatia dan Ichhpujani, 2004).

5) Eksotoksin Pirogenik

Eksotoksin pirogenik dihasilkan oleh bakteri *Streptococcus* grup A. Terdapat tiga jenis antigen berbeda dari *streptococcal pyrogenic exotoxin* yaitu A, B dan C. Sebagian besar strain *Streptococcus pyogenes* menghasilkan satu toksin atau lebih. Eksotoksin pirogenik dapat memberikan efek pada sistem kekebalan tubuh, juga peningkatan kerentanan terhadap syok endotoksin dan blokade sistem retikulo-endotel (Brooks, 2005).

B. Kerangka Teori

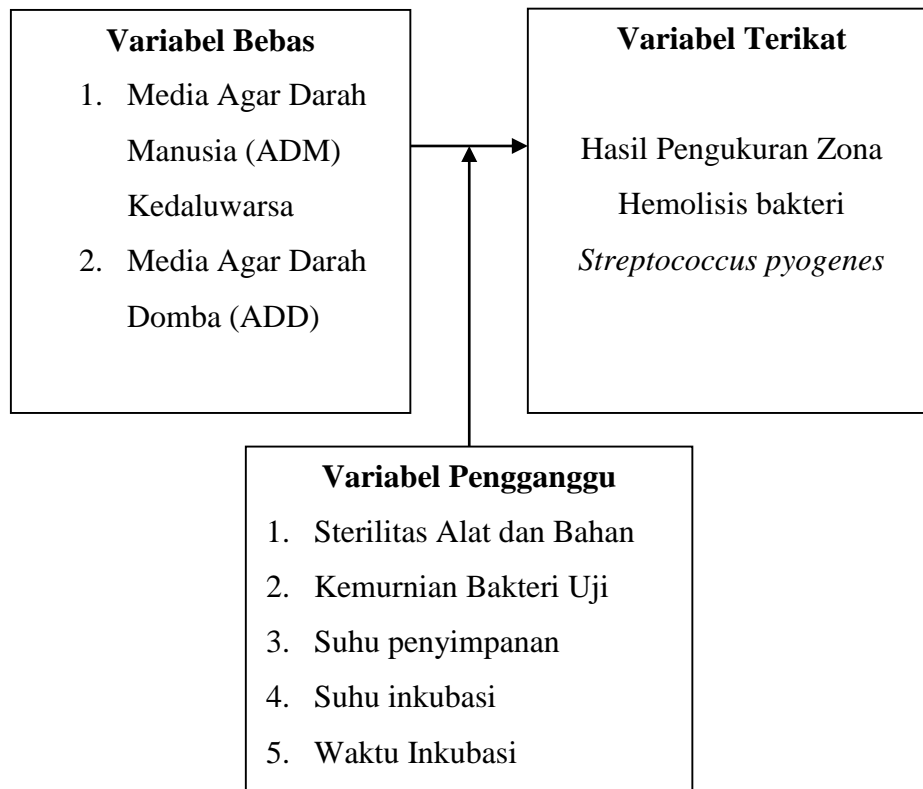
Kerangka teori penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Kerangka Teori

C. Hubungan Antar Variabel

Hubungan antar variabel penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 5.



Gambar 5. Hubungan antar Variabel

D. Pertanyaan Penelitian

Apakah media agar darah manusia kedaluwarsa dapat dijadikan sebagai alternatif pengganti media agar darah domba untuk menumbuhkan bakteri *Streptococcus pyogenes*?