

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Rosemary*2.1.1 Taksonomi Tanaman *Rosemary*

Dalam taksonomi tumbuhan, *Rosemary* diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i>
Superdivision	: <i>Spermatophyta</i>
Division	: <i>Magnoliophyta</i>
Class	: <i>Magnoliopsida</i>
Subclass	: <i>Asteridae</i>
Order	: <i>Lamiales</i>
Family	: <i>Lamiaceae</i>
Genus	: <i>Rosmarinus</i>
Species	: <i>Rosmarinus officinalis</i> L. (United State Department of Agriculture, 2011) (Gambar 2.1)

2.1.2 Asal Usul Tanaman *Rosemary*

Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) merupakan anggota keluarga tanaman mint (*Lamiaceae*) yang berasal dari tanah Mediteranian dan tumbuh baik di daerah tepi laut. *Rosemary* biasa digunakan sebagai bahan herbal perasa daging maupun salad. Minyak esensial yang berasal dari daun *rosemary* biasa digunakan untuk kosmetik dan obat-obatan (Vaughan and Geissler, 1997) (Gambar 2.1)



Gambar 2.1 Tanaman Rosemary
(United State Department of Agriculture, 2011)

2.1.3 Morfologi Tanaman Rosemary

Secara morfologi, tanaman *Rosemary* terdiri dari beberapa organ penting, yaitu sebagai berikut:

a. Batang

Rosemary adalah tanaman yang hijau sepanjang tahun, berbentuk semak yang bisa tumbuh hingga 1-2 meter, memiliki bau yang khas. Batangnya berbentuk tegak yang dibagi menjadi beberapa batang panjang, beberapa cabang dengan rambut-rambut putih pada tangkai daun.

b. Daun

Daun berukuran 2-3,5 cm, berbentuk lurus berwarna hijau pada ujungnya dan berwarna putih berbulu pada bagian pangkalnya.

c. Bunga

Bunganya berukuran 1-2 cm, berwarna biru pucat sampai ungu yang tumbuk pada ketiak pohon (antara daun dan batang) (Department of Agriculture, Forestry & Fisheries Republic of South Africa, 2009)

2.1.4 Kandungan Kimia Tanaman *Rosemary*

Kandungan *rosemary* secara detil, yaitu *phenolic diterpenes* (terdiri dari *carosic acid* dan *carosol*), *triterpenes* (terdiri dari *betulin* dan *amyrin*), *triterpenic acids* (terdiri dari *betulinic acid* dan *sum oleanic+ursolic acid*), *organic acids* (terdiri dari *citric acid* dan *malic acid*), *volatiles* (terdiri dari 1,8-*cineole*, *camphor*, *borneol*, *verbenone*, *bonyl acetate*), *flavonoids* (terdiri dari *genkwanin*), *tannins* (terekspresi sebagai *gallotanin*), *polyphenols* (terekspresi sebagai *gallic acid*), *polysamharides* (terekspresi sebagai *starch*), *protein*, *lipophilic substances*, anion, dan kation. (European Food Safety Authority, 2008)

a. *Phenolic Diterpenes (carosol dan carosic acid)*

Phenolic diterpenes, *carosol* dan *carosic acid* merupakan antioksidan utama pada tanaman *rosemary*. *Carosol* merupakan *ortho-diphenolic diterpene* dengan rantai karbon *abietane* dan kelompok *hydroxyl* pada C-11 and C-12, serta *lactone* menyilang pada cincin B. *Carosol* merupakan hasil oksidasi degeneratif dari *carosic acid*. Cara paling sering yang digunakan untuk mendapatkan *carosol* murni dari alam adalah dengan cara ekstraksi dari bahan alami seperti *rosemary* (Johnson, 2008).

Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa *carosol* memiliki aktivitas antioksidan, antiinflamasi, dan antibakteri. *Carosol* terbukti menghambat Cu^{2+} yang diinduksi oksidasi LDL dan radikal bebas lemak lainnya. Aktivitas antioksidan tersebut dipercaya karena adanya gugus *catechol-hydroxyl* pada *carosol* yang kemudian diubah menjadi *carosol quinone*. Sebagai agen antiinflamasi, *carosol* mengaktivasi *peroxisome proliferasor-activated receptor gamma* dan menurunkan kadar leukotrien pro-inflamasi yang kontak dengan sel leukosit polilorfonuklear, menghambat *5-lipoxygenase*, bersifat antagonis

terhadap perpindahan ion kalsium intraseluler, dan menghambat sekresi *leukocyte elastase* (Johnson, 2008).

Sebagai agen anti-bakteri, mekanisme *carnosol* dalam menghambat pertumbuhan bakteri belum diketahui pasti, namun terdapat beberapa dugaan tentang mekanisme kerja *carnosol* sebagai agen antibakteri. Mekanisme pertama adalah dengan meningkatkan permeabilan membran sel dan merusak integritas dinding sel bakteri, sehingga terjadi kebocoran plasma yang akan mengakibatkan kematian sel bakteri. Mekanisme kedua adalah jika dikombinasikan dengan antibiotik, *carnosol* bekerja sinergis dengan menghambat *drug efflux pump* pada dinding sel bakteri dan menaikkan permeabilitas sel bakteri sehingga memudahkan antibiotik masuk ke dalam sel bakteri (Horiuchi *et al.* 2007).

b. Flavonoid

Flavonoid diketahui disintesis oleh tanaman dalam responsnya terhadap infeksi mikroba sehingga tidak mengherankan kalau mereka efektif secara *in vitro* terhadap sejumlah mikroorganisme. Aktivitas flavonoid kemungkinan disebabkan oleh kemampuannya untuk membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut, dan dengan dinding sel. Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam yang terbesar. Flavonoid mempunyai sifat yang khas yaitu bau yang sangat tajam, sebagian besar merupakan pigmen warna kuning, larut air dan pelarut organik, mudah terurai pada temperatur tinggi (Melderer, 2002).

Senyawa Flavonoid memiliki struktur kimia berupa 15 atom karbon yang tersusun dalam 3 cincin. Senyawa flavonoid sangat diperlukan bagi kesehatan manusia, terutama manfaatnya sebagai antioksidan. Karena bermanfaat sebagai antioksidan, maka flavonoid dapat memperlambat maupun mencegah timbulnya penyakit, seperti kanker yang diinduksi oleh radikal bebas. Bagaimanapun efek

dan potensi antioksidan dari flavonoid bagi kesehatan manusia tergantung dari tipe flavonoid baik dari kandungan kimia, fisika maupun dari strukturnya. Selain itu, flavonoid juga memiliki efek sebagai anti-bakteri, anti-virus, anti-tumor, anti-alergi, anti-inflamasi, dan vasodilator (Verena *et al.*, 2006 ; Sellappan *and* Akoh, 2002).

Efek flavonoid terhadap macam-macam organisme sangat banyak macamnya dan dapat menjelaskan mengapa tumbuhan yang mengandung flavonoid dipakai dalam pengobatan tradisional. Flavon, flavonoid, dan falavonol, ketiganya diketahui disintesis oleh tanaman dalam responnya terhadap infeksi mikroba. Senyawa flavonoid mempunyai kerja menghambat enzim topoisomerase II pada bakteri serta berikatan dengan protein bakteri. DNA gyrase termasuk salah satu dari enzim kelas topoisomerase II. DNA gyrase memilin untaian dari DNA, dengan menguraikan untaian DNA. Flavonoid dapat membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler bakteri sehingga terjadi denaturasi protein. Semakin lipofilik suatu flavonoid, kemampuannya dalam merusak dinding sel bakteri semakin kuat. Zat flavonoid dari tanaman dapat dimurnikan dengan menggunakan ekstrak alkohol (Robinson,1991; Cowan,1999; Melderren,2002).

c. Tannin

Tannin merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman dan disintesis oleh tanaman. Tannin tergolong senyawa polifenol dengan karakteristiknya yang dapat membentuk senyawa kompleks dengan makromolekul lainnya. Tannin dibagi menjadi 2 kelompok yaitu tannin yang mudah terhidrolisis dan tannin terkondensasi. Tannin yang mudah terhidrolisis merupakan polimer *gallic* atau *ellagic acid* yang berikatan ester dengan sebuah

molekul gula, sedangkan tannin yang terkondensasi merupakan polimer senyawa flavonoid dengan ikatan karbon-karbon (Jayanegara dan Sofyan, 2008).

Tannin diduga dapat mengikat salah satu protein yang dimiliki oleh bakteri yaitu adhesin dan apabila hal ini terjadi maka dapat merusak ketersediaan reseptor pada permukaan sel bakteri. Tannin telah dibuktikan dapat membentuk kompleks senyawa yang irreversibel dengan prolin, suatu protein lengkap, yang mana ikatan ini mempunyai efek penghambatan sintesis protein untuk pembentukan dinding sel (Agnol *et.al.*, 2003).

Beberapa laporan penelitian *in vitro* menunjukkan bahwa secara potensial terdapat hubungan yang signifikan antara sistem biologi/organisme seperti virus, bakteri, dan molluska dengan beberapa enzim penghambat, antioksidan, dan zat anti radikal bebas. Adapun kecenderungan beberapa senyawa tersebut untuk bercampur dengan sistem biologi yang ada, paling tidak salah satu sistem biologi, karena adanya kemampuan khusus dari senyawa-senyawa tersebut untuk membentuk ikatan kompleks dengan makromolekul tertentu, yang mana makromolekul tadi berkombinasi dengan suatu senyawa polifenol yang berasal dari alam. Polifenol yang terdiri atas tannin, flavonoid dan asam fenolat merupakan komponen yang paling menonjol dalam kaitannya dengan aktivitas antimikroba. Beberapa literatur menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri pada beberapa tanaman obat juga diperankan oleh tannin (Agnol *et.al.*, 2003).

2.1.5 Kegunaan Tanaman *Rosemary*

Rosemary adalah salah satu tanaman herbal kuliner yang murah dan biasa dipakai pada masakan ala Mediterania. *Rosemary* sering digunakan untuk

perasa manis atau pedas pada daging panggang. *Rosemary* juga biasa dipakai sebagai herbal aromatik pada pengasapan ikan atau daging.

Rosemary adalah satu dari sedikit tanaman yang dipakai di berbagai negara dalam acara pernikahan maupun pemakaman, atau hanya sebagai ornamen karena bunganya yang indah. Aroma dari *Rosemary* sendiri biasa digunakan untuk pewangi dan kosmetik.

Penelitian ilmiah telah membuktikan bahwa *rosmarinic acid*, satu dari bahan aktif pada *Rosemary* menghambat beberapa enzim yang berhubungan dengan kelainan syaraf yang mengakibatkan lupa. Daun dan bunganya bisa dibuat teh yang berkhasiat untuk mengobati sakit kepala, kolik, flu, dan depresi. Bila dikombinasikan dengan ekstrak *Thymus* dan *Lavender*, *Rosemary* bisa digunakan untuk mengobati alopecia. Ekstraknya juga mengandung manfaat sebagai antibakteri dan jamur (Kew Royal Botanic Garden, 2011).

Seperti obat-obatan lainnya, obat herbal seperti *rosemary* juga memiliki beberapa efek samping. Akibat kandungan minyak esensialnya, jika dikonsumsi secara berlebihan akan menimbulkan gejala mual, muntah, kaku otot, edema paru, bahkan sampai koma. Wanita hamil merupakan kontraindikasi konsumsi *rosemary* karena dapat memicu kontraksi uterus yang bisa mengakibatkan keguguran. Pasien hipertensi, *Chron's disease*, kolitis ulcerative juga dianjurkan untuk tidak mengonsumsi *rosemary* (University of Maryland Medical Center, 2011).

2.2 *Escherichia coli*

2.2.1 Taksonomi

Escherichia coli merupakan salah satu bakteri yang termasuk flora normal yang ditemukan paling banyak pada intestine manusia. Dalam sebuah buku yang berjudul *Text Book of Microbiology*, *Escherichia coli* digolongkan dalam suatu taksonomi, yaitu:

Kingdom	: Bacteria
Divisi	: Proteobacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gammaproteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>Escherichia coli</i> (Trivedi <i>et al</i> , 2010)

E. coli merupakan bakteri berukuran besar dan bermacam-macam variasinya. Sebagian besar bakteri ini tidak berbahaya, namun sebagian lainnya dapat menyebabkan diare, infeksi saluran kemih, infeksi saluran pernapasan, pneumonia, dan beberapa penyakit lainnya (CDC, 2011).

2.2.2 Morfologi dan Identifikasi

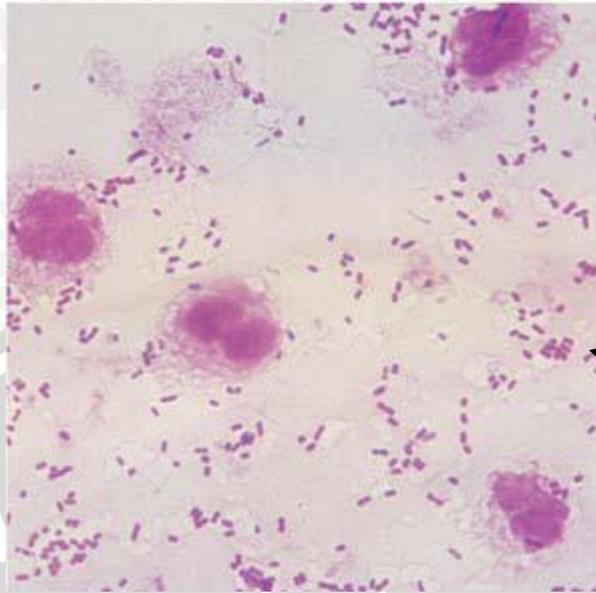
Bakteri ini pertama kali ditemukan oleh seorang dokter hewan dari Jerman Theodor Escherich pada tahun 1885 dalam studinya mengenai sistem pencernaan pada bayi sebagai *Bacterium coli commune*, yang selanjutnya diberi nama *Escherichia coli*. Selama beberapa tahun *E. coli* dianggap flor normal usus

besar. Sampai akhirnya pada tahun 1935, ada strain dari *E. coli* yang dapat menyebabkan wabah diare pada bayi (Todar, 2011)

Bakteri *E. coli* berbentuk batang pendek (kokobasil) dengan ujung bulat dan merupakan bakteri Gram negatif. Sebagian besar gerak positif karena memiliki flagella peritrikus (terletak di seluruh permukaan tubuh), tidak berspora. (Kayser *et al*, 2005).

Selnya bisa terdapat tunggal, berpasangan, dan dalam rantai pendek, biasanya tidak berkapsul. Bakteri ini bersifat aerobik dan dapat juga aerobik fakultatif dalam keadaan tertentu. *E. coli* merupakan flora normal usus, seringkali menyebabkan infeksi dalam kondisi yang abnormal atau saat status imun dari induknya sedang lemah. Kapsula atau mikrokapsula terbuat dari asam – asam polisakarida. Mukoid kadang–kadang memproduksi pembuangan ekstraselular yang tidak lain adalah sebuah polisakarida dari spesifitas antigen K tertentu atau terdapat pada asam polisakarida yang dibentuk oleh banyak *E. coli* seperti pada Enterobacteriaceae. Selanjutnya digambarkan sebagai antigen M dan dikomposisikan oleh asam kolanik.

E. coli memfermentasikan laktosa dan memproduksi indol yang dapat digunakan sebagai acuan untuk mengidentifikasi bakteri pada makanan dan air. Koloni dari bakteri *E. coli* berbentuk besar (2-3 mm), circular, konveks dan tidak berpigmen pada nutrient dan media darah. *E. coli* dapat tumbuh pada suhu 10°-45°C, dengan suhu optimum 37°C, pH optimum untuk pertumbuhannya berkisar pada 7-7,5, dimana pH minimum 4 dan pH maximum 9 (Nuraeni, Wibisono, Indrial. 2000).



Gambar 2.2 *Escherichia coli* Pewarnaan Gram (Kayser et. al, 2005)

Untuk mengidentifikasi bakteri *Escherichia coli* ini, selain dengan melihat morfologinya dengan metode pewarnaan Gram dan reaksi biokimia, identifikasi bakteri juga dapat dilakukan dengan menggunakan media-media pertumbuhan, misalnya pada media Kliger Iron Agar (KIA), Semi solid sucrose medium (SSS), Lysine Iron Agar (LIA), Motility Indol Ornithine (MIO). Bakteri *E. coli* memiliki ciri pertumbuhan yang khas pada masing-masing media pertumbuhan (Raharni dkk, 2000).

Hasil-hasil di atas adalah spesifik untuk bakteri *E. coli* jadi bila hasil di atas sudah didapatkan, maka dapat dipastikan bakteri yang diuji adalah bakteri *E. coli*.

2.2.3 Epidemiologi

Di Amerika Serikat, *E. coli* merupakan bakteri patogen penyebab infeksi nosokomial dan *community-acquired infection*. Infeksi nosokomial adalah infeksi yang didapatkan ketika seseorang dirawat di rumah sakit. Infeksi nosokomial yang paling umum adalah infeksi saluran kemih, pneumonia pernafasan, infeksi

pada luka pembedahan, infeksi kulit, dan infeksi saluran pencernaan. *E. coli* menempati urutan kedua tertinggi penyebab infeksi nosokomial setelah *Staphylococcus aureus*. Bakteri ini bertanggung jawab atas 12-50% kejadian infeksi nosokomial, 4% dari kasus diare karena infeksi, juga 90% dari kejadian infeksi nosokomial pada saluran kemih tanpa komplikasi. Selain itu *E. coli* adalah penyebab dari hampir 80% kejadian meningitis di seluruh dunia (Madappa, 2011).

Berdasarkan data yang diperoleh dari *US Centers for Disease Control and Prevention (CDC)*, disebutkan bahwa sedikitnya 2000 orang Amerika dirawat di rumah sakit dan 60 orang mati per tahunnya akibat efek langsung dari infeksi *E. coli* dan komplikasinya. Studi terbaru menyebutkan bahwa biaya yang dihabiskan oleh pemerintah Amerika mencapai 405 juta dolar untuk mengatasi dampak dari infeksi *E. coli*, diantaranya 370 juta dolar untuk kematian prematur, 30 juta dolar untuk perawatan kesehatan, dan 5 juta dolar sebagai efek dari penurunan produktivitas masyarakat (Clark, 2005).

Di negara-negara tropis, EPEC adalah penyebab utama diare pada anak. ETEC menyebabkan 11-15% kasus *traveler's diarrhea* pada turis yang mengunjungi negara-negara berkembang dan 30-45% dari kasus *traveler's diarrhea* tersebut terjadi di Meksiko. EAaggEC menyebabkan 30% kasus *traveler's diarrhea* (Madappa, 2011).

E. coli adalah bakteri yang bertempat tinggal sebagai normal flora di usus besar manusia, hewan, dan insekta. Selain tentunya dapat dengan mudah dijumpai di tanah, air, sampah. Sehingga penyebaran dari bakteri ini sangat luas dan dapat dengan mudah sekali menular. *E. coli* juga sering dimanfaatkan dalam bidang penelitian molekular sebagai vektor untuk menyisipkan gen-gen

tertentu, terkait dengan pertumbuhan yang sangat cepat dan penanganannya yang relatif mudah (Dzen *dkk*, 2003).

2.2.4 Ciri-Ciri Pertumbuhan

E. coli merupakan bakteri fakultatif anaerob, kemoorganotropik, mempunyai tipe metabolisme fermentasi dan respirasi tetapi pertumbuhannya paling sedikit banyak di bawah keadaan anaerob. pertumbuhan yang baik pada suhu optimal 37°C pada media yang mengandung 1% peptone sebagai sumber karbon dan nitrogen.

E. coli merupakan bakteri Gram negatif, berbentuk batang, uji indole positif dan mampu memfermentasi berbagai karbohidrat seperti glukosa, laktosa, manitol dan arabinosa (Dzen *dkk*, 2003).

a. Media Eosin Methylene Blue

Media ini mempunyai keistimewaan mengandung laktosa dan berfungsi untuk memilah bakteri yang memfermentasi laktosa seperti *E. coli* dengan bakteri yang tidak memfermentasikan laktosa seperti *S. aureus*, *P. aeruginosa* dan *Salmonella*. Bakteri yang memfermentasi laktosa menghasilkan koloni dengan inti berwarna gelap dengan kilap logam, sedangkan bakteri lain yang dapat tumbuh koloninya tidak berwarna. Adanya Eosin dan Methylene blue membantu mempertajam perbedaan tersebut. Namun demikian jika media ini digunakan pada tahap awal, karena kuman lain juga tumbuh terutama *P. aeruginosa* dan *Salmonella sp* dapat menimbulkan keraguan. Bagaimanapun media ini sangat baik untuk mengkonfirmasi bahwa kontaminan tersebut adalah *E. coli* (Dzen *dkk*, 2003).

b. Media Mamlonkey Agar

Media ini mempunyai keistimewaan memilah bakteri enterik gram negatif yang memfermentasi laktosa, karena media ini mengandung laktosa, *crystal violet* dan *neutral red bile salt*. Kemampuan *E. coli* memfermentasi laktosa menyebabkan penurunan pH, sehingga mempermudah absorpsi *neutral red* untuk mengubah koloni menjadi merah bata dan *bile/* empedu diendapkan. Koloni lain (*S. aureus*, *P.aeruginosa* dan *Salmonella*), bila tumbuh tidak akan berwarna karena tidak mampu memfermentasi laktosa. Bakteri lain yang dapat tumbuh pada media ini antara lain *Enterobacter*; *Proteus*; *Salmonella*; *Shigella*, *Aerobacter*; *Enterococcus* (Dzen dkk, 2003).

c. Media Mamlonkey Broth

Walaupun media tidak tercantum di FI-IV, sebenarnya media ini bermanfaat sekali dalam memilah *E. coli* dari bakteri lain terutama *S. aureus*, *P. aeruginosa* dan *Salmonella*. Adanya Oxgall dalam media berperan dalam menghambat bakteri gram positif lain seperti *S. aureus*. Kandungan laktosa sangat penting untuk memilah *E. coli* dari bakteri lain yang tidak memfermentasi laktosa, terutama *P. aeruginosa* dan *Salmonella*. Fermentasi laktosa oleh *E. coli* menyebabkan pH turun. Kondisi asam akan menyebabkan *bromo cresol purple* (media berwarna ungu) berubah menjadi kuning (media berwarna kuning) dan adanya pembentukan gas yang dapat diamati pada tabung Durham. Sedangkan *Salmonella* dan *P. aeruginosa* tidak dapat mengubah warna media karena tidak memfermentasi laktosa, sedangkan bakteri lain yang mampu memfermentasi laktosa dan mempunyai ekspresi pada media seperti *E. coli* adalah *Enterobacter aerogenes*. Adapun cara memilah *E. aerogenes* antara lain dengan reaksi indole. *E. coli* mempunyai reaksi positif, sedang *Eaerogenes* bereaksi negatif. Dengan

sifat tersebut media ini sangat baik untuk memilah *E. coli* dari bakteri lain pada tahap awal terutama *P. aeruginosa*; *S. aureus* dan *Salmonella* (Suwandi, 1999).

Selain itu, isolat dari urin dapat dengan cepat diidentifikasi sebagai *E. coli* karena kemampuannya memberikan hemolisis tipe beta pada agar darah, morfologi koloni yang seperti kilatan logam (*metallic sheen*) pada media diferensi EMB dan tes spot indole yang positif Lebih dari 90% isolate *E. coli* memberikan hasil positif untuk β -glukoronidase menggunakan substrat 4-methyl-umbelliferyl- β -glucoronide (*MUG*). Isolat dari tempat selain urin dapat dikonfirmasi sebagai *Escherichia coli* dengan tes *MUG* positif (Dzen dkk, 2003).

2.2.5 Klasifikasi Serologis

Pembagian *E. coli* berdasarkan reaksi serologis terutama ditentukan atas tipe antigen O, tipe antigen H dan apabila dimungkinkan dengan tipe antigen K. Terdapat lebih dari 164 antigen O, 100 antigen K, dan 50 antigen H untuk *E. coli*. Antigen H selanjutnya dibagi lagi menjadi subgroup L, A, dan B. Penentuan profil antigen dari berbagai galur berguna untuk penelitian epidemiologi dan beberapa penelitian yang berhubungan dengan jenis penyakit diare. Contohnya serotipe O157:H7 memproduksi Shigalike toxin yang bertanggung jawab pada kolitis hemoragik sedangkan serotipe O78:H11 dan O78:H12 hampir semuanya adalah enterotoksigenik. Tipe antigen yang lain seperti O111a, 111b:H2 berhubungan dengan diare infantile, dan galur O124:H30 adalah enteroinvasif dan menyebabkan disentri basiler yang mirip dengan yang disebabkan oleh *Shigella* (Dzen dkk, 2003).

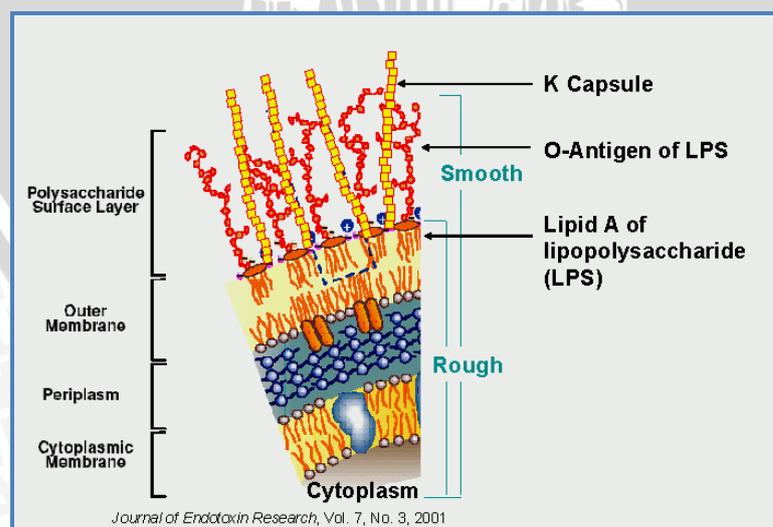
Klasifikasi serologis sebenarnya sudah berkembang cukup luas sehingga bisa mengikutsertakan antigen F-fimbrial, tetapi hanya antigen O, K, dan H saja yang sampai saat ini lazim digunakan dalam proses klasifikasi *E. coli*. Analisis

kimia dari gugus gula pada lipopolisakarida yang terdapat pada *E. coli* memungkinkan definisi dari kemotipe *E. coli* yang seringkali juga sesuai dengan reaksi serologis silang antara serogroup O yang berbeda dan Salmonella (Sussman,1997).

Antigen K dikenal juga dengan nama antigen kapsuler yang berasal dari bahasa Jerman “kapsel” dan digunakan untuk menjelaskan antigen kapsul polisakarida dari bakteri enterik. Penelitian yang baru menunjukkan bahwa antigen K tertentu dari *E. coli* berupa senyawa protein (bukan polisakarida) dan membentuk suatu fimbria.

Antigen H dikenal juga dengan nama antigen flagela, berasal dari bahasa Jerman “hauch” yang artinya “nafas” adalah protein yang dapat didenaturasi atau dihilangkan dengan pemanasan atau alcohol. Antigen H ini dapat diaglutinasikan oleh anti-H antibodies terutama IgG.

Antigen O dikenal juga dengan nama antigen somatik (berasal dari bahasa Jerman “ohne” yang artinya “badan”) tersusun atas senyawa lipopolisakarida (LPS) yang terdiri dari tiga regions (Dzen *dkk*, 2003).



Gambar 2.3 Struktur antigen *Escherichia coli* (Journal of Endocrin Research, 2001)

2.2.6 Penentu Patogenisitas

E. coli terdiri atas beragam grup mikroorganisme yang dapat menginfeksi berbagai sistem hospes dan memproduksi sejumlah besar faktor virulensi mulai bentuk structural sampai toksin yang diekskresikan. Kepentingan relatif dari faktor-faktor ini tidak hanya pada genetik galur tertentu tetapi juga pada tempat infeksi dan kondisi hospesnya.

a. Faktor Permukaan

E. coli mengandung antigen tipe K1 yang memiliki keunikan diantara antigen kapsuler *E. coli* yang lain karena kapsul ini tahan terhadap proses pembunuhan baik oleh neutrofil maupun serum normal manusia. Tipe antigen O pada *E. coli* juga penting karena antigen ini memiliki predileksi ikatan pada reseptor yang terdapat pada endothelium vaskuler dan lapisan epitel pada plexus choroidalis dan ventriculus dalam otak anak menceit

Fimbria dari bakteri *E. coli* dibagi menjadi 2 kelompok besar, mannose resistant fimbriae (CFAs I dan II) dan mannose sensitive fimbriae (pili), Fimbria yang sensitif terhadap manosa disebut juga fimbria tipe 1. Kedua fimbriae ini digunakan sebagai faktor kolonisasi (*Colonization factor*) yaitu perlekatan sel kuman pada jaringan inangnya (Dzen *dkk*, 2003; Amansyah, 2010).

b. Enterotoksin

E. coli memproduksi beberapa enterotoksin yang bertanggung jawab terhadap sebagian besar kasus diare karena infeksi. Produksi dari enterotoksin ini sangat bergantung dari adanya plasmid yang menyandi produksi toksin. Galur *Escherichia coli* yang memiliki plasmid tertentu akan memproduksi heat-labile enterotoxin (LT) yang mirip enterotoksin pada *Vibrio cholerae*. LT akan merangsang aktivitas adenilsiklase dalam sel epitel mukosa usus halus, yang

kemudian akan meningkatkan permeabilitas permukaan intestinal, yang menyebabkan pengeluaran cairan dan elektrolit. Selain LT, *E. coli* juga memproduksi dua enterotoksin yang tahan panas, heat-stable enterotoksin (ST) yaitu STa (ST-I) dan STb (ST-II) (Dzen dkk, 2003).

c. Verotoksin (shigalike toxin)

E. coli yang diinfeksi oleh bakteriofaga dapat memproduksi sitotoksin yang disebut verotoksin. Disebut verotoksin karena efek sitotoksiknya yang menetap pada kultur sel dari jaringan Vero, yaitu suatu lapisan sel yang berasal dari sel ginjal kerbau. Ada 2 jenis verotoksin yaitu VT-1 dan VT-2. Keduanya menghambat sintesis protein pada sel eukariotik. Toksin ini berhubungan dengan tiga sindroma pada manusia yaitu diare, kolitis hemoragik, dan hemolytic uremic syndrome (HUS) (Dzen dkk, 2003).

2.2.7 Manifestasi Klinis

Bakteri *E. coli* yang telah menginfeksi manusia dapat menimbulkan bermacam-macam gejala dan keluhan. Adapun beberapa manifestasi dari infeksi *E. coli* yang paling sering dijumpai adalah:

a. Infeksi Saluran Kemih

Wanita lebih sering terkena ISK karena perbedaan struktur anatomisnya, kematangan seksual, perubahan traktus urogenitalis selama kehamilan dan kelahiran, serta adanya tumor. Gejala-gejala ISK antara lain adalah poliuria, disuria, hematuria, dan piuria. Terjadinya gangguan ginjal berhubungan dengan *E. coli* nefropatogenik yang memproduksi hemolisin, dan antigen K. Sedangkan pielonefritis berhubungan dengan adanya fimbria-P (Dzen dkk, 2003).

b. Diare

Diare adalah penyakit yang sering ditimbulkan oleh *E. coli*. Diare didefinisikan sebagai buang air besar dengan feses yang tidak berbentuk atau cair dengan frekuensi lebih dari 3 kali dalam 24 jam (Zein,2004). Secara garis besar ada 5 kelompok dari *E. coli* yang dapat menyebabkan diare dengan gambaran klinisnya masing-masing. Berikut adalah kelompok-kelompok *E. coli* yang berperan dalam diare:

- *Escherichia coli* Enteropatogenik (EPEC)

Penyebab penting diare pada bayi, khususnya di negara berkembang. EPEC melekat pada sel mukosa yang kecil. Faktor yang diperantarai secara kromosom menimbulkan pelekatan yang kuat. Akibat dari infeksi EPEC adalah diare cair yang biasanya sembuh sendiri tetapi dapat juga kronik. Lamanya diare EPEC dapat diperpendek dengan pemberian antibiotik. Diare terjadi pada manusia, kelinci, anjing, kucing dan kuda. Seperti ETEC, EPEC juga menyebabkan diare tetapi mekanisme molekular dari kolonisasi dan etiologi adalah berbeda. EPEC sedikit fimbria, ST dan LT toksin, tetapi EPEC menggunakan adhesin yang dikenal sebagai intimin untuk mengikat inang sel usus. Sel EPEC invasive (jika memasuki sel inang) dan menyebabkan radang.

- *Escherichia coli* Enterotoksigenik (ETEC)

Penyebab yang sering dari “diare wisatawan” dan sangat penting menyebabkan diare pada bayi di Negara berkembang. Faktor kolonisasi ETEC yang spesifik untuk menimbulkan pelekatan ETEC pada sel epitel usus kecil. Lumen usus terganggu oleh cairan dan mengakibatkan hipermortilitas serta diare, dan berlangsung selama beberapa hari. Beberapa strain ETEC menghasilkan eksotosin tidak tahan panas. Profilaksis antibakteri dapat efektif

tetapi bisa menimbulkan peningkatan resistensi antibiotik pada bakteri, mungkin sebaiknya tidak dianjurkan secara umum. Ketika timbul diare, pemberian antibiotik dapat secara efektif mempersingkat lamanya penyakit. Diare tanpa disertai demam ini terjadi pada manusia, babi, domba, kambing, kuda, anjing, dan sapi. ETEC menggunakan fimbrial adhesi (penonjolan dari dinding sel bakteri) untuk mengikat sel – sel enterosit di usus halus. ETEC dapat memproduksi 2 proteinous enterotoksin: dua protein yang lebih besar, LT enterotoksin sama pada struktur dan fungsi toksin kolera hanya lebih kecil, ST enterotoksin menyebabkan akumulasi cGMP pada sel target dan elektrolit dan cairan sekresi berikutnya ke lumen usus. ETEC strains tidak invasive dan tidak tinggal pada lumen usus.

- *Escherichia coli* Enterohemoragik (EHEC)

Menghasilkan verotoksin, dinamai sesuai efek sitotoksinya pada sel Vero, suatu sel hijau dari monyet hijau Afrika. Terdapat sedikitnya dua bentuk antigenic dari toksin. EHEC berhubungan dengan holitis hemoragik, bentuk diare yang berat dan dengan sindroma uremia hemolitik, suatu penyakit akibat gagal ginjal akut, anemia hemolitik mikroangiopatik, dan trombositopenia. Banyak kasus EHEC dapat dicegah dengan memasak daging sampai matang. Diare ini ditemukan pada manusia, sapi, dan kambing.

- *Escherichia coli* Enteroinvansif (EIEC)

Menyebabkan penyakit yang sangat mirip dengan shigellosis. Penyakit terjadi sangat mirip dengan shigellosis. Penyakit sering terjadi pada anak – anak di Negara berkembang dan para 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.

- *Escherichia coli* Enteroagregatif (EAEC)

Menyebabkan diare akut dan kronik pada masyarakat di negara berkembang.

Bakteri ini ditandai dengan pola khas pelekatnya pada sel manusia. EAEC memproduksi hemolisin dan ST enterotoksin yang sama dengan ETEC (Triatmodjo, 1992).

c. Sepsis

Terjadi bila pertahanan hospes tidak adekuat, *E. coli* kemudian bisa masuk peredaran darah dan menyebabkan sepsis. Bayi-bayi yang baru lahir sangat peka terhadap sepsis karena *E. coli* karena mereka tidak memiliki antibody IgM. Sepsis juga bisa terjadi sebagai efek sekunder dari ISK (Dzen dkk, 2003).

d. Meningitis

E. coli merupakan penyebab utama meningitis pada bayi, disamping streptokokus grup B. Hampir 75% *Escherichia coli* dari kasus meningitis memiliki antigen K1. Antigen ini bisa bereaksi silang dengan polisakarida kapsuler grup B dari *Neisseria meningitidis* (Dzen dkk, 2003).

2.3 Cara Kerja Antibakteri

2.3.1 Menghambat Sintesis Dinding Sel

Dinding sel bakteri berfungsi sebagai pelindung osmotik protoplasma di bawahnya dari trauma baik osmotik maupun mekanik. Tekanan osmotik yang tinggi di dalam sel akan mendorong cairan dari dalam sel bakteri sehingga terjadi kebocoran dan kematian sel kuman. Hal ini menjadi dasar efek bakterisidal pada

bakteri. Contoh antibakteri jenis ini adalah β -laktam (penisilin dan cephalosporin) (Cowan, 1999).

2.3.2 Menghambat Fungsi Membran Sel

Membran sel merupakan pembatas membran bagi bebasnya difusi antara lingkungan dalam dan luar sel. Gangguan dalam keutuhan membran sel tersebut dapat menyebabkan terjadinya kebocoran dan kematian sel, mempengaruhi konsentrasi metabolit dan bahan gizi dalam sel, menghambat proses pernafasan dan aktivitas biosinteti tertentu yang secara keseluruhan mempengaruhi kehidupan sel bakteri itu sendiri. Contohnya antibakteri jenis ini adalah polymyxin yang berikatan dengan fosfat pada fosfolipid membran sel bakteri sehingga merusak struktur membran sel tersebut (Cowan, 1999).

2.3.3 Menghambat Sintesis Protein

Sintesa protein merupakan hasil dari 2 proses utama yaitu transkripsi dan translasi. Sintesa ini terjadi pada ribosom. Streptomisin dapat berikatan dengan ribosom 30S sehingga menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca oleh tRNA dan terbentuk protein abnormal dan non fungsional bagi sel bakteri (Cowan, 1999).

2.3.4 Menghambat Sintesis Asam Nukleat

Sintesa asam nukleat erat kaitannya dengan proses duplikasi dan transkripsi. Setiap zat yang mengganggu sintesa ini akan mempengaruhi seluruh fase pertumbuhan dan metabolisme sel bakteri. Rifampisin dapat berikatan dengan enzim Polymerase-RNA sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA oleh enzim tersebut (Cowan, 1999).

2.3.5 Menghambat Metabolisme Sel Bakteri

Enzim-enzim yang berperan dalam proses metabolisme seringkali dihambat oleh senyawa-senyawa yang mempunyai struktur mirip dengan substrat asalnya. Senyawa ini bergabung dengan enzim tersebut sehingga mencegah kombinasi substrat-enzim dan reaksi-reaksi katalitik. Sulfonamid bersaing dengan PABA untuk diikutsertakan dalam pembentukan asam folat sehingga terbentuk analog asam folat yang non fungsional. Akibatnya kelangsungan hidup bakteri terganggu (Cowan, 1999).

2.4 Uji Kepekaan Terhadap Antimikroba In Vitro

Uji kepekaan bakteri terhadap antimikroba secara in vitro bertujuan untuk mengetahui apakah antimikroba yang diujikan dapat digunakan untuk mengatasi infeksi bakteri tersebut. Uji kepekaan tersebut pada dasarnya dapat dilakukan dengan metode dilusi atau metode difusi cakram.

a. Metode Dilusi Tabung

Metode ini digunakan untuk menentukan kadar hambat minimal (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM) dari suatu antimikroba. Metode ini terdiri dari dua tahap, tahap pertama untuk menentukan kadar hambat minimal (KHM) dengan menggunakan media cair dan tahap kedua pada media padat untuk menentukan kadar bunuh minimal (KBM)

Untuk menentukan kadar hambat minimal (KHM) satu seri tabung reaksi diisi media cair dan sejumlah tertentu sel bakteri yang diuji. Kemudian tiap tabung diisi dengan zat yang telah diencerkan secara bertahap. Konsentrasi terendah antimikroba pada tabung yang mulai tampak jernih menunjukkan kadar hambat minimal (KHM). Kejernihan tabung menentukan tingkat pertumbuhan

bakteri. Semakin jernih tabung maka tingkat pertumbuhan bakteri semakin rendah.

Untuk menentukan kadar bunuh minimal (KBM) biakan dari tiap tabung yang jernih tadi diinokulasikan pada media padat. Konsentrasi terendah antimikroba yang tidak ada pertumbuhan koloni bakteri adalah kadar bunuh minimal (KBM) antimikroba tersebut.

b. Metode Difusi Cakram

Metode ini digunakan dengan menjenuhkan antimikroba ke dalam cakram kertas. Cakram kertas ini nantinya akan ditanam pada media perbenihan padat yang telah dicampur dengan bakteri yang diuji. Pengamatan dilakukan terhadap zona jernih di sekitar cakram kertas yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan mikroba. Evaluasi hasil uji ini dapat dilakukan dengan cara Kirby Bauer yang menggunakan tabel standart oleh NMLLS ataupun dengan cara Joan-Stokes yang diukur menggunakan dengan kontrol obat yang ditanam bersama dalam satu piring agar dan telah diketahui kepekaannya (Dzen, dkk., 2010).