

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Escherichia coli

##### 2.1.1. Klasifikasi Escherichia coli

*E. coli* adalah flora normal yang berada di dalam usus besar manusia. *E. coli* dapat menjadi patogen sehingga menyebabkan infeksi primer pada usus misalnya diare pada anak dan travelers diarrhea, dan menimbulkan infeksi pada jaringan tubuh lain di luar usus.<sup>12</sup>



Gambar 2.1 *E. coli*.<sup>12</sup>

Kedudukan *E. coli* dalam taksonomi yaitu :

- Kingdom : *Bacteria*
- Subkingdom : *Negibacteria*
- Filum : *Proteobacteria*
- Kelas : *Gammaproteobacteria*
- Ordo : *Enterobacteriales*
- Famili : *Enterobacteriaceae*
- Genus : *Escherichia*
- Spesies : *Escherichia coli*<sup>12</sup>

##### 2.1.2. Morfologi Escherichia Coli

*E. coli* merupakan bagian famili *Enterobacteriaceae*, gram negatif , berbentuk batang pendek (*coccobasil*), ukuran 0,4-0,7  $\mu\text{m}$  x 1,4  $\mu\text{m}$ , beberapa strain memiliki kapsul dan tidak membentuk spora serta bersifat anaerob fakultatif, kebanyakan

bersifat motil (dapat bergerak) dengan menggunakan flagella.<sup>12</sup> *E.coli* memiliki envelope yang berguna untuk mempertahankan bentuk sel. Envelope terdiri dari tiga lapisan yaitu lapisan membran sitoplasma atau membran dalam, peptidoglikan atau murein, dan membran luar sel. Lapisan peptidoglikan terdiri dari jaringan rantai peptida dan glikan sebagai penentu bentuk *E.coli*.<sup>14</sup>

### 2.1.3. Fisiologi Escherichia Coli

*E.coli* dapat hidup dengan atau tanpa oksigen dan dapat tumbuh hampir di semua media. Pada media isolasi sebagian besar strain *E.coli* tumbuh sebagai koloni yang meragi laktosa. Beberapa strain bila ditanam pada agar darah menunjukkan hemolisis tipe beta<sup>12</sup>

### 2.1.4. Antigen Escherichia coli

*E.coli* memiliki struktur antigen yang terdiri dari :

- a. Antigen somatik O (liposakarida)  
Antigen O terdiri dari unit polisakarida yang berulang dimana terdapat pada bagian luar dari lipopolisakarida dinding sel. Antigen O resisten terhadap panas dan alkohol yang dapat terdeteksi oleh aglutinasi bakteri. Antibodi terhadap antigen O adalah IgM. Antigen O *Escherichia coli* ditemukan spesifik pada diare dan infeksi saluran kemih.
- b. Antigen K (kapsular)  
Antigen K terletak di luar antigen O. Antigen K dapat mengganggu aglutinasi dengan antiserum O dan dapat berhubungan dengan virulens misalnya antigen K pada *E.coli* menyebabkan perlekatan bakteri pada sel epitel sebelum invasi ke saluran cerna atau saluran kemih.
- c. Antigen H (flagella)  
Antigen H terdapat di flagella, didenaturasi oleh panas atau alkohol. Pemberian formalin pada varian bakteri yang bergerak dapat mempertahankan antigen ini. Penentu dalam antigen H adalah fungsi sekuens asam amino pada protein flagel.<sup>12</sup>

### 2.1.3. Antibiotika Betalactam, Betalaktamase dan Extended Spectrum Beta

#### Lactamase (ESBL)

Antibiotika *beta-lactam* mempunyai komponen cincin beta-lactam. Antibiotika golongan beta-lactam terdiri dari Penisilin, sefalosporin, monobactam dan carbapenem. Penisilin bekerja dengan menghambat pertumbuhan bakteri dengan mengganggu reaksi transpeptidasi sintesis dinding sel bakteri. Kelompok penisilin antara lain benzilpenisilin (penisilin G), fenoksimetilpenisilin (penisilin V), flukloksasilin, kloksasilin, ampisilin, amoksisilin, amoksisilin/kalium klavulanat, piperasilin, dan tikarsilin. Sefalosporin lebih stabil dari pada penisilin terhadap bakteri  $\beta$ -Laktamase sehingga umumnya mempunyai spektrum aktivitas yang lebih luas. Sefalosporin dapat digolongkan menjadi empat generasi berdasarkan pada spektrum aktivitas antimikrobanya.

- a. Senyawa generasi pertama memiliki aktivitas yang lebih baik terhadap bakteri gram positif. Kelompok ini antara lain sefazolin, sefadroksil, sefaleksin, sefalotin, sefapirin, dan sefradin.
- b. Sefalosporin generasi kedua lebih aktif terhadap bakteri gram negatif. Kelompok ini antara lain sefaklor, sefamandol, sefotetan, sefoksitin, sefprozil, dan sefuroksim, lorakarbef, seforanid. Obat golongan ini memiliki cakupan gram-negatif yang lebih luas dibandingkan dengan obat generasi kedua, dan sebagian mampu menembus sawar darah otak.
- c. Sefalosporin generasi ketiga kurang aktif terhadap bakteri gram positif dibandingkan generasi pertama, tetapi aktif terhadap bakteri gram negatif yang telah resisten, antara lain adalah cefdinir, cefixim, cefotaxim, cefpodoxim, ceftazidim, ceftibuten, ceftisoxim, dan ceftriaxon<sup>10</sup>

Kelompok  $\beta$ -Laktam lainnya adalah monobaktam dan karbapenem. Monobaktam adalah kelompok obat dengan dengan spektrum aktivitas yang terbatas pada bakteri batang gram negative. Tidak seperti antibiotik lainnya, mereka tidak memiliki aktivitas terhadap bakteri gram positif atau anaerob. Obat ini stabil terhadap banyak  $\beta$ -laktamase, kecuali  $\beta$ -laktamase AmpC dan  $\beta$ -laktamase spectrum luas. Karbapenem adalah antibiotik golongan  $\beta$ -lactam yang mempunyai spektrum aktivitas antibakteri yang luas. Karbapenem sangat aktif dalam

pengobatan infeksi enterobakter karena mereka resisten terhadap destruksi oleh  $\beta$ -laktamase yang dihasilkan oleh organisme-organisme ini. Pengalaman klinis menyarankan bahwa karbapenem juga merupakan obat pilihan untuk infeksi akibat bakteri gram negatif penghasil  $\beta$ -laktamase spektrum luas.<sup>10</sup> Carbapenem antara lain imipenem, meropenem, dan ertapenem diterima sebagai pilihan pertama dalam pengobatan kasus infeksi yang disebabkan *Enterocateriaceae* penghasil ESBL karena cukup stabil dari hidrolisis enzim ESBL.<sup>15</sup>

*Beta-laktamase* adalah suatu enzim yang diproduksi oleh beberapa bakteri dimana menghasilkan resistensi terhadap antibiotika beta-lactam dengan cara membuka cincin beta-lactam, menghalangi ikatan penisilin binding protein dan merubah struktur dari obat sehingga sintesis dinding sel berlanjut dan akan menyebabkan obat menjadi tidak aktif. *Extended spectrum beta-lactamase* adalah enzim yang dapat menghidrolisis antibiotika golongan penicillin, sefalosporin generasi satu, dua, dan tiga dan golongan monobactam. ESBL diinhibisi oleh betalactamase inhibitor seperti clavulanate, sulbactam dan tazobactam.<sup>2</sup>

*Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) membagi tes ESBL menjadi 2 tahap yaitu : tes skriningng dan *phenotypic confirmatory test* (tes konfirmasi). Tes skrining bisa menggunakan metode disk difusi sebagai pengujian kerentanan antibiotik lebih dari satu indikator cephalosporin (cefotaxime, ceftriaxone, ceftazidime, cefpodoxime). Kurang sensitifnya sefalosporin menunjukkan hasil yang positif. Tes skrining dengan hasil positif di konfirmasi dengan tes konfirmasi ESBL menggunakan kombinasi disk cephalosporin/clavulanate.<sup>16</sup>

## 2.2. Buah Pare

Buah Pare (*Momordica charantia L.*) adalah tanaman menjalar dengan buah yang memanjang bergerigi dan ujungnya runcing. Pare banyak ditemukan di daerah tropis, tumbuh baik di dataran rendah dan sering tumbuh di tanah liar. Tanaman ini bisa tumbuh subur di tempat-tempat yang rindang merambat dengan sulur berbentuk spiral, banyak bercabang, berbau tidak enak dan mempunyai biji banyak berbentuk pipih memanjang dan berwarna coklat kekuningan keras.<sup>17-19</sup>



Gambar 2.2 Buah Pare<sup>20</sup>

Klasifikasi Tanaman<sup>21</sup>

Regnum	: <i>Plantae</i>
Division	: <i>Spermatophyte</i>
Sub Divisio	: <i>Angiospermae</i>
Class	: <i>Dicotyledonae</i>
Ordo	: <i>Cucurbitales</i>
Family	: <i>Cucurbitaceae</i>
Genus	: <i>Momordica</i>
Spesies	: <i>Momordica charantia lynn</i>

### 2.2.1. Senyawa dan Mekanisme Kerja Antimikroba Buah Pare

Buah pare mengandung senyawa kimia yang memiliki aktivitas yang berbeda beda sebagai bahan antimikroba, di antaranya adalah :

#### 1. Flavonoid

Flavonoid pada buah pare meliputi *quercetin*, *kaempferol*, dan *rutin*. Pada penelitian sebelumnya, flavonoid pada buah pare menunjukkan aktivitas sebagai

antimikroba karena dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* karena terdapat senyawa turunan *kaempferol*, *quercetin*, dan *rutin*. Senyawa turunan tersebut diantaranya, *5-O Feruoylquinic acid*, *Quercetin-3-Oglucoside*, *Kaempferol-O-pentosylhexoside*, *Kaempferol-O-acetylhexoside*, dan *Isorhamnetin-O-acetylhexoside*.<sup>22</sup>

Flavanoid sebagai antimikroba membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler. Kerusakan sel terjadi dengan mekanisme rusaknya fungsi integritas membran sitoplasma sehingga makromolekul dan ion yang mulanya berada dalam sel menjadi keluar yang mengakibatkan sel rusak dan mati. Selain merusak membran sel, flavonoid juga menghambat fungsi dari DNA gyrase pada bakteri maka kemampuan replikasi dan translasi pada bakteri terhambat.<sup>23</sup>

## 2. Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa metabolit sekunder terbanyak yang mempunyai atom nitrogen. Alkaloid banyak bersumber dari tumbuhan, terutama tumbuhan angiosperm. Alkaloid dapat ditemukan pada berbagai bagian tanaman, seperti bunga, biji, daun, ranting, akar dan kulit batang.<sup>11</sup> Kandungan alkaloid buah pare adalah alkaloid momordisin yang menyebabkan rasa pahit pada buah pare. Senyawa tersebut banyak pada bagian buah dan daun tumbuhan pare.<sup>24</sup> Pada biji buah pare juga terkandung glikolalkaloid yang dikenal dengan sebutan visin.<sup>25</sup>

Mekanisme kerja senyawa alkaloid yaitu dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan sel, sehingga sel tidak dapat membentuk lapisan dinding secara utuh dan menyebabkan kematian sel. Mekanisme lainnya sebagai antibakteri yaitu komponen alkaloid diketahui sebagai interkelator DNA dan menghambat enzim topoisomerase sel bakteri.<sup>26</sup>

## 1. Saponin

Buah pare mengandung *Charantin* yang termasuk sebagai senyawa steroidal saponin. *Charantin* memiliki sifat seperti insulin dan dapat digunakan sebagai antibakteri.<sup>27</sup> Zat aktif permukaan yang dimiliki saponin mirip detergen, sehingga

oleh senyawa tersebut dapat terjadi penurunan tegangan permukaan dinding sel dan kerusakan permeabilitas membran. Saponin berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan sehingga mengganggu kestabilan membrane sel, membran sitoplasma bocor dan sitoplasma keluar sel dikarenakan saponin telah mengikat membran sitoplasma sel akhirnya sel mengalami kematian.<sup>26</sup>

#### 4. Polifenol

Polifenol adalah turunan fenol yang bekerja dengan cara denaturasi dan koagulasi protein sel bakteri. Protein-fenol dengan ikatan lemah akan terbentuk kompleks pada konsentrasi rendah, diikuti penetrasi fenol kedalam sel dan menyebabkan denaturasi protein. Pada kadar tinggi membran sel mengalami lisis dikarenakan fenol menyebabkan koagulasi protein sel. Polifenol juga dapat mengubah permeabilitas membran sel yang menimbulkan kebocoran sel sehingga bakteri mengalami kematian.<sup>26</sup>

### 2.3 Ekstraksi dan Metode Ekstraksi

Proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut disebut ekstraksi. Mekanisme proses ekstraksi adalah merusak dinding sel dan membiarkan pelarut merusak dan masuk ke dalam sel, sehingga kontak langsung dengan senyawa yang diekstrak untuk kemudian dengan adanya kedekatan sifat polaritas maka pelarut dapat membawa senyawa tersebut keluar bersama untuk dipisahkan dari jaringan yang menghasilkannya. Melalui proses penggilingan maka semakin banyak sel-sel pada jaringan yang terbuka sehingga meningkatkan penetrasi pelarut masuk ke dalam sel.<sup>28</sup> Metode ekstraksi yang umum digunakan ada bermacam macam seperti, maserasi, perlokasi, dan ekstraksi ultrasonic.

1. Maserasi adalah ekstraksi dengan proses perendaman serbuk simplisa dalam pelarut pada suhu ruang untuk mencegah hidrolisi atau perubahan warna kurang lebih selama 3-10 hari dengan pengocokan pada waktu tertentu sampai senyawa yang dapat larut akan terlarut. Proses ini sangat menguntungkan dalam isolasi bahan alam karena dengan perendaman sampel tumbuhan dinding dan membran sel akan mengalami pemecahan akibat perbedaan tekanan antara didalam dan diluar sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik.<sup>12</sup>

Modifikasi metode maserasi dapat dilakukan sebagai berikut :

a. Modifikasi maserasi melingkar

Maserasi melingkar adalah maserasi yang dilakukan dengan menggunakan cairan penyari yang menyebar dan bergerak sehingga kekeruhan cairan penyari merata.

b. Modifikasi maserasi digesti

Maserasi digesti adalah maserasi dengan menggunakan panas pada suhu 40-50°C. Modifikasi ini hanya dapat dilakukan pada serbuk yang zat memiliki zat aktif yang tahan terhadap pemanasan

c. Modifikasi maserasi melingkar bertingkat.

Maserasi melingkar bertingkat sama seperti maserasi melingkar namun dilengkapi dengan beberapa bejana untuk menampung sehingga tingkat kejenuhan cairan penyari setiap bejana berbeda-beda.

2. Sonikasi adalah ekstraksi yang menggunakan gelombang ultrasonic dengan frekuensi 20kHz sampai 2000kHz. Dengan melibatkan gelombang ultrasonic permeabilitas dinding sel akan meningkat dan lubang dinding sel terbentuk. Kelemahan metode ini adalah kemungkinan bahan aktif rusak dikarenakan paparan energy ultrasonic melebihi 20kHz.
3. Perkolasi adalah prosedur yang sering digunakan untuk mengekstraksi bahan aktif untuk ekstrak cair dan preparat tinktur. Pertama-tama bahan dibasahi dengan menggunakan pelarut lalu dimasukkan dalam percolator, kemudian diberikan pelarut yang membentuk lapisan dangkal diatas massa bahan. Campuran tersebut selanjutnya di tutup dan didiamkan kurang lebih 24 jam. Setelah didiamkan kran di bawah perlokator dibuka sedikit agar cairan yang terdapat pada perlokator menetes perlahan.<sup>29</sup>

#### 2.4 Metode Pengujian Antibakteri

Daya senyawa antibakteri dapat ditentukan aktivitasnya sebagai antibakteri dengan diukur secara invitro<sup>12</sup>. Penentuan kepekaan bakteri terhadap antibakteri pada dasarnya melalui 2 cara yaitu metode dilusi dan difusi. Metode dilusi terdiri dari metode dilusi cair dan dilusi padat sedangkan metode difusi terdiri dari metode

cup-plate technique atau well diffusion, disk diffusion (tes *Kirby Bauer*), E-test, dan ditch-plate technique.<sup>30</sup>

#### 1. Metode Dilusi

Metode dilusi adalah metode untuk menentukan Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) dari suatu antibiotik. Hasil KHM akan menunjukkan konsentrasi terendah jika tabung yang diamati adalah tabung dengan kejernihan paling baik (indikator tidak terdapat pertumbuhan bakteri) lalu hasil biakan tabung yang jernih diinokulasikan pada media agar. Kemudian, media agar tersebut diinkubasi. Hasil KBM adalah ada tidaknya koloni bakteri yang tumbuh pada media agar yang telah diinkubasi.<sup>30</sup>

#### 2. Metode Difusi

Pada metode ini yang diamati adalah diameter daerah hambatan pertumbuhan bakteri karena difusinya obat pada titik awal pemberian ke daerah difusi.<sup>24</sup>

Metode difusi dibagi menjadi beberapa cara :

##### a. Cup-plate technique / Agar well diffusion

Agar well diffusion (sumuran) banyak digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antimikroba dari tanaman. Caranya dengan permukaan cawan petri diinokulasikan dengan media Muller-Hinton Agar (MHA) yang telah dicampur dengan mikroba uji. Kemudian sebuah lubang dengan diameter 6 hingga 8 mm ambil secara aseptik dengan borer steril, dan volume zat antimikroba atau solusio ekstrak pada konsentrasi yang diinginkan dimasukkan ke dalam lubang sebanyak 20-100  $\mu$ L. Kemudian, cawan petri diinkubasi dalam kondisi yang sesuai masing - masing organisme. Agen antimikroba yang diuji akan berdifusi kedalam agar dan menginhibisi pertumbuhan dari mikroba uji.<sup>11</sup>

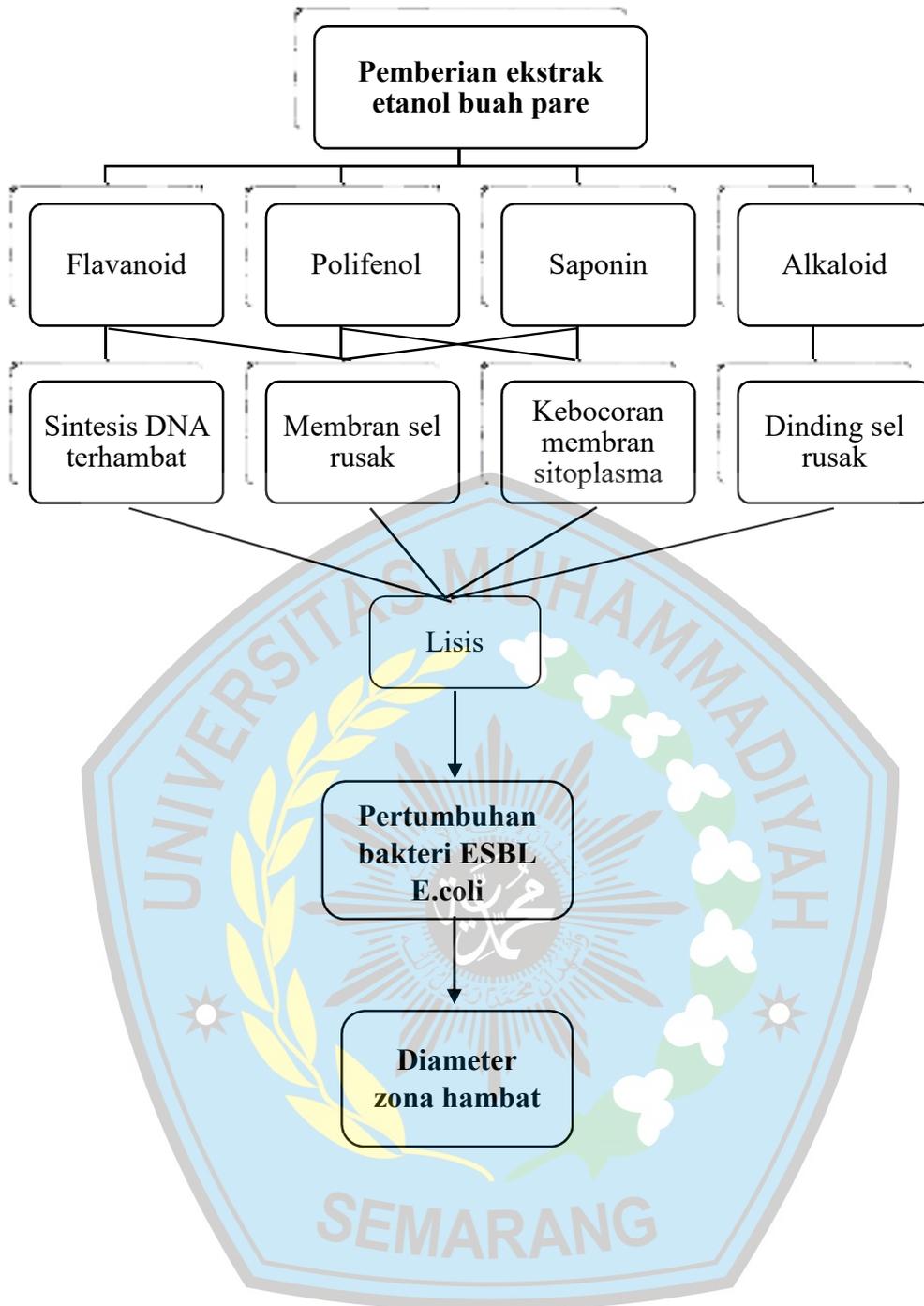
##### b. Metode disk diffusion (tes Kirby dan Bauer)

Metode ini menggunakan cakram kertas yang berisi agen antibiotik, kemudian diletakkan pada media agar yang sebelumnya telah ditanami bakteri dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam, sehingga agen antibakteri dapat berdifusi pada media agar tersebut. Lalu amati zona hambatnya (area jernih) dengan mengukur besarnya diameter daya hambat

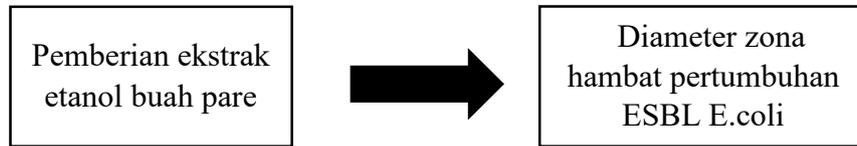
yang terbentuk di sekitar cakram kertas antibiotik tersebut. Semakin besar diameter hambat yang terbentuk, semakin besar pula sensitifitas antibiotiknya.<sup>30</sup>



## 2.5 Kerangka Teori



## 2.6 Kerangka Konsep



## 2.7 Hipotesis

Terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol buah pare terhadap pertumbuhan bakteri *Extended Spectrum Betalactamase (ESBL) Escherichia coli*.

