

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Escherichia coli* (*E. coli*)

Escherichia coli merupakan spesies bakteri gram negatif, berbentuk batang, berukuran 0,4-0,7 x 1,0-3,0 μm , bersifat fakultatif anaerobic, dapat hidup soliter maupun berkelompok, umumnya motil, dan termasuk ke dalam genus *Escherichia* yang merupakan flora normal sistem pencernaan bagian bawah organisme berdarah panas. Bakteri *Escherichia coli* pertama kali diisolasi oleh Theodor Escherich dari tinja seorang anak kecil pada tahun 1885 (Singleton *et al.*, 1999; Carter *et al.*, 2004).

Dalam genus *Escherichia* terdapat enam jenis spesies yang lima diantaranya dapat menyebabkan penyakit pada manusia. Dalam hal ini, *Escherichia coli* bertanggung jawab lebih dari 99% kasus infeksi pada manusia (Brooks *et al.*, 2004)

Walaupun sebagian besar *strain* dari bakteri *Escherichia coli* tidak berbahaya, namun beberapa *serotypes* dapat menyebabkan kontaminasi makanan yang berujung pada keracunan, *gastroenteritis*, *urinary tract infections*, dan *neonatal meningitis*. Pada kasus yang lebih jarang, bakteri ini juga bertanggung jawab atas penyakit *hemolytic-uremic syndrome*, *peritonitis*, *mastitis*, *septicemia*, dan *gram negative pneumonia*. (Todar *et al.*, 2007)

2.1.1 Taksonomi bakteri *Escherichia coli*

Klasifikasi *Escherichia coli* adalah sebagai berikut (Todar *et al.*, 2007):

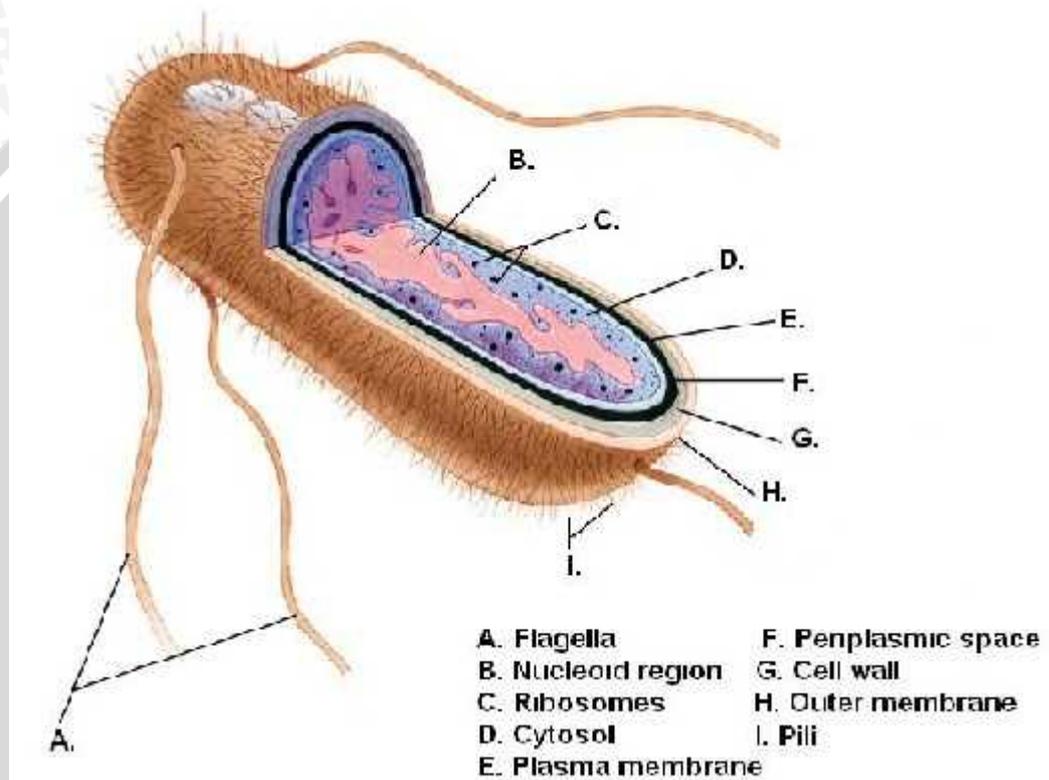
Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Species	: <i>Escherichia coli</i>

2.1.2 Morfologi Bakteri *Escherichia coli*

Bakteri *Escherichia coli* adalah kuman berbentuk batang (basil) pendek, bergram negatif yang dapat membentuk rantai, berukuran 0,4-0,7 x 1,0-3,0 μm , bersifat fakultatif anaerobik, dapat hidup soliter maupun berkelompok, motil, dan tidak dapat membentuk spora. Memiliki fimbria atau pili yang bertanggung jawab pada perlekatan antar sel hospes dan bakteriofag, dan juga pada perlekatan antar bakteri itu sendiri (Singleton *et al.*, 1999; Carter *et al.*, 2004)

Struktur sel *Escherichia coli* dikelilingi oleh membrane sel, yang terdiri dari sitoplasma yang mengandung nucleoprotein. Membran sel *Escherichia coli* ditutupi oleh dinding sel berlapis kapsul. Flagela dan pili *Escherichia coli* menjulur dari permukaan sel. Dinding sel terdiri atas murein, lipoprotein, fosfolipid, protein, dan lipopolisakarida (LPS), semuanya tersusun menjadi lapisan-lapisan. Lapisan murein-lipoprotein merupakan 20% dari dinding sel dan bertanggung jawab pada

rigiditas seluler. Sisanya 80% berkaitan dengan lipid dari lipoprotein untuk membentuk *lipid bilayer*. LPS bertanggung jawab pada aktivitas endotoksik dan mengandung rantai polisakarida khusus yang menentukan antigenitas dari berbagai spesies (Tizard *et al.*, 2004; Elena *et al.*, 2005).



Gambar 2.1 Morfologi bakteri Gram negatif

Escherichia coli merupakan salah satu jenis bakteri yang memiliki Gram negatif (Bethany *et al.*, 2008).

Salah satu strain dari *Escherichia coli* merupakan strain bakteri yang memiliki resistensi terhadap antibiotika tertentu karena merupakan salah satu bakteri penghasil *Extended-spectrum Beta-lactamase* (ESBL), sehingga bakteri tetap dapat bertahan hidup dalam tubuh manusia. ESBL adalah enzim yang mempunyai kemampuan untuk menghidrolisis antibiotik golongan penicillin, cephalosporin generasi satu, dua, dan tiga, serta golongan aztreonam (namun bukan cephamecin dan carbapenem). ESBL paling banyak dihasilkan oleh

Enterobacteriaceae, terutama *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumoniae* (Paterson & Bonomo, 2005).

ESBL *Escherichia coli* mencapai 23%, sedangkan Prevalensi ESBL *Klebsiella pneumoniae* di Indonesia mencapai 33,3% (Lewis, 1999). Pada tahun 2010 telah dilakukan penelitian di RSUD dr. Saiful Anwar Malang tentang ESBL. Dari 79 isolat *Escherichia coli* ditemukan 32 (40,5%) *Escherichia coli* ESBL dan dari 76 isolat *Klebsiella pneumoniae* ditemukan 44 (57,9%) *Klebsiella pneumoniae* ESBL. Meskipun telah menggunakan antibiotik pilihan untuk mengatasi kasus ESBL *Escherichia coli*, yakni jenis carbapanem yang terdiri dari imipenem, meropenem, dan ertapenem. Sebuah penelitian yang dilakukan oleh Tao *et al.* pada tahun 2005 menunjukkan terjadi kasus resistensi pertama ESBL *Escherichia coli* pada antibiotika golongan ini (Santoso & Hamid, 2010; Tao *et al.*, 2005).

2.1.3 Struktur Antigen

Tiga struktur utama permukaan yang digunakan untuk membedakan serotype golongan *Escherichia coli* adalah dinding sel (Antigen O), kapsul (Antigen K), dan flagella (Antigen H). Penentuan profil antigen dari berbagai galur ini berguna untuk penelitian epidemiologi dan beberapa penelitian menyangkut penyakit yang dapat ditimbulkannya (Quinn *et al.*, 2002; Dzen, dkk., 2003). Hal lebih lanjut dijabarkan sebagai berikut:

1. Antigen O (Somatik)

Antigen O yang terdapat lebih dari 164 ini adalah antigen di bagian terluar dari dinding sel lipopolisakarida bersifat tahan panas atau termostabil,

mengandung gugus gula yang unik dan mengandung alcohol. Antigen O terdiri atas unit-unit polisakarida berulang (oligosakarida) yang mengandung glukosamin.

2. Antigen H (Flagel)

Antigen H yang berjumlah sekitar 50 ini bersifat tidak tahan panas atau termolabil dan akan rusak pada suhu 100 derajat celcius. Antigen ini terdiri dari protein dan bersifat antigenik. Protein pada antigen H dapat diadenaturasi dengan pemanasan atau alkohol. Antigen H dapat diaglutinasi oleh anti-H antibodi terutama igG. Faktor penentu dari antigen ini adalah fungsi rantai asam amino pada protein flagelata yang disebut flagelin. Dalam serotipe tunggal, antigen H bisa beradan n dalam satu atau dua bentuk yang disebut antigen H fase 1 dan antigen H fase 2. Dua bentuk antigen ini terjadi karena ada mikroorganisme yang cenderung berubah dari fase satu ke fase lain. Antigen ini bisa mengganggu aglutinasi oleh antibody terhadap antigen O.

3. Antigen K (Kapsul)

Antigen K atau *envelop antigen* yang berjumlah sekitar 100 ini terdapat pada permukaan luar bakteri, terdiri dari polisakarida yang dapat melindungi membran luar dari fagositik dan sistem komplemen dan bersifat tidak tahan panas. Antigen K pada species *Escherichia coli* ini membentuk suatu fimbria (Quinn *et al.*, 2002; Dzen, dkk., 2003; Brooks *et al.*, 2004).

2.1.4 Ciri-Ciri Pertumbuhan dan Media Pertumbuhan *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan bakteri gram negative, fakultatif anaerob, kemooganotropik dan tidak membentuk spora. *Escherichia coli* mempunyai tipe

metabolism fermentasi dan respirasi, akan tetapi laju pertumbuhannya yang paling sedikit banyak terjadi di bawah keadaan anaerob. *Escherichia coli* termasuk bakteri mesofilik dengan suhu pertumbuhannya dari 7°C sampai dengan 50°C dan suhu optimum sekitar 37°C. *Escherichia coli* dapat tumbuh pada pH 4-9 dengan pH optimum 6-7 dan aktivitas air 0,935. Laju pertumbuhan *Escherichia coli* sekitar 25jam/generasi pada suhu 8°C. *Escherichia coli* dapat dibedakan dengan Enterobacteriaceae lainnya berdasarkan uji gula-gula dan uji biokimia. Secara sederhana uji-uji untuk grup penting ini disebut dengan *indole*, *methyl red*, *voges-proskour*, *circuit* atau disingkat IMViC (Forsythe *et al.*, 2000).

Banyak kultur atau media sebagai tempat pertumbuhan untuk bakteri *Escherichia coli* antara lain adalah media EMB dan media MacConkey Agar.

1. EMB (Eosine Methylene Blue)

Eosine Methylene Blue atau *Levine's formulation* adalah media pewarnaan selektif untuk bakteri gram negatif. Media ini merupakan campuran dari dua pewarnaan yaitu *eosine* dan *methylene blue* dengan rasio 6:1. Manfaat dari penggunaan agar ini adalah sebagai pembeda antara bakteri gram negatif yang dapat memfermentasikan laktosa (contoh: *Escherichia coli*) dan yang tidak (contoh: *Salmonella* dan *Shigella*). *Escherichia coli* sebagai bakteri yang memfermentasikan laktosa, akan menghasilkan koloni dengan inti berwarna hijau kegelapan dengan kilap logam atau umum dengan istilah *metallic green sheen*. Sedangkan untuk bakteri lain yang tidak memfermentasikan laktosa, tumbuh koloninya tidak menghasilkan warna.



Gambar 2.2 Media Eosine Methylene Blue

Bakteri *Escherichia coli* membentuk gambaran *green metallic sheen* pada media EMB ini. (Naowarat *et al.*, 2010).

2. Media MacConkey Agar

MacConkey (MAC) agar adalah media selektif dan pembeda yang didesain untuk mengisolasi dan pembeda bakteri berdasarkan kemampuannya memfermentasikan laktosa. *Bile salts* dan *crystal violet* yang terkandung dalam agar ini menghambat pertumbuhan dari bakteri gram positif. Laktosa menyediakan sumber karbohidrat yang dapat difermentasikan yang menjadi pembeda yang ada saat bakteri ditumbuhkan di agar ini. Pada MAC agar, warna merah netral yang menjadi merah terang mengindikasikan suasana pH pada agar tersebut di bawah 6.8, sedangkan jika tidak terjadi perubahan warna apapun mengindikasikan suasana pH pada agar 6.8 atau lebih dari itu. *Escherichia coli* sebagai bakteri yang memfermentasikan laktosa akan menghasilkan suasana asam dan menghasilkan warna pink atau merah terang pada

koloni tersebut, *Bile salts* sebagai bagian dari agar tersebut juga akan mengendap karena adanya perubahan pH pada agar tersebut (Beaver *et al.*, 2000).



Gambar 2.3 Media MacConkey Agar

Escherichia coli menghasilkan warna pink atau merah terang karena menghasilkan suasana yang asam. (Andre *et al.*, 2008).

2.1.5 Manifestasi Klinis *Escherichia coli*

Bakteri *Escherichia coli* yang menginfeksi manusia dapat menyebabkan gangguan ringan maupun serius pada tubuh manusia. Beberapa manifestasi klinis yang disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* antara lain adalah:

1. Infeksi saluran kemih

Infeksi saluran kemih (ISK) merupakan penyebab infeksi sistemik nomor dua setelah infeksi saluran napas. Infeksi ini disebabkan oleh berbagai bakteri piogenik, yaitu di luar rumah sakit yang terutama oleh bakteri *Escherichia coli*, sedangkan di dalam rumah sakit sendiri biasanya disebabkan oleh infeksi dari bakteri *Klebsiella*, *Proteus*, dan *Pseudomonas*. ISK paling banyak disebabkan oleh

bakteri *Escherichia coli* dengan presentase kejadian hampir 39,4% dari jumlah seluruh kasus (Sjamsuhidajat, 1997; Samirah, 2006)

Escherichia coli lebih sering mengenai wanita dengan presentase terkenanya sekitar 90% pada wanita muda karena struktur anatomisnya, kematangan seksualnya, perubahan traktus urogenitalis selama kehamilan dan kelahiran, serta adanya tumor. Gejala dan tanda-tanyanya antara lain sering kencing, *dysuria*, dan *piuria*. Tidak ada satu pun dari gejala atau tanda-tanda ini bersifat khusus untuk infeksi bakteri *Escherichia coli*. Infeksi saluran kemih dapat mengakibatkan bakterimia dan tanda-tanda klinik sepsis. Kebanyakan infeksi disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* dengan sejumlah kecil tipe antigen O dan terjadinya gangguan ginjal yang berhubungan dengan *Escherichia coli* nefropatogenik secara khas menghasilkan hemolisin dan antigen K (Kapsuler). Sedangkan *pielonefritis* berhubungan dengan adanya fimbria-P (Tim Mikrobiologi FKUB; 2003 Jawetz *et al.*, 2005).

2. Diare yang berhubungan dengan infeksi *Escherichia coli*

Diare adalah pengeluaran tinja berair berkali-kali secara tidak normal. Toksin yang dibentuk oleh bakteri *Escherichia coli* dapat menyebabkan diare baik pada binatang dan manusia. Kemampuan melekat (*adhesi*) pada usus halus organisme merupakan factor yang sangat penting dalam menentukan virulensi bakteri. Selain pembentukan toksin dan daya perlekatan bakteri pada permukaan epitel mukosa usus halus dengan perantaraan plasmid yang merupakan ciri khas *Escherichia coli*, salah satu *strain Escherichia coli* juga ada yang mampu melakukan invasi menembus ke dalam mukosa usus halus anak dan orang dewasa (Todar *et al.*, 2008; Dorland *et al.*, 2002).

Berdasarkan ciri khas sifat-sifat virulensinya, bakteri *Escherichia coli* diklasifikasikan sebagai berikut:

a. Escherichia coli Enteropatogenik (EPEC)

EPEC adalah penyebab penting diare pada bayi, khususnya di Negara-negara berkembang. EPEC melekat pada sel mukosa yang kecil. Faktor yang diperantarai secara kromosom menumbulkan perlekatan yang kuat. Akibat dari infeksi EPEC adalah diare cair, yang biasanya sembuh sendiri tetapi juga dapat menjadi kronik. Lamanya diare dapat diperpendek dengan pemberian antibiotik. Diare yang terjadi pada manusia, juga dapat terjadi pada kelinci, anjing, kucing, dan kuda. Diare EPEC dikaitkan dengan banyak serotype spesifik bakteri *Escherichia coli*. Strain diidentifikasi melalui penggolongan antigen O dan kadang-kadang antigen H.

b. Escherichia coli Enterotoksigenik (ETEC)

ETEC adalah penyebab sering dari “diare wisatawan” dan sangat penting menyebabkan diare pada bayi di Negara berkembang. Faktor kolonisasi ETEC yang spesifik untuk menimbulkan perlekatan ETEC pada sel epitel usus kecil. Lumen usus teregang oleh cairan dan mengakibatkan hipermotilitas serta diare, dan berlangsung selama beberapa hari. Beberapa strain ETEC menghasilkan eksotoksin tidak tahan panas. Profilaksis antibakteri dapat efektif tetapi bias menimbulkan peningkatan resistensi antibiotik pada bakteri. Ketika timbul diare, pemberian antibiotik dapat secara efektif mempersingkat lamanya penyakit. ETEC menggunakan fimbrial adhesi (penonkolan dari dinding sel bakteri) untuk mengikat sel-sel enterosit di usus halus. ETEC dapat memproduksi 2 proteinus enteretoksin, dua protein yang

lebih besar, LT enterotoksin sama pada struktur dan fungsi toksin kolera yang lebih kecil. ST enterotoksin menyebabkan akumulasi cGMP pada sel target dan elektrolit dan cairan sekresi berikutnya ke lumen usus. ETEC *strain* tidak invasif dan tidak tinggal pada lumen usus.

c. Escherichia coli Enterohemorhagik (EHEC)

EHEC menghasilkan verotoksin yang berhubungan dengan kolitis hemoragik, bentuk diare yang berat, dan dengan sindroma uremia hemolitik, suatu penyakit akibat gagal ginjal akut, *anemia hemolitik mikroangiopatik*, dan trombositopenia. Pada EHEC, terdapat sedikitnya dua bentuk antigenik dari toksin. Banyak kasus EHEC dapat dicegah dengan memasak daging sampai matang.

d. Escherichia coli Enteroinvasif (EIEC)

EIEC menyebabkan penyakit yang sangat mirip dengan shigellosis. Penyakit ini sering terjadi pada anak-anak di Negara berkembang dan pada wisatawan yang menuju ke Negara tersebut. EIEC melakukan fermentasi laktosa dengan lambat dan tidak bergerak. EIEC menimbulkan penyakit melalui invasinya ke sel epitel mukosa usus. Diare ini ditemukan hanya pada manusia.

e. Escherichia coli Enteroagregatif (EAEC)

EAEC menyebabkan diare akut dan kronik pada masyarakat di Negara berkembang. Bakteri ini ditandai dengan pola khas pelekatannya pada sel manusia. EAEC memproduksi hemolisin dan ST enterotoksin yang sama dengan ETEC (Triadmodjo, 1992; Jawetz *et al.*, 2005).

3. Sepsis

Sepsis terjadi bila pertahanan inang tidak adekuat, bakteri *Escherichia coli* kemudian bisa masuk peredaran darah dan menyebabkan sepsis. Bayi yang baru lahir sangat rentan terhadap sepsis karena bakteri *Escherichia coli* karena tidak memiliki antibody igM. Sepsis juga bisa terjadi sebagai efek sekunder dari ISK (Dzen, dkk. 2003; Jawetz *et al.*, 2005)

4. Meningitis

Bakteri *Escherichia coli* merupakan penyebab utama meningitis pada bayi di samping *Group B Streptococcus* dengan persentase kasus sekitar 40% kasus meningitis neonatal dan kira-kira 75% dari kasus *Escherichia coli* tersebut memiliki antigen K1. Antigen ini bisa bereaksi silang dengan dengan polisakarida kapsuler grup B dari *Neisseria meningitides* (Dzen, dkk. 2003).

2.2 Daun Katuk (*Sauropus androgynous*)

Sauropus androgynous adalah tanaman dari family Euphorbiaceae. Tanaman tersebut dapat tumbuh hingga 3 meter. Tanaman ini tersebar di negara-negara India, Sri Lanka, Thailand, Laos, Malaysia, Indonesia, dan hampir di seluruh Negara-negara Asia Tenggara. Daun dari tumbuhan katuk ini telah terbukti mempunyai berbagai khasiat. Kandungan vitamin A (*Carotenoids*) yang tinggi terutama pada daun yang baru dipetik sudah terbukti, begitu juga dengan kandungan vitamin B dan C, protein dan mineralnya (Gayathamma *et al.*, 2012).

2.2.1 Klasifikasi Tumbuhan Katuk (*Sauropus androgynous*)

Kingdom : Plantae

Division : Spermatophyta

Class	: Dicolyledonae
Ordo	: Euphorbiales
Family	: Euphorbiaceae
Genus	: <i>Sauropus</i>
Species	: <i>Sauropus androgynous</i> (Wardhani, 2009)

2.2.2 Morfologi dan Ekologi

Sampai sekarang, dikenal 2 jenis tanaman katuk, yakni katuk hijau yang kini diusahakan orang terutama dimanfaatkan daun-daunnya dan katuk merah yang masih banyak dijumpai di hutan-hutan belantara. Pertumbuhan katuk hijau lebih produktif daripada katuk merah. Katuk hijau banyak digunakan untuk keperluan konsumsi, yaitu sebagai obat-obatan dan sayuran (Surhone *et al.*, 2011).

Katuk termasuk tanaman merumpun, berbentuk perdu dengan ketinggian sekitar 3-5 meter. Batangnya tumbuh tegak dan berkayu. Jika ujung batang dipangkas, akan tumbuh tunas-tunas baru yang membentuk percabangan. Batang daun katuk berkayu, bulat, bekas daun nampak jelas, tegak, pada saat muda berwarna hijau sedangkan jika tua berwarna coklat hijau. Cabang-cabang sedikit lunak dan terbagi.

Daun kecil majemuk berbentuk seperti bulat telur, permukaan atas berwarna hijau gelap, permukaan bawah hijau muda keputihan dengan ujung runcing dan pangkal yang tumpul, tepinya rata, pertulangan menyirip, bertangkai pendek dan hijau. Daun tersusun secara selang-seling pada satu tangkai,

berbentuk lonjong sampai bundar dengan panjang 1,5-6 cm dan lebar 1-3,5 cm.

Daun menyirip ganda dan jumlahnya banyak.

Katuk termasuk tanaman yang rajin berbunga. Bunga tunggal atau berkelompok tiga. Bunganya kecil-kecil majemuk, berbentuk payung, letak bunga ditemukan pada ujung ketiak daun, mahkota bulat telur, berwarna ungu, kepala putik tiga bentuk ginjal, benang sari satu atau lenig, tangkai 5-10 mm, bakal buah menumpang dan berwarna ungu, bunganya berwarna merah gelap sampai kekuning-kuningan dengan bintik-bintik merah gelap. Bunganya dapat tumbuh sepanjang tahun.

Buah berwarna putih, kecil dan melekat pada cabang dan rantingnya. Buah bertangkai panjang 1.25 cm. Buah berbentuk bulat, beruang tiga, diameter 1.5 mm, berwarna hijau keputih-putihan.

Biji katuk berbentuk bulat, tiap buah berisi tiga biji, konsistensinya keras dan berwarna putih. Sedangkan akar katuk merupakan akar tunggang dan berwarna putih kotor.

Katuk tumbuh sedara liar di hutan dan ladang. Katuk termasuk tanaman yang mudah tumbuh. Di Indonesia tumbuh dengan baik di dataran dengan ketinggian 0-2100 m di atas permukaan laut (Surhone *et al.*, 2011).



Gambar 2.4 Morfologi daun dan buah dari Sauropus androgynous

Daun kecil majemuk berbentuk dengan permukaan atas berwarna hijau gelap, permukaan bawah hijau muda keputihan dengan ujung runcing dan pangkal yang tumpul. Buah berwarna putih, kecil dan melekat pada cabang dan rantingnya (Bui *et al.*, 2013).

2.2.3 Kandungan Daun Katuk (*Sauropus androgynous*)

2.2.3.1 Kandungan Nutrisi

Dalam 100 gram daun katuk terkandung energi 59 kalori, protein 6,4 gram, lemak 1,0 gram, hidrat arang 9,9 gram, serat 1,5 gram, abu 1,7 gram, kalsium 233 mg, fosfor 98 mg, besi 3,5 mg, karoten 10020 mcg (Vitamin A), B, dan C 164 mg, serta air 81 gram.

Dilihat dari nilai gizinya, daun katuk memiliki nilai gizi yang cukup baik, seperti protein, lemak, kalsium, fosfor, besi, vitamin A, B, dan C. Daun katuk merupakan sumber vitamin C yang sangat baik. Kandungan vitamin C pada daun katuk bahkan jauh lebih tinggi daripada jeruk maupun jambu biji, yang selama ini telah dikenal sebagai sumber vitamin C yang sangat baik (Wardhani, 2009).

2.2.3.2 Kandungan Non-Nutrisi

Hasil analisis GCMS pada ekstrak heksana menunjukkan adanya beberapa senyawa alifatik. Pada ekstrak eter terdapat komponen utama yang meliputi: monometil suksinat, asam benzoate dan asam 2-fenilmalonat; Serta komponen minor yang meliputi terbutol, 2-propagiloksan, 4H-piran-4-on, 2-metoksi-6-metil, 3-peten-2-on, 3-(2-furanil), dan asam palmitat. Pada ekstrak etil aasetat terdapat komponen utama yang meliputi: sis-2-metil-siklopentanol aasetat. Asam benzoate (C_6H_5COOH) adalah suatu asam karboksilik yang terdiri dari Kristal padat tak berwarna (Wardhani, 2009).

2.2.3.3 Kandungan Antibakteri

Beberapa kandungan daun katuk (*Sauropus androgynous*) memiliki potensi antibakteri, diantaranya sebagai berikut:

1. Saponin

Saponin merupakan glikosida hasil metabolit yang tersimpan di dalam sel tumbuhan. Saponin ada pada seluruh tanaman dengan konsentrasi tinggi pada bagian-bagian tertentu dan dipengaruhi oleh varietas tanaman dan tahap pertumbuhannya. Saponin adalah kelompok glikosida yang ditemukan pada tanaman yang dapat membentuk busa yang tahan lama bila larutannya dalam air dikocok dan mampu melisis sel darah merah. Saponin termasuk dalam *phytochemicals* yang memiliki spektrum aktivitas sebagai antijamur dan antibakteri. Hal ini didasarkan kemampuannya untuk membentuk kompleks dengan protein dan dinding sel sehingga terjadi denaturasi protein dan rusaknya dinding sel yang akhirnya sel menjadi lisis. Sebagai bahan konsumsi tubuh, saponin

memiliki aktifitas luas sebagai agen antifungi, antibakteri, menghambat pertumbuhan sel kanker, dan menurunkan kolesterol tubuh. Kadar kandungan saponin yang berada di daun katuk lebih besar dari yang berada di akar dan bunganya (Nio, 1989; Dorland *et al.*, 2002).

2. Flavonoida

Flavonoida adalah sekelompok senyawa yang memiliki inti heterosiklik trimetric aromatic yang khas, biasa ditemukan dalam bentuk glikosidat, dan tersebar luas pada tanaman. Aktivitas flavonoid kemungkinan disebabkan oleh kemampuannya untuk mengikat adhesin, membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut, dan juga membentuk kompleks dengan dinding sel bakteri. Sifat lipofilik flavonoid juga mungkin dapat merusak membrane dari suatu mikroba. Kadar kandungan flavonoida yang berada di daun katuk lebih besar dari yang berada di akar dan bunganya (Dorland *et al.*, 2002).

3. Tannin

Tannin (*Tannin acid*) adalah senyawa yang bekerja sebagai astringent, yaitu melapisi mukosa usus, khususnya usus besar. Tannin juga menjadi penyerap racun dan dapat menggumpalkan protein. Tannin bekerja dengan cara berikatan pada adhesin faktor pada bakteri dan membentuk kompleks dengan polisakarida pada dinding sel bakteri, sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri tersebut. Kadar kandungan tannin yang berada di daun katuk lebih besar dari yang berada di akar dan bunganya (Wardhani, 2009).

4. Alkaloid

Alkaloid adalah salah satu dari kelompok besar bahan dasar nitrogen yang ditemukan pada tanaman. Alkaloid bekerja pada dinding sel bakteri dengan cara mengganggu pertumbuhan peptidoglikan sel sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri tersebut. Kadar kandungan alkaloid yang berada di daun katuk lebih besar dari yang berada di akar dan bunganya (Dorland *et al.*, 2002).

2.2.3.4 Manfaat Daun Katuk

Berbagai manfaat dari daun katuk sudah dikenal oleh masyarakat luas. Beberapa manfaat dari daun katuk yang sudah dikenal adalah sebagai berikut.

1. Sebagai Sumber Gizi

Daun katuk yang masih muda (pucuk) kayak akan kandungan gizi dibandingkan dengan daun singkong dan daun pepaya. Bahkan, kandungan zat besi daun katuk lebih unggul daripada daun pepaya dan daun singkong.

2. Meningkatkan Produksi Air Susu Ibu (ASI)

Dalam penelitian yang dilakukan oleh Suryaningsih di jurnal yang diterbitkan pada tahun 2009, terbukti terjadi peningkatan produksi ASI pada ibu menyusui yang mengkonsumsi daun katuk dibandingkan yang tidak mengkonsumsi daun katuk. Di masyarakat luas pun sudah beredar ekstrak daun katuk dalam berbagai bentuk sebagai suplemen untuk meningkatkan produksi ASI.

3. Sebagai Tanaman Obat

Sebelum diteliti kandungan nutrisi maupun kandungan antibakterinya, daun katuk sudah lama dikonsumsi masyarakat sebagai obat herbal untuk menyembuhkan gejala penyakit. Air rebusan dari bagian tanaman katuk ini dapat membantu menurunkan gejala demam. Pemanfaatan daun katuk juga dapat memperingan sembelit dan membantu penyembuhan penyakit frambusia dan luka pada kulit. Kandungan beta karoten yang tinggi pada daun katuk juga dapat membantu kesehatan mata dan kulit. Pemanfaatan daun katuk sebagai tanaman obat pada masyarakat umumnya adalah dengan cara direbus lalu di air rebusannya diminum, dijadikan lalapan, atau dijadikan sayur menir (Suryaningsih, 2009).

Keistimewaan daun katuk pada penelitian ini adalah dengan sudah banyak terbuktinya khasiat dan manfaat daun katuk dalam menyembuhkan gejala-gejala penyakit dan kandungan antibakteri yang dimilikinya sehingga berpotensi menghambat pertumbuhan dari bakteri *Escherichia coli* ini.

2.3 Antibakteri

Antibiotika adalah segolongan senyawa, baik alami maupun sintetik yang mempunyai efek menekan atau menghentikan suatu proses biokimia di dalam organisme, khususnya dalam proses infeksi bakteri. Obat antibakteri mempunyai susunan kimiawi dan cara kerja berbeda antara obat satu dan obat yang lainnya. Antibakteri mengganggu bagian-bagian bakteri yang peka, yaitu:

1. Menghambat sintesis dinding sel

2. Menghambat sintesis protein
3. Menghambat sintesis asam nukleat
4. Antagonis metabolit (Dzen, dkk., 2003; Brooks et al., 2004)

Antibiotika sering disebut bakteriostatik atau bakterisidal. Istilah bakteriostatik menggambarkan suatu obat yang sewaktu-waktu menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Keberhasilan pengobatan ini sering bergantung pada partisipasi mekanisme pertahanan tubuh inang. Istilah bakterisidal digunakan untuk obat yang menyebabkan kematian organisme (Ornston *et al.*, 2003).

2.4 Uji Kepekaan terhadap Antibakteri secara In Vitro

Penentuan aktivitas bahan antibakteri dapat dilakukan dengan dua metode dasar, yaitu:

2.4.1 Metode Dilusi

1. Dilusi Tabung

Tes ini dikerjakan dengan menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi media cair dan sejumlah sel mikroba tertentu yang akan diuji. Kemudian masing-masing tabung diisi dengan obat yang telah diencerkan secara serial. Selanjutnya seri tabung diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam dan diamati terjadinya kekeruhan pada tabung. Konsentrasi terendah pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan mikroba) adalah KHM (Kadar Hambat Minimal) dari obat. Selanjutnya biakan dari semua tabung yang jernih diinokulasikan pada media agar padat, diinkubasikan, dan

keesekoan harinya diamati ada tidaknya koloni mikroba yang tumbuh. Konsentrasi terendah pada biakan yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan bakteri adalah KBM (Kadar Bunuh Minimal) dari obat terhadap bakteri uji. Untuk menentukan KHM dapat juga dilakukan dengan cara menggunakan medium agar padat yang disebut dengan metode E test (Dzen, dkk., 2003).

2. Dilusi Agar

Uji kepekaan antibakteri yang lain adalah dengan menggunakan metode dilusi agar. Metode ini digunakan untuk menentukan konsentrasi minimum yang dibutuhkan suatu bahan antibakteri untuk membunuh atau menghambat mikroorganisme. Cara ini memiliki kelebihan dibanding metode lain karena fleksibilitasnya. Fleksibilitasnya antara lain adalah format hasilnya dapat berupa kuantitatif (KHM dalam satuan mikrogram per millimeter) maupun dalam bentuk kategori (*susceptible*, *moderately susceptible* atau *resistant*) atau dapat menggunakan keduanya. Keuntungan lain metode ini adalah kemampuan untuk mendeteksi berbagai pola resistensi yang mungkin tidak terdeteksi oleh metode difusi cakram (Ornston *et al.*, 2003).

2.4.2 Metode Difusi

Tes ini dikerjakan dengan menggunakan cahaya kertas saring yang mengandung bahan antibakteri yang telah ditentukan kadarnya. Cakram kemudian ditempatkan pada media padat yang telah diberi bakteri uji. Setelah

diinkubasi, diameter hambatan dihitung sebagai daya hambat obat terhadap bakteri uji. Area hambatan yang terbentuk ditunjukkan sebagai daerah yang tidak memperlihatkan adanya pertumbuhan bakteri di sekitar cakram kertas saring (Brooks *et al.*, 2004).

Untuk mengevaluasi hasil uji kepekaan tersebut, apakah isolat mikroba sensitif atau resisten terhadap obat, dapat dilakukan dengan cara seperti berikut ini:

1. Cara Kirby Bauer

Dengan membandingkan diameter area jernih (zona hambatan) di sekitar cakram dengan tabel standar yang dibuat oleh NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standard*). Dengan tabel NCCLS ini dapat diketahui kriteria sensitive, sedang, atau resisten.

2. Cara Joan-Stokes

Dengan membandingkan radius zona hambatan yang terjadi antara bakteri control yang sudah diketahui kepekaannya terhadap obat tersebut dengan isolate bakteri yang diuji. Dengan cara ini, prosedur uji kepekaan untuk bakteri control dan bakteri uji bersama-sama dalam satu cakram agar (Dzen, dkk., 2003).

3. Cara Difusi Sumuran (Well Difussion Method)

Dengan membuat lubang-lubang pada agar yang telah dikultur dengan bakteri yang akan diujikan. Pada lubang-lubang tersebut nantinya akan dimasukkan bahan antibakteri yang akan diujikan dan akan terbentuk radius zona hambatan.

2.5 Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM)

Keefektifan antibakteri terhadap bakteri berhubungan dengan konsep KHM. KHM adalah konsentrasi antibakteri terendah yang bisa menghambat pertumbuhan bakteri. KBM adalah konsentrasi antibakteri terendah yang bisa membunuh bakteri. Bakteri dikatakan mati apabila tidak tumbuh pada inokulasi ke dalam medium kultur yang secara normal mendukung pertumbuhannya (Ornston *et al.*, 2003).

KHM sangat penting dalam diagnosis laboratoris untuk mengkonfirmasi resistensi mikroorganisme terhadap bahan antibakteri dan juga untuk memonitor aktivitas bahan antibakteri baru. KHM biasanya berkenaan dengan pengukuran laboratoris dasar dari aktivitas bahan antibakteri yang melawan bakteri (Brooks *et al.*, 2004).

