

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 1. Bakteri

Bakteri berasal dari bahasa Yunani “*bakterion*” yang memiliki arti tongkat atau batang. Nama tersebut akhirnya digunakan untuk menyebut mikroorganisme bersel satu yang tampak bila menggunakan mikroskop, dan berkembangbiak dengan membelah (Dwidjoseputro, 1998). Bakteri memiliki diameter dengan ukuran 0,2-2,0 mm dan panjang 2-8 mm. Bakteri berbentuk *monomorfik* (satu bentuk) atau *polimorfik* (banyak bentuk), bentuk bakteri antara lain bulat (*coccus*), batang atau silindris (*bacillus*) dan spiral (Pratiwi, 2008). Bergey’s Manual of Determination Bacteriologi membagi bakteri menjadi 19 kelompok berdasarkan bentuk, pengecatan gram, dan kebutuhan oksigennya, yaitu: bakteri fototropik, bakteri lurus, bakteri berselongsong, bakteri kuncup atau berapendiks, bakteri spiroket, bakteri spiral, bakteri batang dan kokus aerobik gram negatif, bakteri batang anaerobik fakultatif gram negatif, bakteri batang gram negatif anaerobik, bakteri kokobasilus dan kokus gram negatif, bakteri kokus anaerobik gram negatif, bakteri kemolitotrofik gram negatif, bakteri metanogenik, bakteri kokus gram positif, batang dan kokus pembentuk endospora, bakteri batang gram positif tidak membentuk spora, aktinomisetes, riketsia (Pelczar dan Chan, 1998).

*Bacillus* merupakan bakteri aerobik, menghasilkan spora, berbentuk batang. Hanya *Bacillus* obligate yang patogen pada vertebrata. Spora pada banyak spesies *Bacillus* tahan terhadap panas, radiasi, disinfektan, dan desikasi, dan merupakan kontaminasi dari bahan medikal dan farmasetikal. *Bacillus cereus* dapat menyebabkan diare dan nyeri pada perut terjadi setelah 8 sampai 16 jam setelah mengonsumsi makanan yang terkontaminasi. Gejala keracunan *Bacillus cereus* disebabkan oleh toksin yang diproduksi dalam makanan selama multiplikasi. Toksin tidak diidentifikasi untuk spesies *Bacillus* lainnya bahwa penyebab keracunan makanan. Gejala keracunan yang disebabkan *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, dan lainnya lebih sulit

didefinisikan, dan biasanya muncul 1 sampai 14 jam setelah mengkonsumsi makanan yang terkontaminasi (Baron, 1996).

*Streptococcus* dalam bahasa Yunani berasal dari kata streptos yang artinya mudah melilit, karena pada proses pembelahannya bakteri ini membentuk rantai panjang sepanjang satu sumbu. *Streptococcus* merupakan bakteri yang bersifat fakultatif anerob. Bakteri ini berbentuk bulat (Sari, 2010). *Streptococcus* merupakan bakteri gram positif yang secara ekologi sebagai mikroba flora normal dalam hewan dan manusia, dan beberapa dapat juga menyebabkan penyakit baik akut, subakut, ataupun kronik. Pada manusia, penyakit yang disebabkan streptococci adalah *scarlet fever*, *rheumatic heart disease*, *glomerulonefritis*, dan *pneumococcal pneumonia*. *Streptococcus* dapat digunakan sebagai indikator polusi (Baron, 1996)

## 2. Resistensi

Resistensi dapat terjadi terhadap antibiotik dapat disebabkan oleh enzim untuk menginaktifkan antibiotik atau perubahan dari struktur molekul aktif, merubah atau melindungi tempat target dari antibiotik, membatasi akses antibiotik, membanyak *efflux* dari antibiotik (Molnar, 2010).

Resistensi dapat dibedakan berdasarkan asal usulnya menjadi:

### a. Resistensi bukan genetik

Bakteri yang tidak aktif metabolisnya (tidak bermultiplikasi) secara fenotip resisten terhadap antibiotik, tetapi turunannya akan peka dengan antibiotik. contoh pada *Mycobacteria* yang akan bertahan pada jaringan inang dan tidak peka terhadap antibiotik, apabila bakteri tersebut berkembang biak kembali atau penggunaan kortikosteroid maka bakteri tersebut akan peka kembali terhadap antibiotik (Jawetz et al., 1986). Perubahan bentuk sasaran dari antibiotik membuat bakteri resisten dan ketika kembali ke bentuk semula maka bakteri akan peka lagi terhadap antibiotik (Jawetz et al., 1986).

## b. Resistensi genetik

Pada resistensi ini terjadi di dalam kromosom atau ekstrakromosom.

### 1) Resistensi kromosomal

Resistensi ini terjadi akibat mutasi spontan pada suatu lokus yang mengendalikan kepekaan terhadap antibiotik. Protein P 12 pada sub ribosom 30S yang merupakan tempat pelekatan streptomisin, mutasi pada gen ini menyebabkan streptomisin tidak dapat melekat dan terjadi resistensi terhadap streptomisin. Mutasi spontan ini terjadi dengan frekuensi antara  $10^{-7}$  sampai  $10^{-12}$  (Jawetz et al., 1986).

### 2) Resistensi ekstrakromosomal

Plasmid merupakan ekstrakromosom pada bakteri. Gen plasmid pada bakteri mengendalikan pembentukan enzim yang dapat merusak antibiotik (beta laktamase) yang akan merusak beta laktam pada penisilin dan sefalosporin sehingga efek antimikroba dari antibiotik hilang dan bakteri yang dapat menghasilkan senyawa tersebut resisten. Pada beberapa bakteri juga memiliki enzim asetiltransferase yang akan merusak kloramfenikol dan masih banyak lagi mekanisme plasmid dalam menyebabkan resistensi (Jawetz et al., 1986).

Mekanisme yang membuat suatu bakteri resisten yaitu:

#### a. Mutasi

Kebanyakan mekanisme yang membuat suatu bakteri resisten diawali oleh mutasi. *Efflux* dan *uptake* antibiotik dapat diubah dengan memutasi gen pengatur atau daerah promotor yang mendasari *multiple antibiotic resistances*. Contohnya mutasi pada *gen mar* *E. coli* yang merubah ekspresi dari 60 gen yang berbeda, yang menyebabkan penurunan regulasi OmpF (*porin channel*) dan meningkatkan regulasi AcrAB (*RND efflux pump*) (Molnar, 2006).

#### b. Transfer gen

Penyebaran resistensi pada bakteri dapat terjadi secara vertikal (turun menurun) atau dapat juga secara horisontal dari suatu sel donor (Anonim, 1972). Cara perpindahannya yaitu:

#### 1) Transduksi

Bakteri menjadi resisten akibat mendapatkan DNA dari bakteriofag yang membawa DNA dari bakteri lain yang memiliki gen yang resisten terhadap antibiotik tertentu (Jawetz et al., 1986).

#### 2) Transformasi

Bakteri dapat resistensi akibat bakteri mengambil DNA bebas dari sekitarnya yang membawa sifat resisten. DNA polos berpindah dari satu sel ke sel lainnya sehingga merubah genotipnya (Jawetz et al., 1986).

#### 3) Konjugasi

Transfer sifat resisten terjadi antar 2 bakteri saat proses perkawinan. Plasmid atau DNA dipindahkan oleh tabung pilus seks. Cara ini merupakan metode paling umum dalam penyebaran resistensi terhadap berbagai antibiotik (Jawetz et al., 1986). Pada konjugasi gen yang dapat di transfer berupa *mobile genetic elements* (plasmid, transposon, integron, dan gen cassettes (Molnar, 2006).

#### 4) Translokasi

Terjadi pertukaran DNA antara plasmid satu dengan lainnya atau antara plasmid dengan kromosom pada sel bakteri (Jawetz et al., 1986).

### 3. Plasmid

Elemen genetik ekstrakromosom pada bakteri dinamakan plasmid, dimana direplikasi di dalam sel host (Selimovic *et al.*, 2007). Plasmid (R-plasmid) dapat membawa gen yang menyebabkan resistensi terhadap antibiotik dan R-plasmid dari bakteri yang resisten dapat ditransfer ke bakteri lain yang masih sensitif sehingga bakteri itu akan menunjukkan resistensi terhadap obat yang sama (Zaman, 2010), serta plasmid merupakan faktor dari *virulensi* dari bakteri. Plasmid terdiri dari moleku-molekul DNA beruntai ganda yang berbentuk bulat, kecuali plasmid pada sel ragi (Jawetz et al., 1986). Plasmid memiliki panjang dari beberapa kilobasa (1000 rantai basa) sampai ratusan kilobasa (Selimovic *et al.*, 2007)



Resistensi yang terjadi pada bakteri terhadap beberapa antibiotik dan logam ( $Hg^{2+}$  dan  $Co^{2+}$ ) diatur oleh satu atau lebih gen yang terdapat pada plasmid. Gen yang menimbulkan resistensi ini juga terdapat pada kromosom, tetapi dengan mekanisme yang berbeda. Mekanisme pada resistensi oleh plasmid kebanyakan melalui inaktivasi dengan cara enzim (melalui asetilasi dan fosforilasi). Gen pada kromosom dapat memberikan resistensi yaitu dengan mengubah struktur tempat pengikat obat, karena gen pada kromosom berfungsi sebagai penentu struktur komponen sel yang diperlukan (Jawetz et al., 1986). Beberapa plasmid juga merupakan pengkode untuk beberapa zat toksik pada bakteri seperti endotoksin pada strain *Escherichia coli*, toksin eksofoliativa pada stafilokok, dan toksin *Basilus anthracis* (Jawetz et al., 1986).

#### 4. Kromosom

Materi genetik digunakan oleh setiap makhluk hidup untuk mensintesis protein untuk menjalankan fungsi penting dalam tubuh. Banyak bakteri memiliki satu kromosom dengan ukuran DNA kurang lebih 0,58 Mbp sampai 9 Mbp, dimana 1Mbp sama dengan 1.000.000 pasang basa. Kromosom dapat berbentuk *circular* atau *linear* (Higgins, 2001). Kebanyakan dari kromosom bakteri memiliki berbentuk *circular*. Kromosom ini tidak tertutup oleh membran dan berada bebas di sitoplasma. Pada keadaan tidak terjadi pembelahan DNA ini berbentuk supercolling dimana dua rantai DNA akan berpuntir mengelilingi sebuah helical axis setiap 10,6 pasang basa (Thanbichler et al., 2005). Mutasi pada kromosom seperti mutasi pada 16S ribosomal RNA A1185 dan C1186 menyebabkan *Borrelia burgdorferi* resisten terhadap spektinomisin dan mutasi pada 16S ribosomal RNA A1402 menyebabkan *Borrelia burgdorferi* resisten terhadap kanamisin atau gentamisin (Criswell, 2006).

## 5. *Plasmid Curing*

Pada plasmid mungkin terdapat DNA pembawa resistensi antibiotik pada bakteri, bakteri yang telah resistensi juga dapat mentransfer DNA tersebut ke bakteri lain (Jawetz *et al.*, 1986). *Plasmid curing* merupakan metode untuk mengeliminasi plasmid. Pemisahan dan penghapusan pada bakteri dapat terjadi secara normal tetapi hal tersebut jarang terjadi, sehingga dilakukan plasmid curing untuk meningkatkan kejadian tersebut.

*Plasmid curing* dapat dilakukan dengan beberapa metode yaitu dengan meningkatkan temperatur, menggunakan senyawa kimia seperti pengkelat internal (*acridine orange*, *etidium bromide*), pemberian larutan kristal violet, *sodium dodecylsulfat* (SDS) dan pemaparan dengan radiasi UV (Zaman, 2010). Mekanisme dari *curing agent* tersebut dapat berupa penghambatan pada replikasi DNA, membentuk kompleks dengan DNA, dan dapat menyebabkan perubahan pada permukaan sel bakteri (EL-Mansi *et al.*, 2000).

## 6. PCR

Polymerase chain reaction (PCR) adalah teknik dalam biologi molekuler untuk memperbanyak DNA. Ada tiga langkah pada PCR yaitu *denaturation*, *annealing*, dan *extention*. *Denaturation* merupakan tahap awal PCR dimana DNA akan terpisah menjadi single strand DNA, pada tahapan ini digunakan suhu 90-97°C. *Annealing* merupakan tahapan dimana primer akan berikatan dengan single strand DNA, dengan suhu 50-60°C. Digunakan dua primer, dimana satu primer akan berikatan pada ujung DNA yang diinginkan dan satu primer lainnya berikatan pada ujung lainnya. *Extention* merupakan tahap akhir dimana terjadi perpanjangan DNA, suhu yang digunakan adalah 72°C (Joshi *et al.*, 2010 dan Stansfield *et al.*, 2006).

## 7. Enzim restriksi

Enzim restriksi endonuklease merupakan enzim yang memotong sekuen spesifik pada DNA. Restriksi enzim dibagi menjadi 3 kelompok berdasarkan struktur molekul dan penggunaan *co-factor*. Kelas pertama memiliki 300,000

dalton dan membutuhkan  $Mg^{2+}$ , ATP (adenosin triphosphat), dan SAM (S-adenosin-methionine) sebagai *co-factor*. Kelas kedua memiliki ukuran yang lebih kecil yaitu 20,000 sampai 100,000 dalton dan hanya membutuhkan  $Mg^{2+}$  sebagai *co-factor*. Kelas ketiga memiliki ukuran sekitar 200,000 dalton dan membutuhkan  $Mg^{2+}$ , dan ATP (adenosin triphosphat) sebagai *co-factor*. Dengan adanya sisa SDS dari alkali lisis, NaCl, CsCl dan EDTA dapat menghambat kerja dari enzim ini. Kontaminasi protein pada sampel DNA dapat mempengaruhi pemotongan DNA oleh enzim (Robinson et al., 2001)

