

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

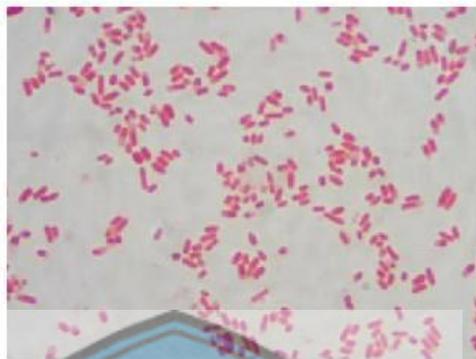
#### 2.1. *Escherichia coli* (*E. coli*)

*Escherichia coli* (*E.coli*) adalah salah satu bakteri yang termasuk golongan *coliform* dan hidup normal di dalam kotoran manusia maupun hewan, oleh karena itu disebut juga koliform fekal. *E. coli* adalah bakteri bersifat gram negatif, berbentuk batang dan tidak membentuk spora, *E. coli* umum ditemukan dalam air, sehingga keberadaannya dalam air dapat dianggap sebagai petunjuk terjadinya pencemaran kotoran dalam arti luas, baik dari kotoran hewan maupun manusia (Nuha, 2013).

*E. coli* hidup dalam jumlah besar di dalam usus manusia, yaitu untuk membantu sistem pencernaan manusia dan melindungi dari bakteri patogen. Namun pada strain baru dari *E.coli* merupakan patogen berbahaya yang menyebabkan penyakit diare (Damayanti, 2014). Klasifikasi *E.coli* sebagai berikut : Divisi *Protophyta*, Kelas *Schilomycetes*, Ordo *Eubacteriales* ,family *Enterobacteriaceae* Genus,*Escherichia* ,Spesies *Escherichia coli* (Elfidasari *et all.*, 2011).

Morfologi *E.coli* berbentuk batang, tidak memiliki spora, bersifat gram negatif, dapat bergerak dengan menggunakan peritricus flagella, ukuran panjang 1-4  $\mu$ , lebar 0,4-0,7  $\mu$  susunan kuman umumnya menyebar (Hendrayati, 2012). Koloni *E. coli* terlihat basah, mengkilat, tidak bening, bulat dan dengan tepi yang terlihat halus dan rata. Koloni muda terlihat granuler halus dan makin tua

menjadi granuler kasar. *E. coli* menghasilkan asam dan gas dari glukosa, laktosa, fruktosa, maltose dan pertumbuhan optimum pada suhu 37°C, dan pH 7,0 (Wasitaningrum, 2009).



Gambar 1. *Escherichia coli* pada pembesaran lensa objektif 100x (Hasibuan, 2016).

### 2.1.1. Struktur antigen dan Patogenesis *E. coli*

*E. coli* mempunyai beberapa antigen yaitu anti gen O, H, dan K, dimana antigen O (somatik) yang merupakan bagian terluar dari lipolisakarida dinding sel dan terdiri atas unit polisakarida yang berulang, antigen O bersifat termostabil atau tahan panas dan alcohol (Hasibuan, 2016). Antigen H (flagel) bersifat termolabil atau tidak tahan alcohol dan panas pada suhu 100°C. Antigen H dipertahankan dengan memberikan formalin pada varian bakteri yang bergerak seperti pada *Escherichia coli* (Hendrayati, 2012), antigen K (kapsul) terdiri dari polisakarida dan bersifat tidak tahan panas dan terdapat di bagian luar bakteri, antigen K berada diluar antigen O, antigen K dapat mengganggu aglutinasi melalui antiserum O (Hasibuan, 2016).

Patogenesis *E. coli* merupakan flora normal saluran pencernaan. Flora normal adalah mikroba yang secara alamiah menghuni tubuh manusia, Akan tetapi mempunyai potensi menimbulkan penyakit. Bakteri ini menjadi patogen jika jumlah bakteri ini dalam saluran pencernaan meningkat atau berada diluar usus dan menghasilkan enterotoksin yang dapat menyebabkan diare (Ningrum, 2012). Penularan bakteri *E. coli* melalui makanan mentah dan air, makanan yang kurang matang dan kontaminasi, yaitu apabila makanan yang sudah dimasak bersentuhan dengan bahan mentah atau peralatan yang terkontaminasi (Jawetz *et al*, 2005).

*E. coli* dapat berpindah karena adanya kegiatan seperti dari tangan ke mulut atau dengan pemindahan melalui air. *Strain* tertentu dapat menyebabkan peradangan selaput perut dan usus. *E.coli* menjadi patogen berbahaya apabila hidup di luar usus seperti pada saluran kemih, yang dapat mengakibatkan peradangan selaput lender (Elfidasari *et al*, 2011).

*E.coli* memiliki beberapa jenis spesies yang hidup dalam saluran pencernaan manusia dan hewan, dengan diketahuinya bahwa jasad tersebut tersebar pada semua individu, analisis bakteriologi terhadap air minum ditujukan kepada kehadiran jasad tersebut dalam air. Walaupun adanya jasad yang terdapat dalam air, itu belum bisa memastikan bahwa jasad tersebut pathogen (Ismail, 2009). *E.coli* menyebabkan gangguan pada sistem pencernaan pada manusia diantaranya disebabkan oleh *enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC), *diffuse adherent Escherichia coli* (DAEC), *enterotoxigenic Escherichia coli* (ETEC),

*enteroaggregative Escherichia coli* (EAEC), *enteroinvasive Escherichia coli* (EIEC) dan *enterohaemorrhagic Escherichia coli* (EHEC) (Baehaqi, 2015).

## 2.2. *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*)

*S.aureus* adalah bakteri gram positif, bentuk coccus, tidak bergerak ditemukan satu-satu, berpasangan, beranantai pendek atau bergerombol, tidak membentuk spora, tidak berkapsul, dan dinding selnya mengandung dua komponen utama yaitu peptidoglikan dan asam teikhoat. Metabolisme dapat dilakukan secara aerob dan fakultatif anaerob, infeksi yang disebabkan oleh bakteri *S. aureus* digolongkan sebagai penyakit menular/ lokal ( biasanya) atau menyebar ( jarang) (Jawetz *et al.*, 2005).

*S. aureus* adalah sel yang berbentuk bola dengan garis tengah sekitar 1µm dan tersusun dalam kelompok tak beraturan. Bakteri *S.aureus* menghasilkan koagulasi, suatu protein mirip enzim yang dapat menggumpalkan plasma yang telah diberi oksalat atau sitrat dengan bantuan suatu faktor yang terdapat dalam banyak serum. Bakteri yang membentuk koagulasi dianggap mempunyai potensi menjadi patogen invasif (Jawetz *et al.*, 200). Klasifikasi *S. aureus* Domain: Bacteriae, Kingdom: Eubacteriae, Phylum: Firmicutes, Class: Bacilli, Ordo: Bacillales, Family: Staphylococcaceae, Genus Staphylococcus, Spesies: *S.aureus* (Syahrurahman *et al* 2010).

Morfologi *S. aureus* merupakan bakteri gram positif berbentuk coccus berdiameter 0,7-1,2µm, tersusun secara berkelompok yang tidak teratur seperti anggur, tidak membentuk spora dan tidak motil. Bakteri ini tumbuh pada suhu

optimum 37°C tetapi tidak membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25 °C) (Brooks *et al*,2008).

### 2.2.1. *S.aureus* Resisten Metisilin

*S. aureus* pertama kali menjadi patogen penting dirumah sakit pada tahun 1940-an. Pengobatan infeksi ini menggunakan penisilin G ( benzil penisilin) yang merupakan antimikroba golongan  $\beta$  – laktamase. Satu dekade kemudian muncul strain resisten penisilin. Strain ini menginaktifasi antimikroba yang memiliki cincin enzim  $\beta$  –laktamase sehingga menimbulkan hilangnya aktivitas antibakterisidal antimikroba tersebut, oleh karena itu dikembangkanlah usaha untuk mendapatkan obat yang tahan terhadap  $\beta$  –laktamase (Salmenlina, 2002).

Metisilin merupakan penisilin modifikasi yang diperkenalkan pada tahun 1960-an. Antibiotik ini digunakan untuk mengobati infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap sebagian besar penisilin. Pada tahun 1961 strain *S.aureus* yang resisten terhadap metisilin ditemukan (Jutti,2004).

Resistensi metisilin terjadi karena adanya perubahan protein pengikat penisilin (PBP). Mekanisme resisten *S.aureus* terhadap metisilin dapat terjadi melalui pembentukan PBP lain yang sudah dimodifikasi, yaitu PBP2a yang mengakibatkan penurunan afinitas antimikroba golongan  $\beta$  –laktam. Suatu strain yang resisten terhadap metisilin berarti akan resisten juga terhadap semua derivat penisilin, sefalosporin dan karbapennem. Penisilin bekerja dengan mengikat pada beberapa PBP dan membunuh bakteri dengan mengaktivitas enzim autolitiknya sendiri. Pembentukan PBP2a ini menyebabkan afinitas terhadap penisilin

menurun sehingga bakteri tidak dapat diinaktivasi. PBP2-a ini dikode oleh gen *mecA* yang berada dalam transposon ( Salmenlina, 2002).

*Methicillin-Resistant S. aureus* (MRSA) adalah bakteri *S. aureus* yang mengalami kekebalan terhadap antibiotik jenis metisilin. MRSA mengalami resistensi karena perubahan genetik yang disebabkan oleh paparan terapi antibiotik yang tidak rasional. Transmisi bakteri berpindah dari satu pasien ke pasien lainnya melalui alat medis yang tidak diperhatikan sterilitasnya. Transmisinya dapat pula melalui udara maupun fasilitas ruangan, misalnya selimut atau kain tempat tidur (Nurkusuma, 2009).

Faktor-faktor resiko terjadinya MRSA antara lain lingkungan, populasi, kontak olahraga, kebersihan individu, riwayat perawatan, riwayat operasi, riwayat infeksi dan penyakit, riwayat pengobatan, serta kondisi medis (Biantoro, 2008). Pada beberapa dekade belakangan, insiden infeksi MRSA terus meningkat di berbagai belahan dunia. Di Asia, prevalensi infeksi MRSA kini mencapai 70%, sementara di Indonesia pada tahun 2006 prevalensinya berada pada angka 23,5% (Sulistyaningsih, 2010)



Gambar 2. *Staphylococcus aureus* yang Mikroskop Elektron (Todar, 2008).

### 2.2.2. Sifat pertumbuhan bakteri

Bentuk coccus, gram positif, formasi *staphylae*, mengeluarkan endotoksin. Tidak bergerak, tidak mampu membentuk spora. Fakultatif anaerob, sangat tahan terhadap pengeringan, mati pada suhu 60° C setelah 60 menit. Flora normal pada kulit dan saluran pernapasan bagian atas. Pada pemeriksaan koloninya berwarna kuning emas. Di alam terdapat pada tanah, air dan debu udara (Entjang, indan. 2003).

### 2.2.3. Struktur Antigen dan Patogenitas

Kuman *Staphylococcus* mengandung polisakarida dan protein yang bersifat antigenik. Bahan-bahan ekstraseluler yang dibuat oleh kuman ini kebanyakan juga bersifat antigenik (Brooks G,F. *et al.*2005).

Polisakarida yang ditemukan pada jenis yang virulen disebut polisakarida A, dan yang ditemukan pada jenis yang tidak patogen disebut polisakarida B, polisakarida A merupakan komponen dinding sel yang dapat dipindahkan dengan memakai asam triklorasetat. Antigen protein A terletak diluar antigen polisakarida, kedua-duanya bersama-sama membentuk dinding sel kuman (Brooks. *et al.*2005).

Patogenitas *S. aureus* adalah patogen utama pada manusia. Hampir semua orang pernah mengalami infeksi *S. aureus* selama hidupnya, dengan derajat keparahan yang beragam, dari keracunan makanan atau infeksi kulit ringan hingga infeksi berat yang mengancam jiwa. Sebagian bakteri *S. aureus* merupakan flora normal pada kulit, saluran pernafasan, dan saluran pencernaan makanan pada manusia. Bakteri ini juga ditemukan di udara dan lingkungan sekitar. *S. aureus*

yang patogen bersifat invasif, menyebabkan hemolisis, membentuk koagulasi, dan mamapu meragikan manitol. Infeksi oleh *S. aureus* adalah bisul, jerawat, impetigo, dan infeksi luka. Infeksi yang lebih berat diantaranya pneumonia, mastitis, plebitis, meningitis, infeksi saluran kemih, osteomielitis, dan endokraditis. *S. aureus* juga merupakan penyebab utama infeksi noskomial, keracunan makanan, dan sindroma syok toksik (Kusuma, 2009).

### 2.3 Madu Hutan

Madu adalah cairan manis yang kental dengan banyak khasiat dan mudah di dapat. Madu hutan dihasilkan oleh lebah jenis *Apis dorsata*, lebah ini adalah jenis lebah yang belum dapat dibudidayakan. Umumnya lebah tersebut hidup secara alami di hutan Sumatra, Kalimantan, Sulawesi, Jawa dan kepulauan Nusa Tenggara (Alor), pohon tempat bersarangnya lebah secara umum berasal dari dengan jenis pohon kalumpung, pohon kapuk hutan dan pohon kenari, dan merupakan jenis lebah yang penting bagi perlebahan Indonesia karena kontribusinya berupa produksi madu yang cukup tinggi serta pemanfaatannya sangat potensial dijadikan sebagai sumber mata pencarian masyarakat sekitar hutan (Gultom, 2007).

Lebah adalah serangga yang hidup berkoloni. Dalam tiap komunitas serangga terdiri dari ratu lebah, lebah pekerja dan lebah penjantan dimana tiap penghuni sarang lebah mempunyai tugas sendiri-sendiri, selain menghasilkan madu lebah itu sendiri juga menghasilkan lilin yang dihasilkan dari sari bunga tumbuhan yang dihisapnya. Ada banyak spesies lebah madu dan yang sudah diketahui adalah *Apis andreniformis* (*A. andreniformis*, *Apis cerana* dan *Apis*

*koschevnikovi*. *Apis dorsata* merupakan salah satu spesies lebah yang hidupnya liar, di Jawa disebut tawon gung dan gambreng, di Sumatra Barat disebut lebah gadang gantung, kabau, jiwa dsb. (Suranto,2004).

*Apis dorsata* (*A.dorsata*) masih sulit untuk ditenak atau dibudidayakan karena hidupnya yang liar dan sifatnya yang agresif, selain itu karena letak sarangnya berada pada pohon-pohon tinggi, loteng, dan bukit batu yang terjal di hutan. Pada satu pohon biasanya terdapat 5- 10 koloni. Produk utama dari lebah jenis *Apis dorsat* adalah madu dan malam dengan produksi madu mencapai 10- 20 koloni per panen, jika sarang yang dibuat lebih besar dapat memproduksi madu samapi 30 kg. Lebah ini hanya hidup dan berkembang dikawasan subtropis dan tropis Asia seperti di Indonesia (Suranto,2004).

### **2.3.1 Proses pengambilan madu hutan**

Madu ini dihasilkan oleh lebah dari nektar tumbuhan. Nektar tanaman adalah cairan menggabungkan 80% air, gula kompleks alami dan asam amino esensial. Para petani biasanya memanen dengan cara tradisional, padahal cara tersebut dapat mempengaruhi terhadap kualitas madu yang dihasilkan. Biasanya panen dilakukan malam hari dan menggunakan pengasapan dengan akar kayu. Proses pemanasan sebenarnya cepat hanya membutuhkan waktu 15 menit bila semua berjalan lancar dan ketika terkena kepulan asap maka lebah- lebah yang berada disarang akan terbang dari sarangnya, setelah sarang madu diambil maka dilanjutkan dengan memeras madu yang didapat. Untuk mendapatkan madu yang berkualitas dapat dilakukan dengan cara yaitu sarang yang didapat diletakkan pada tempat yang bersih, kemudian dibersihkan dari kotoran dan lebah yang mati,

pisahkan bagian anakan dan bagian pollen, lalu potong sarang menjadi bagian-bagian kecil melintang dan buka bagian tutup lilin sarang, letakan di kain bersih dan ikat, madu akan menetes ke dalam wadah penampungan, wadah penampung madu harus bersih dan kering dan mempunyai tutup kedap udara, yang terpenting madu jangan diperas bersama sarangnya. Kehigienisan selama preses pembuatan dan pengolah madu sangatlah penting.



### 2.3.2 Kandungan Madu Hutan (Suranto,2004)

Madu hutan memiliki beberapa kandungan dilihat dari tabel dibawa ini . Tabel 3. kandungan madu hutan

Kandungan	Rata-rata	Kisaran	Standar Deviasai
<b>Fruktosa Glikosa</b>	1,23	0,,76-1,86	0,126
<b>Fruktosa%</b>			
<b>Glukosa%</b>	38,38	30,91-44,26	1,77
<b>Maltosa%</b>	30,31	22,89-44,26	3,04
<b>Sukrosa%</b>	7,3	2,7-16,0	2,1
<b>Gula%</b>	1,31	0,25-7,57	0,87
<b>Mineral%</b>	83,72		
<b>Asam bebas</b>	0,169	0,020-1,028	0,15
<b>(asam glukoronat)</b>	0,43	0,13-0,92	0,16
<b>Nitrogen</b>	0,041	0,000-0,1333	0,026
<b>Air%</b>	17,2	13,4-22,9	1,5
<b>PH</b>	3,91	3,42-6,01	-
<b>Total keasaman</b>	29,12	8,68-59,49	10,33
<b>Prorein</b>	168,6	57,7-56,7	70,9

Madu hutan merupakan madu yang bersifat alamiah,karena madu ini tidak terkena pupuk, peptisida dan populasi sehingga sangat baik untuk digunakan sehari-hari. Madu mempunyai kegunaan sebagai antibakteri dengan kandungan karbohidrat yang tinggi dapat menghambat pertumbuhan bakteri, madu dengan

pH 3,65 berfungsi mengurangi pertumbuhan dan daya hidup bakteri, hydrogen peroksida dapat mengambat bakteri, sifat higroskopik pada madu berfungsi menyerap cairan sehingga mempercepat penyembuhan luka pada usus yang terjadi pada penderita tifus. Madu juga mengandung vitamin C, asam organik, enzim, asam fenolik, flavanoid, dan beta karoten yang bermanfaat sebagai antioksidan tinggi. Senyawa organik antibakteri yang teridentifikasi pada madu adalah H<sub>2</sub> O<sub>2</sub>, flavanoid, polyphenol dan glikosida ( Febrita, 2011).

Kandungan flavonoid pada madu ini berfungsi sebagai antibakteri dengan mekanisme kerjanya adalah mendenarutasi protein sel bakteri dan merusak membrane sel tanpa dapat diperbaiki lagi (Arista, 2013). Polyphenol berguna untuk menghambat kerja enzim sedangkan glikosida mempunyai berat molekul tinggi yang dihasilkan oleh tumbuhan dengan mekanisme kerja sebagai antibakteri yaitu bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin yang akan mengurangi permeabilitas membrane sel bakteri yang akan mengakibatkan sel bakteri kekurangan nutrisi, sehingga bakteri akan mati ( Rachmawati, 2009). Senyawa fenol mampu memutuskan ikatan peptidoglikan saat menerobos dinding sel. Setelah menerobos dinding sel, senyawa fenol akan menyebabkan kebocoran isi sel, dengan cara merusak ikatan hidrofobik komponen membran sel seperti (protein dan fosfolipida) serta larutnya komponen-komponen yang berakibat meningkatnya permeabilitas membran, menyebabkan keluarnya isi sel. Terjadi kerusakan pada membran sel mengakibatkan terhambatnya aktivitas dan biosintesis enzim-enzim spesifik yang diperlukan

dalam reaksi metabolisme. Madu juga mengandung senyawa hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) yang dapat membunuh bakteri. Senyawa tersebut secara reaktif merusak gugus fungsi biomolekul pada sel bakteri. Adapun mekanisme kerja hidrogen peroksida adalah dengan mendenaturasi protein dan menghambat sintesis atau fungsi dari asam nukleat bakteri dengan adanya kerusakan pada dinding sel bakteri dan gangguan pada sintesis asam nukleat, maka pertumbuhan bakteri akan terhambat. (Zulhawa, D.J. 2010)

### **2.3.3 Manfaat Madu Hutan**

Dalam dunia kesehatan bahwa madu memiliki kandungan antimikroba, dan juga madu mempunyai kemampuan dalam membunuh bakteri seperti bakteri Gram positif dan Gram negatif. Seperti riset yang diterbitkan tahun 1985 di sebuah jurnal Medis Afrika Selatan dan jurnal Farmakologi dan Obat tahun 1983, dinyatakan bahwa madu meningkatkan tekanan osmosis di atas permukaan luka sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Hammad, 2010).

Disisi lain, madu hutan diduga memiliki aktivitas antibakteri dan antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan madu hasil budidaya, karena madu hutan diperoleh dari pemanenan madu dengan jenis pekan multiflora madu memiliki komposisi kandungan senyawa kimia yang berbeda-beda berdasarkan sumber pakan nektarnya. Perbedaan tersebut diduga mempengaruhi perbedaan aktivitas madu dalam kehidupan seperti:

#### **a. Sebagai pembunuh**

Madu memiliki kandungan yang sangat lengkap, salah satunya asam amino bebas yang mampu membantu mempercepat proses penyembuhan dari

penyakit. Antibiotik madu mampu mengalahkan bakteri pathogen penyebab penyakit infeksi ( Hammad,2010).

b. Sebagai Antibiotik

Madu bekerja sebagai antibiotik alami dan sanggup bekerja mengalahkan bakteri, karena sifatnya yang asam, madu tidak cocok untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan bakteri dengan menghasilkan hydrogen peroksida, madu merupakan antiseptik alami yang luar biasa. Kekentalan madu yang sedikit mengandung air ini, menghasilkan proses osmosis dengan menyerap air dari bakteri yang menyerang tubuh, seperti spon yang muda menyerap air, kemudian madu mengeringkan bakteri yang sudah diserap airnya akhirnya bakteri sulit tumbuh dan mati (Hammad, 2010).

c. Sebagai bahan kecantikan

Madu memiliki kandungan antioksidan yang tinggi sehingga madu sering digunakan untuk bahan masker dan bahan kecantikan lainnya.

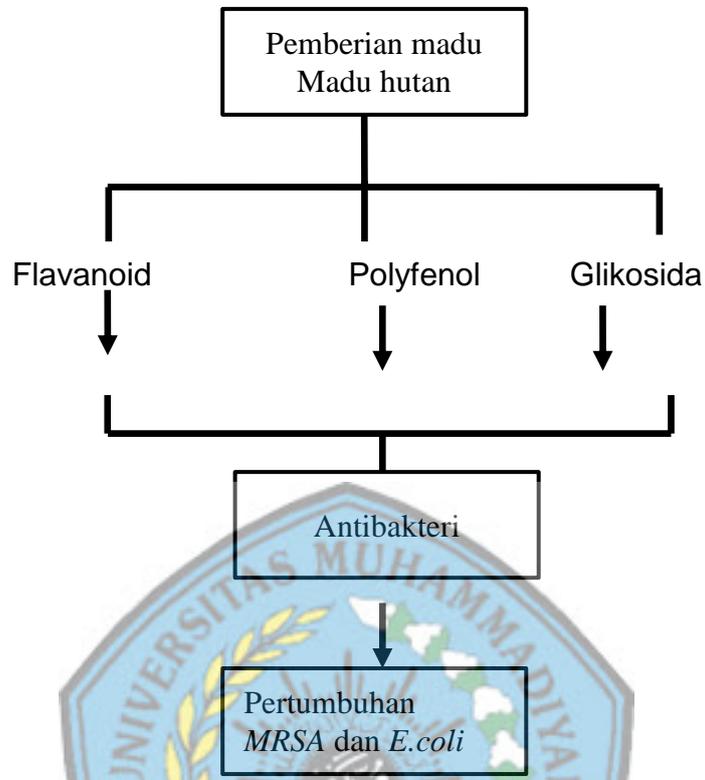
#### 2.3.4 Pengukuran Aktivitas Antimikroba

Pengukuran aktivitas antimikroba dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode pengenceran. Metode difusi merupakan salah satu metode yang sering digunakan, metode difusi dapat dilakukan 3 cara yaitu metode silinder, lubang dan cakram kertas. Metode silinder yaitu metode yang dilakukan dengan cara meletakkan beberapa silinder yang terbuat dari gelas tau besi tahan karat di atas media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri. Tiap silinder ditempatkan sedemikian rupa hingga berdiri di atas media agar, diisi dengan larutan yang akan

diuji dan diinkubasi. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling silinder.

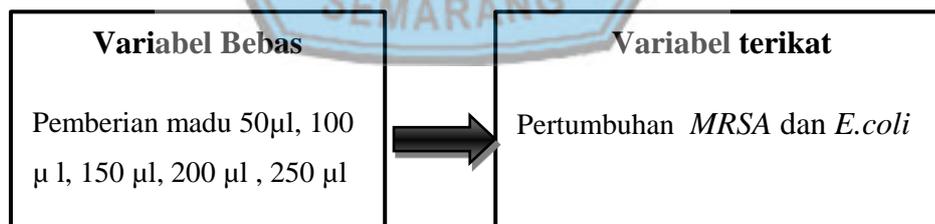
Metode lubang dan sumuran merupakan metode yang dilakukan dengan membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang diisi dengan larutan yang akan diuji. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan disekeliling lubang. Metode cakram kertas merupakan metode yang dilakukan dengan cara meletakkan cakram kertas yang telah direndam dengan larutan uji di atas media padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri dapat diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan disekeliling cakram. Metode pengenceran merupakan metode yang dilakukan dengan mengencerkan zat antimikroba dan dimasukkan ke dalam tabung-tabung reaksi steril. Pada masing-masing tabung ditambahkan sejumlah mikroba uji yang telah diketahui jumlahnya. Pada interval waktu tertentu, dilakukan pemindahan dari tabung reaksi ke dalam tabung-tabung yang berisi media steril, kemudian diinkubasi dan diamati penghambatan pertumbuhan (Kusmiyati dan Agutini, 2006).

## 2.4 Kerangka teori



Gambar 4. Kerangka teori

## 2.5 Kerangka konsep



Gambar 5. Kerangka

## 2.6 Hipotesis

Ada perbedaan rata-rata zona hambat madu hutan terhadap pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* dan *E.coli*.