## **BAB 2**

#### **TINJAUAN PUSTAKA**

# Escherichia coli

### 2.1.1 Taksonomi

Kingdom : Bacteria

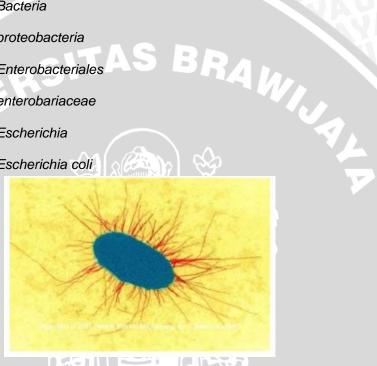
Divisi : proteobacteria

: Enterobacteriales Ordo

Famili : enterobariaceae

Genus : Escherichia

Spesies : Escherichia coli



Gambar 2.1 Mikroskopis Escherichia coli

(Smith-Keary, 1988)

#### 2.1.2 Karakteristik

Bakteri E. coli merupakan spesies dengan habitat alami dalam saluran pencernaan manusia maupun hewan. E. coli pertama kali diisolasi oleh Theodor Escherich dari tinja seorang anak kecil pada tahun 1885. Bakteri ini berbentuk batang, berukuran 0,4-0,7 x 1,0-3,0 µm, termasuk gram negatif, dapat hidup soliter maupun berkelompok, umumnya motil, tidak membentuk spora, serta fakultatif anaerob (Gambar 1) (Carter & Wise 2004).

*E. coli* memiliki flagella pertrikus sehingga dapat bergerak dan memiliki fimbria (pili). Dinding selnya terdiri dari murein, lipoprotein, fosfolipid, protein dan liposakarida yang tersusun sebagai lapisan-lapisan. Lapisan murein dan lipoprotein merupakan 20% lapisan yang berperan dalam menjaga rigiditas seluler. 80% lapisan lain berkaitan dengan lipid dari lipoprotein yang membentuk lipid bilayer (Dzen *et al*, 2003).

## 2.1.3 Kultur dan Reaksi Biokimia

*E. coli* bersifat anaerob fakutatif, meragikan glukosa, mereduksi nitrit menjadi nitrat dan tidak mencairkan alginate *E. coli* memberikan hasil positif lisin dekarbosilase dan fermentasi manitol (Dzen, *et al.*, 2003).

Perbenihan dan reaksi biokimia E. coli pada berbagai medium, yaitu :

- a. Agar MacConkey
  - E. coli termasuk dalam golongan lactose fermenter sehingga mengubah warna media menjadi merah (Dzen et al, 2003).
- b. Agar Triple Sugar Iron (TSI)

TSI agar terdiri dari 0,1% glukosa, 1% sukrosa, 1% laktosa, fenol merah sebagai indicator dan FeSO4. *E. coli* memberikan reaksi As/As, Gas(+), H2S (-) (Dzen *et al*, 2003).

c. Media Diferensia EMB (Eosin Methylene Blue)

Koloni *E. coli* memberikan gambaran yang khas seperti kilatan logam (*metallic sheen*) pada agar EMB (Dzen *et al*, 2003).

#### 2.1.4 Struktur Antigen

Pembagian *Escherichia coli* berdasarkan rekasi serologis terutama ditentukan atas tipe antigen O, antigen H dan antigen K. terdapat lebih dari 164 antigen O, 1000 antigen K dari 50 antigen H untuk *Escherichia coli*. Penntuan

profil antigen dari berbagai galur berguna untuk penelitian epidemiologi dan beberapa penelitian yang berhubungan dengan jenis penyakit diare (Dzen *et al*, 2003). Macam tipe antigen *Escherichia coli*, yaitu:

## a. Capsuler (K) antigen

K antigen merupakan polysaccharide *capsular antigen*, tidak tahan panas, berupa slime layer serta pada *Escherichia coli strain* tertentu berupa protein dan membentuk fimbria

# b. Flagellar (H) antigen

H antigen berupa protein, dapat dihilangkan dengan pemanasan atau alkohol, terdapa variasi antigenik karena perbedaan asam amino dan petanda terdapat antibodi terhadap H Ag terutama IgG.

## c. Somatik (O) antigen

O antigen berupa lipolisakarida (LPS) yang terdiri atas 3 regio yaitu spesifik Ag, Core Ag dan Lipid A, tahan terhadap pemanasan atau alkohol, terdapat antibodi terhadap O Ag terutama IgM dan digunakan sebagai marker serologis dan faktor virulensi (Jawetz et al, 2005).

## 2.1.5 Patogienisitas

Escherichia coli yang menyebabkan meningitis dan sepsis pada neonatus karena memproduksi kapsul asam polisialik (antigen tipe K1). Kapsul K1 identik dengan kapsul polisakarida grup B Neisseria meningitis. Kapsul K1 tahan terhadap proses pembunuhan baik oleh netrofil ataupun serum komplemen normal manusia (Dzen et al, 2003).

Escherichia coli juga memproduksi berbagai macam fimbria yang mampu melekat pada organisme tersebut ke berbagai jaringan hospes. Fimbria-fimbria tersebut dibagi menjadi dua, yaitu mannose-resistant fimbriae dan mannose-

sensitive fimbriae. Mannose-sensitive fimbriae disebut tipe 1 atau disebut juga common pili karena ditemukan pada hampir semua Escherichia coli. Mannose-resistant fimbriae meliputi fimbria dan adhesion (Dzen et al, 2003).

#### 2.1.5.1 Enterotoksin

Organ sasaran dari enterotoksin *Escherichia coli* adalah usus halus dan hasilnya berupa diare sebagai akibat dari pengeluaran cairan dan elektrolit. Enterotoksin ada yang bersifat sitotoksik yaitu merusak sel mukosa usus dan sitotonik yaitu merangsang sekresi cairan dan elektrolit. Kemampuan untuk memproduksi enterotoksin karena adanya plasmid. (Evans Jr *et al*, 2001).

#### 2.1.5.2 Verotoksin

Escherichia coli yang diinfeksi bakterifaga dapat memproduksi sitotoksin yang disebut verotoksin (VT). Verotoxin Escherichia coli (VTEC) berhubungan dengan tiga sindroma pada manusia, yaitu diare, colitis hemoragik dan hemolitik uremik Sindrom (HUS). Toksin ini juga disebut Shiga-like toxin karena kemiripan verotoksin dengan toksin yang dihasilkan Shigella dysentriae (Dzen et al, 2003). Verotoksin menginfeksi kolon dan mengadakan perlekatan kemudian menginvasi sel epitel mukosa usus menyebabkan respon inflamasi akut dan destruksi jaringan sehingga terjadi diare (Evans Jr et al, 2001).

#### 2.1.6 Gambaran Klinis Infeksi

## 2.1.6.1 Infeksi Intestinal

Transmisi diare akibat *Escherichia coli* umumnya melalui *fecal-oral route*. Pili (fimbria) melekat pada mukosa intestinal sehingga memungkinkan bakteri untuk mengadakan kolonisasi dengan menghindari dari sistem pertahanan tubuh hospes kemudian mengalami multiplikasi dan merusak sel hospes. *Escherichia coli* penyebab diare memiliki fimbriae spesifik yang dapat melekat pada mukosa

usus halus (Microbewiki, 2007). Transmisi *Escherichia coli* juga dapat melalui *food-borne transmission* yaitu pada *serotype* O157-H7 yang dapat mengkontaminasi daging ternak (Virella,1997).

Macam Escherichia coli penyebab diare yaitu:

# a. Enterropathogenic Escherichia coli (EPEC)

terutama di Negara berkembang. EPEC melekat erat pada sel mukosa usus besar menyebabkan dekstrusi (*effacement*) mikrovili sehingga terjadi malabsorbsi dan diare osmotik. EPEC membentuk *filamentous actin pedestal* atau *cup like structur*e pada mukosa usus dan adakalanya EPEC masuk ke dalam sel mukosa. Infeksi EPEC menyebabkan diare cair (*watery diarrhea*) yang biasanya dapat sembuh sendiri dalam 5-15 hari. Infeksi EPEC disebabkan oleh berbagai *serotype Escherichia coli* yang diindentifikasi melalui tipe antigen O dan antigen H (Braunwaid, 2005)

#### b. Enterotoxigenic Escherichia coli (ETEC)

ETEC merupakan penyebab umum diare pada turis (*traveller's diarrhea*) dan juga merupakan penyakit diare sangat penting pada bayi di negara berkembang. Factor kolonisasi ETEC yang spesifik untuk manusia menyebabkan terjadinya adhesi ETEC pada sel-sel epitel usus halus. Beberapa galur ETEC ada yang memproduksi *Lablie Toxin* (LT) dan *Stable Toxin* (ST). *Cytotonic enterotoxin* akan menyebabkan kerusakan jaringan serta CFA akan mengadakan perlekatan dengan reseptor permukaan sel mukosa usus (Evans Jr *et al*,2001) diare yang disebabkan ETEC onsetnya cepat, dapat disertai nyeri abdomen, malise, mual, dan muntah serta biasanya sembuh sendiri dalam 3 hari. ETEC dapat menyebabkan infeksi bila jumlahnya 10<sup>8</sup>-10<sup>10</sup> CFU (Braunwaid, 2005).

c. Enterohaemorhagic Escherichia coli (EHEC)/ Verotoxigenic Escherichia coli (VTEC)

EHEC menyebabkan diare, hemorrhagic colitis dan HUS (*Hemolitik Uremic Syndrome*). Colitis hemoragik bersifat akut dan sembuh spontan ditandai dengan nyeri abdomen dan diare cair disertai darah.HUS ditandai dengan gagal ginjal akut, mikroangiopatik hemolitik anemia dan trombositopenia (Greenwood, 1992). Diare dapat sembuh sendiri dalam 5-10 hari namun jug dapat terjadi komplikasi HUS setelah 2-14 hari. Infeksi EHEC banyak terjadi di Negara maju akibat kontaminasi makanan yang diprosesoleh EHEC serotype O157:H7. EHEC lebih infektif dibandingkan dengan yang lain karena jumlah <10<sup>3</sup> CFU sudah dapat menyebabkan infeksi (Brauwaid, 2005).

d. Enteroinvasive Escherichia coli (EIEC)

EIEC menyebabkan penyakit yang sangat miriip dengan shigellosis. Penyakit ini banyak terjadi pada anak-anak di Negara berkembang serta pada turis. EIEC menimpulkan penyakit dengan cara mengadakan invasi ke dalam sel epithel mukosa kemudian mengadakan replikasi dan menyebar ke sel-sel (Greenwood, 1992). EIEC menyebab *inflammatory* colitis yang ditandai demam, nyeri abdomen, tenesmus dan diare yang bercampur darah yang dapat sembuh sendiri dalam 7-10 hari (Braunwaid, 2005)

e. Enteroagregative Escherichia coli (EAEC)/ Diffusely Adherent Escherichia coli (DAEC)

EAEC menyebabkan diare akut dan kronik (*watery diarrhea*) pada penduduk Negara berkembang yang ditandai perlekatan yang khas pada sel manusia (Braunwaid, 2005).

#### 2.1.6.2 Infeksi Ekstraintestinal

Escherichia coli dapat menyebabkan infeksi ekstraintestinal antara lain :

## a. Infeksi saluran kemih

Saluran kemih merupakan tempat ekstraintestinal yang paling sering terinfeksi oleh *Escherichia coli*. Transmisi infeksi saluran kemih yang disebabkan *Escherichia coli* biasanya berasal dari sumber yang endogen dalam tubuh manusia yang mengkontaminasi saluran kemih (Virella, 1997). Gejala infeksi saluran kemih antara lain poliuria, hematuria dan piuria serta nyeri panggul yang berhubungan dengan saluran kemih bagian atas (Mylonakis, 2006). Terjadinya gangguan ginjal berhubungan dengan nephropathogenik *Escherichia coli* yang memproduksi hemolisin dan antigen-K yang penting pada patogenisitas infeksi saluran kemih bagian atas, Pyelonephritis berhubungan dengan adanya fimbria-P (Dzen *et al*,2003).

# b. Sepsis

Bila pertahanan hospes tidak adekuat. *Escherichia coli* bisa masuk peredaran darah (bakterimia). Bakterimia dapat menyebabkan terjadinya sepsis. Infeksi saluran kemih merupakan penyebab utama bakterimia (Braunwaid, 2005). Neonatus sangat peka terhadap sepsis akibat *Escherichia coli* karena mereka tidak memiliki antibody IgM (Jawetz *et al*, 2005).

## c. Meningitis

Escherichia coli merupakan penyebab utama meningitis pada bayi terutama pada bayi premature selain Streptococcus grup B. 75% Escherichia coli dari kasus meningitis memiliki antigen K1. Orang dewasa dapat terkena Escherichia coli meningitis terutama pasien yang mengkonsumsi kortikosteroid atau pasien dengan hiperinfeksi (Jawetz et al, 2005).

## 2.1.7 Epidemiologi

Di negara berkembang, kurang lebih 25% dari seluruh kejadian diare disebabkan oleh *Escherichia coli*. *Escherichia coli* merupakan penyebab terbanyak kasus diare akut selain *Shigella*, *Salmonela*, *Vibrio* dan *Campylobacter sp.* Pada daerah endemis diare di Indonesia. diare akut pada anak maupun dewasa biasanya disebabkan oleh ETEC (Triatmodjo, 1996). WHO memperkirakan terjadi 4 miliar kasus diare akut setiap tahun dengan mortalitas 3-4 juta orang. Di perkirakan terjadi 99 juta episode diare akut pada orang dewasa dari 200 juta penduduk di Amerika Serikat setiap tahunnya. Bila angka itu diterapkan di Indonesia, maka setiap tahun terjadi lebih dari 100 juta episode diare pada orang dewasa per tahun. *Escherichia coli* sering menimbulkan wabah diare di Indonesia akibat pencemaran air dan makanan yang di sebabkan sanitasi yang buruk (Zein, 2004).

Escherichia coli merupakan penyebab utama infeksi saluran kemih dan diperkirakan sekitar 90% infeksi saluran kemih pada wanita muda disebabkan oleh Escherichia coli. Setiap tahun Escherichia coli menyebabkan 85-90% cystitis dari 6-8 juta kejadian di Amerika Serikat. Escherichia coli sering menyebabkan infeksi saluran kemih pada pasien yang dirawat di rumah sakit akibat infeksi nosokomial (Dzen et al, 2003). Escherichia coli merupakan penyebab penyakit infeksi saluran kemih pada anak-anak yaitu mencapai 80% kasus (Triatmodjo, 1996). EHEC menyebabkan lebih dari 50 % HUS (Hemolitik Uremic Syndrome) di Amerika Serikat. Sepsis akibat Escherichia coli menyebabkan kematian sebesar 40.000 jiwa di Amerika Serikat pada tahun 2001 (Braunwaid, 2005).

## 2.1.8 Diagnosa

Uji laboratorium infeksi *Escherichia coli* dapat menggunakan spesimen urine, darah, feses atau cairan spinal tergantung gejala klinisnya. Kultur spesimen dilakukan pada media agar darah dan media diferensial (Jawetz *et al*, 2001). *Escherichia coli* serotyping diperlukan untuk kasus kronis dan kejadikan luar biasa karena identifikasi agen dan sensitivitas antibiotiknya sangat pentingnya pada kondisi tersebut (Evans Jr *et al*, 2001)

# 2.1.9 Terapi

Sulfonamid, ampisilin, sefalosporin, fluoroquinolon dan aminoglikosida mempunyai efek antimikroba terhadap *Escherichia coli* (Jawetz *et al*, 2001). Terapi yang dapat digunakan pada kasus diare yaitu quinolon untuk memperpendek durasi penyakit dan loperamide untuk meringankan gejala. Selain sebagai terapi antibacterial, juga diperlukan pemberian cairan dan elektrolit pada kasus diare (Braunwaid, 2005). Namun penggunaan antimikroba saat ini telah banyak menimbulkan resistensi sehingga diperlukan tindakan pencegahan dengan memelihara sanitasi yang baik dan profilaksis dengan pengobatan yang tepat masih sensitif misalnya ciprofloxacin atau cotrimoxazole (Jawetz *et al*, 2005).

#### 2.2 Physalis minima L.

Nama Genus Physalis berasal dari bahasa Yunani yang mempunyai arti bladder yaitu kandung kemih yang menyimbolkan daun pelindung/kelopak bunga

**BRAWIJAY** 

yang menggembung. Sedangkan nama spesies Latin *minima* berarti menyudut yang menggambarkan bentuk dari batang/tangkai bunga (Hall *et al.* 2006)

Physalis minima merupakan tanaman tahunan yang berasal dari daerah tropis di Amazon. Tanaman ini dapat ditemukan hampir di semua benua tropis, meliputi Afrika, Asia, dan Amerika. Mulai tumbuh hingga 1 meter tingginya, bunganya berwarna krem, dan buahnya orange kekuningan yang dapat dimakan seperti buah frambus. Tanaman ini mudah berkembangbiak dari biji buahnya walaupun pada kondisi tanah yang kurang subur (Taylor, 2005)

## 2.2.1 Taksonomi Physalis minima L.

Sinonim : Physalis angulata

Klasifikasi Physalis minima L. dalam sistematika tumbuhan adalah:

Kingdom : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Sub divisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledonnae

Ordo : Solanales

Famili : Solanaceae

Marga : Physalis

Spesies : Physalis minima L.

Nama umum : Ceplukan (Indonesia)

Nama local : Morel berry (Inggris)

Nama daerah

Sumatera : Leletop (Sumatera Timur)

Jawa : Cecendet (Sunda), Ciplukan (Jawa), Yor-yoran (Madura)

Bali : Angket, Kepok-kepokan, Keceplokan

Nusa Tenggara : Dedes (Sasak)

Sulawesi : Leletokan (Minahasa)

Maluku : Lapinonat (Seram)



2.2 Daun ciplukan (Baedowi, 1998)

# 2.2.2 Karakteristik Physalis minima L.

## 2.5.2.1 Kandungan daun ciplukan

Senyawa-senyawa aktif yang terkandung dalam daun ciplukan antara lain saponin dan flavonoid (Latifah *et al.*, 2009)

### 2.2.2.2 **Saponin**

Saponin ada pada seluruh tanaman dengan konsentrasi tinggi pada bagian-bagian tertentu dan dipengaruhi oleh varietas tanaman dan tahap pertumbuhan. Fungsi dalam tumbuh-tumbuhan tidak diketahui, mungkin sebagai bentuk penyimpanan karbohidrat, atau merupakan waste product dari metabolism tumbuh-tumbuhan. Kemungkinan lain adalah sebagai pelindung terhadap serangga (Hopkins, 1995)

Saponin adalah *phytochemical* yang berguna, yaitu antara lain mempunyai aktivitas antifungal dan antimikroba yang berspektrum luas. Saponin mempunyai kerja merusak membran plasma dari bakteri (Hopkins, 1995)

Saponin mempunyai sifat yaitu rasa pahit dan membentuk busa yang stabil dalam larutan air, menghemolisis ertirosit, merupakan racun kuat untuk ikan dan amfibi, membentuk persenyawaan dengan kolesterol dan hidroksisteroid lainnya, serta mempunyai berat molekul relatife tinggi. Toksisitasnya mungkin karena dapat merendahkan tegangan permukaan (*surface tension*). Dengan hidrolisa lengkap akan dihasilkan sapongenin (aglikon) dan karbohidrat (Hopkins, 1995).

Macam-macam saponin berbeda komposisi kimiawinya, yaitu berbeda pada aglikon (sapogenin) dan juga karbohidratnya, sehingga tumbuh-tumbuhan tertentu dapat mempunyai saponin yang berlainan, seperti:

- Quillage saponin: campuran dari 3 atau 4 saponin
- Alfalfa saponin: campuran dari paling sedikit 5 saponin
  - Say bean saponin: terdiri dari 5 fraksi yang berbeda dalam saponegenin, atau karbohidratnya, atau dalam kedua-duanya (Hopkins, 1995)

## 2.2.2.3 Flavonoid

Flavonoid diketahui disintesis oleh tanaman dalam responsnya terhadap infeksi mikroba sehingga tidak mengherankan jika 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 dan mudah terurai pada temperature yang tinggi (Melderen, 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 berkaitan dengan protein bakteri. DNA *gyrase* termasuk salah satu dari enzim kelas tapoisomerase II. Zat flavonoid dari tanaman dapat dimurnikan dengan menggunakan ekstrak alkohol (Robinson, 1991; Cowman, 1999; Melderen, 2002)

#### 2.3 Antimikroba

Antimikroba adalah agen yang mampu membunuh atau menekan pertumbuhan mikroorganisme. Penggunaan antimikroba dipengaruhi oleh toksisitas selektif, yaitu perbedaan antara struktur sel mikroba dengan sel hospes. Antimikroba memiliki toksisitas selektif yang tinggi karena sel manusia berbeda dengan sel bakteri dalam hal dinding sel, komponen membran sel, struktur ribosom DNA metabolismnya (Dzen et al, 2003).

Antimikroba yang memiliki kemampuan mematikan bakteri disebut bakterisidal sedangkan antimikroba yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri di sebut bakteriostatika. Berdasarkan kemampuan mempengaruhi banyaknya jenis mikroba, antimikroba digolongkan menjadi antimikroba berspektrum sempit dna antimikroba berspektrum luas. Antimikroba berspektrum sempit hanya mempengaruhi beberapa jenis mikroba misalnya golongan penisilin hanya efektif terhadap bakteri gram positif, sedangkan antimikroba berspektrum luas misalnya klorafenikol dapat mempengaruhi bakteri gram positif, gram negatif maupun mikroba lainnya (Dzen et al, 2003).

Secara umum sifat-sifat obat antimikroba yang baik itu: (Dzen et al, 2003)

a. Tidak merusak sel hospes dan tidak menyebabkan resistensi pada bakteri.

- b. Bersifat bakterisidal dan bukan bakteriostatik serta berspektrum luas
- c. Tidak bersifat alergenik atau menimbulakn efek samping bila digunakan dalam jangaka waktu lama.
- d. Tetap aktif dalam plasma, cairan tubuh atau eksudat.
- e. Kadar bakterisidal di dalam tuubh cepat tercapai dan bertahan untuk waktu lama.

  2.3.1 Jenis antimikroba yaitu :

#### a. Antimikroba sintetik

Antimikroba sintetik merupakan antimikroba yang dibuat secara kimiawi di Laboratorium. Contoh antimikroba sintetik adalah sulfonamide (Dzen et al, 2003).

#### a. Antimikroba alamiah

Bahan metabolit yang dapat menghambat atau membunuh mikroorganisme disebut antibiotika dan cara kerjanya disebut antibiosis. Antibiotika tersebut tersebar di alam dan dari banyak antibiotika yang telah ditemukan hanya beberapa yang tidak toksik untuk dipakai di dalam pengobatan (Dzen et al, 2003). Antimikroba yang berasal dari tumbuhan, salah satunya ciplukan, termasuk antimikroba alamiah.

#### b. Antimikroba semisintetik

Antimikroba semisentetik diperoleh dengan melakukan modifikasi rumus kimia dari senyawa alamiah. Tujuan pembuatan antimikroba semisentetik adalah untuk memperluas spectrum, menurunkan toksisitas, meningkatkan stabilitas, atau memperbaiki farmakokinetik. Contohnya adalah ampisilin (Dzen et al, 2003).

## 2.3.2 Mekanisme kerja

Mekanisme kerja antimikroba dapat dilakukan dengan berbagai cara. Tempat kerja antimikroba antara lain dinding sel, membran sel, ribosom, inti dari metabolisme mikroba (Neu and Thomas, 2001).

## 2.3.2.1 Menghambat sintesis dinding sel

Dasar toksisitas selektif terletak pada perbedaan struktur dinding sel prokariotik yang terdiri atas peptidoglikan dengan sel eukariotik yang tidak memiliki peptidoglikan sehingga golongan oabat ini relative aman sebagai obat antimikroba tetapi tidak berpengaruh terhadap sel hospes. Kerja antimikroba penghambat sintesis dinding sel efektif pada saat bakteri sedang aktif membelah. Contoh obat yang bekerja menghambat pembentukan dinding sel yaitu antimikroba B laktam dan non B laktam (Jawetz et al, 2005).

#### 2.3.2.2 Menghambat fungsi membran sel

Sitoplasma bakteri dibatasi membran sitoplasma yang berperan sebagai barier permeabilitas selektif, transport zat dan molekul serta pengontrol komposisi internal sel. Membran sel bakteri terdiri atas lipid, protein, dan lipoprotein. Kerusakan membran sel dapt menyebabkan metabolit penting di dalam sel lolos keluar sel sehingga mengakibatkan kematian sel. Contoh antimikroba yang merusak membran sel adalah polimiksin-B, golongan poliene (amfoterisin-B) dan golongan azol (Jawetz et al, 2005).

## 2.3.2.3 Menghambat sintesis protein

Dasar toksisitas selektif adalah perbedaan struktur ribosom sel prokariotik (ribosom 70S) dengan sel eukariotik (ribosom 80S). Ribosom 70S bakteri terdiri atas unit 50sS dan 30S. Antimikroba yang bekerja pada unit ribosom 50S adalah klorafenikol dan linkomisin dengan cara menghambat perpanjangan rantai polipeptida serta eritromisin yang bekerja dengan mencegah perjalanan ribosom sepanjang mRNA. Antimikroba yang bekerja pada unit ribosom 30S adalah streptomisin dengan cara mengubah bentuk ribosom serta tetrasiklin yang bekerja dengan menganggu perlekatan tRNA pada kompleks mRNA ribosom (Jawetz *et al*, 2005).

# 2.3.2.4 Menghambat sintesis asam nukleat

Antimikroba ini dapat bekerja dengan cara menghambat sintesis mRNA pada proses transkripsi misalnya rifampisin atau menghambat replikasi DNA pada proses pembelahan sel misalnya asam nalidiksat, senyawa kuinolon dan mitomisin. Rifampin bekerja dengan cara berkaitan dengan enzim DNA dependent *RNA polymerase* sehingga menghambat sintesa RNA bakteri, senyawa kuinolon bekerja menghambat sintesis DNA dengan cara memblokir helix DNA (Jawetz *et al*, 2005).

## 2.3.2.5 Antagonis metabolit

Aktivitas enzim sering dihambat oleh senyawa yang mempunyai struktur mirip dengan substrat asalnya. Senyawa penghambat tersebut bergabung dengan enzim sehingga dapat mencegah reaksi enzim dengan substrat dan reaksi-rekasi katalitik. Senyawa penghambat tersebut dinamakan antagonis metaoblit. Mekanisme kerja antagonis metabolit adalah dengan cara

menghambat secara kompetitif terhadap sintesis metabolit essensial. Contoh antagonis metabolit yaitu golongan sulfonamide, trimetoprim, dan pirimetamin metisilin (Dzen *et al.*, 2003).

# 2.4. Resistensi terhadap antimikroba

## 2.4.1 Mekanisme terjadinya resistensi terhadap antimikroba

Mekanisme terjadinya resistensi terhadap antimikroba yaitu :

- a. Mikroba memproduksi enzim yang merusak obat.
- b. Mikroba mengubah permeabilitas membran selnya.
- c. Mikroba mengubah sturktur target terhadap obat.
- d. Mikroba mengembangkan jalan metabolisme baru.
- e. Mikroba mengembangkan enzim yang tetap berfungsi untuk metabolismenya tetapi tidak dipengeruhi obat.
- f. Mikroba memperbesar produksi bahan metabolit (Dzen et al, 2003).

Escherichia coli merupakan bakteri yang mudah mengalami resistensi. Resistensi Escherichia coli dapat terjadi melalui beberapa mekanisme. Escherichia coli dapat resisten terhadap antimikroba golongan B laktam yang bekerja menghambat sintesis dinding sel melalui mekanisme hambatan oleh enzim B laktamase. Mekanisme yang lain adalah penurunan permeabilitas membran luar (porin) dengan peningkatan efluks B laktam dari periplasma ke luar sel sehingga menurunkan jumlah B laktam yang dapat masuk ke dalam sel (Braunwaid, 2005). Escherichia coli dapat resistensi terhadap antimikroba yang bekerja menghambat sintesis protein melalui mekanisme asetilasi, fosforilasi, dan adenilasi terhadap golongan aminoglikosida. Escherichia coli juga dapat resisten terhadap antagonis metabolit melalui mekanisme pengubahan enzim.

Resistensi *Escherichia coli* terhadap fosfomisin disebabkan *Escherichia coli* dapat mengubah glukosa (Neu and Thomas, 2001).

### 2.4.2 Asal mula terjadinya resistensi terhadap antimikroba

Asal mula terjadinya resistensi terhadap antimikroba yaitu:

## a. Resistensi non genetik

Hampir semua antimikroba yang bekerja dengan baik pada saat pembelahan sel bakteri sehingga bakteri yang tidak aktif membelah pada umumnya resisten terhadap obat misalnya bakteri mycobacterium tuberculosis. Mikroba yang dapat menghilangkan struktur target pada generasinya dapat mengalami resistensi misalnya bakteri yang tidak memiliki dinding sel (L-Form) akan resisten terhadap obat yang bekerja pada dinding sel (Dzen *et al*, 2003).

### b. Resistensi genetik

Terjadinya resistensi bakteri terhadap obat umumnya disebabkan perubahan genetik. Perubahan genetik dapat terjadi secara kromosomal maupun ekstrakrosomal dan perubahan genetik tersebut dapat dipindahkan dari satu spesies bakteri ke spesies bakteri lain melalui berbagai mekanisme. Resistensi kromosomal terjadi karena mutasi spontan akibat mekanisme seleksi terhadap supresi oleh antimikroba. Sedangkan resistensi ekstrakromosomal terjadi karena mutasi materi genetik selain kromosom yang disebut plasmid (Dzen *et al*, 2003).

## 2.5 Uji kepekaan antimikroba secara in vitro

Aktivitas antimikroba secara *in vitro* dilakukan untuk menentukan potensi agen antimikroba dalam larutan, konsentrasinya dalam cairan tubuh atau jaringan dan kepekaan mikroorganisme terhadap obat yang diketahui (Jawetz *et* 

al, 2005). Penentuan kepekaan bakteri pathogen terhadap antimikroba dapat dilakukan dengan dua metode pokok, yaitu metode dilusi dan metode difusi (Dzen et al, 2003).

# 2.5.1 Metode dilusi (dilution test)

Metode ini digunakan untuk mengetahui kadar hambat minimal (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM) dari antimikroba. Metode dilusi dapat dilakukan dengan menggunakan media cair (broth) didalam tabung (tube dilution test atau dapat juga dilakukan dengan menggunakan agar padat pada cawan petri (agar dilution test).

#### 2.5.1.1 Tube dilution test

Tube *dilution test* dilakukan dengan membuat larutan antimikroba dengan kadar yang menurun melalui teknik pengenceran serial kemudian ditambahkan perbenihan cair bakteri uji (Dzen *et al*, 2003). Konsentrasi bakteri uji yang digunakan adalah 10<sup>8</sup> CFU/ml (Baron *et al*, 1994).

Prinsip dari metode dilusi tabung adalah sebagai berikut :

- a. Satu seri tabung reaksi yang diisi media cair dan sejumlah tertentu sel bakteri yang diuji dicampurkan dengan antimikroba yang telah diencerkan secara serial.
- b. Masing-masing tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan diamati terjadinya kekeruhan pada tabung.
- c. Konsentrasi terendah antimikroba pada tabung yang ditunjukan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada tertumbuhan antimikroba) adalah kadar hambat minimal (KHM) dari antimikroba.

- d. Biakan dari semua tabung yang jernih diinokulasikan pada media agar padat kemudian diinkubasikan dan diamati keesokan hari ada tidaknya pertumbuhan koloni.
- e. Konsentrasi terendah antimikroba pada agar yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni adalah KBM (kadar bunuh minimal ) dari antimikroba (Dzen et al, 2003)

Kadar hambat minimal (KHM) atau *minimal inhibition concentration* (MIC) adalah konsentrasi terendah dari antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri ditandai dengan tidak adanya kekeruhan pada tabung setelah diinkubasi 18-24 jam (Baron *et al*, 1993).

Kadar bunuh minimal (KBM) atau *minimal Bactericidal Concentration* (MBC) adalah konsentrasi terendah dari antimikroba yang dapat membunuh bakteri pada medium NAP yang telah dilakukan penggoresan sebanyak satu ose dan diinkubasi selama 18-24 jam.(Baron *et al.*, 1994).

Metode dilusi tabung merupakan metode yang mudah dikerjakan dan cepat untuk menguji satu antimikroba dengan satu isolat. Dari metode ini dapat diketahui KBM dan KHM antimikroba. Akan tetapi dalam Laboratorium klinik Mikrobiologi metode ini tidak digunakan sebagai uji kepekaan rutin (Murray *et al*, 1999).

## 2.5.1.2 Agar dilution test

Metode dilusi agar merupakan metode alternative untuk mengetahui KHM dari suatu antimikroba. Akan tetapi metode ini tidak dapat digunakan untuk mengetahui KBM antimikroba (Baron et al, 1994). Prinsip metode ini sama dengan metode dilusi tabung. Agar dilution test dilakukan dengan

mencampurkan larutan antimikroba yang sudah diencerkan secara serial ke dalam media agar yang masih cair kemudian agar dibiarkan memadat selanjutnya diinokulasikan dengan bakteri (Dzen *et al*, 2003). Bakteri diinokulasikan dengan menggunakn sterrs-foltz replicator yang bila dikalibrasi, suspensi bakteri yang digunakan adalah 0,001 ml pada permukaan agar. Suspensi bakteri yang digunakan tersebut mengandung 1x10<sup>8</sup> CFU. Setelah diinkubasi bakteri akan tumbuh pada agar yang tidak mengandung antimikroba yang adekuat untuk menghambat pertumbuhan bakteri. KHM adalah konsentrasi terendah dari antimikroba yang di tandai dengan adanya kabut tipis pertumbuhan bakteri atau terdapat kurang dari 3 CFU bakteri (Baron *et al*, 1994).

Metode ini merupakan teknik uji kepekaan yang berstandar baik dan dapat digunakan sebagai referensi untuk evaluasi metode uji lain. Selain itu metode ini terhitung efisien pada tes simultan yang membutuhkan banyak isolat dengan ketersediaan antimikroba yang terbatas. Begitu pula pada kontaminasi mikroba atau populasi mikroba yang heterogen, metode dilusi agar lebih mudah dideteksi daripada dengan metode dilusi tabung. Kekurangan dari metode ini adalah memakan waktu yang banyak dan butuh penanganan intensif dalam menyiapkan plate dan tidak dapat digunakan untuk mengetahui KBM (Murray et al, 1999).

## 2.5.2 Metode difusi (Diffusion test)

Metode difusi bisa dilakukan dengan dua cara, yaitu well-diffusion test dan disk-diffusion test. Well-diffusion test dilakukan dengan cara menginokulasikan bakteri pada agar dalam cawan petri, meletakan suspense antimikroba dalam silinder kecil untuk membentuk lubang dangkal pada agar dan

kemudian dalam lubang tersebut dimasukkan agen antimikroba cair. Agen tersebut akan berdifusi ke media dan membentuk area jernih (zona inhibisi) di sekitar lubang yang menunjukan tidak adanya pertumbuhan mikroba (McClantchey, 1994).

Disk-diffusion test (difusi cakram) dilakukan dengan cara menjenuhkan antimikroba kedalam cakram kertas. Cakram kertas tersebut ditanam pada media perbenihan agar padat yang telah dicampur dengan mikroba yang telah di uji kemudian diinkubasi pada suhu 37 C selama 18-24 jam. Selanjutnya diamati adanya area jernih (zona inhibisi) di sekitar cakram kertas yang menunjukan tidak adanya pertumbuhan mikroba (Dzen et al, 2003). Evaluasi hasil uji kepekaan antimikroba dapat dilakukan dengan dua cara yaitu

## a. Cara Kirby-Bauer

Cara ini dilakukan dengan cara membandingkan diameter dari area jernih (zona inhibisi) di sekitar cakram dengan table standar yang dibuat NCLSS (national committee for clinical laboratory standard). Melalui tabel NCLSS, dapat diketahui criteria sensitive, sensitif intermediet dan resisten.

## b. Cara Joan-Stokes

Cara ini dilakukan dengan cara membandingkan radius inhibisi yang terjadi antara bakteri control yang sudah diketahui kepekaannya terhadap antimikroba tersebut dengan isolat bakteri uji. Criteria cara Joan-Stokes adalah sebagai berikut:

#### c. Sensitif

Bila radius zona inhbisi uji lebih luas, sama dengan, atau lebih kecil tetapi tidak lebih dari 3 mm terhadap bakteri control.

## d. Intermediet

Bila radius zona inhibisi bakteri uji lebih besar dari 3 mm tetapi dibandingkan bakteri control lebih kecil dari 3 mm

#### e. Resisten

Bila radius zona inhibisi kurang atau sama dengan 3 mm terhadap bakteri control. (Dzen *et al.* 2003)

