BABII

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Bakteri Escherichia coli

a. Taksonomi

Menurut Jawetz, dkk. (2007), klasifikasi taksonomi dari bakteri Escherichia coli adalah:

Kingdom : Prokaryotae

Divisi : Gracilicutes

Kelas : Scotobacteria

Ordo : Enterobacteriales

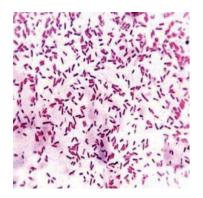
Famili : Enterobacteriaceae

Genus : Escherichia

Spesies : Escherichia coli

b. Morfologi dan Kultur

Morfologi bakteri *Escherichia coli* dapat diidentifikasi melalui pewarnaan Gram. *E.coli* termasuk ke dalam jenis bakteri gram negatif yang berbentuk batang atau basil, dengan diameter 0,7 µm dan lebar 0,4 hingga 0,7 µm. Bakteri ini memiliki struktur flagela dan beberapa kapsul (Brooks, dkk., 2007). Morfologi sel bakteri *E. coli* ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Bakteri *E.coli* pada Pewarnaan Gram Sumber: Sallam, dkk., 2023.

Pada media kultur, *E. coli* tumbuh dengan baik pada media MacConkey dan Nutrient Agar (NA). Pada media MacConkey, koloni *E. coli* berbentuk bulat dan cembung, halus dengan tepian rata. Sementara itu, koloni bakteri *E.coli* pada media NA cenderung lebih besar dan cembung (Cruickshank, dkk., 1970). Sifat biokimia bakteri ini terletak pada kemampuan mereduksi nitrat menjadi nitrit dan juga memfermentasi glukosa dan laktosa (Johnson, dkk., 2011). Bakteri ini bersifat anaerob fakultatif, yaitu mampu tumbuh pada kondisi tanpa dan adanya oksigen (Brooks, dkk., 2007; Staf Pengajar Mikrobiologi FKUI, 1994).

c. Struktur Antigen

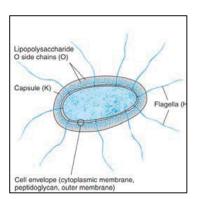
Terdapat tiga struktur antigen yang dimiliki oleh bakteri *E.coli*, yaitu strain antigen O (somatik), strain antigen H (flagela) dan strain antigen K (kapsular) (Jawetz, dkk, 2007).

Antigen O merupakan bagian terluar dinding sel yang mengandung polisakarida. Antigen ini bersifat tahan alkohol dan

tahan panas. Adapun metode deteksi antigen O dilakukan dengan cara aglutinasi (Jawetz, dkk, 2007).

Antigen H merupakan antigen yang terletak pada flagela bakteri. Antigen ini berperan dalam pembentukan protein flagela melalui pengurutan asam amino. Oleh karena itu, antigen ini mudah didenaturasi dengan alkohol dan pemanasan (Brooks, dkk., 2007).

Antigen K merupakan antigen yang terletak di bagian kapsular bakteri. Kandungan antigen K pada bakteri *E. coli* adalah polisakarida. Pada penyakit diare, antigen K berperan dalam proses virulensi dengan menempel ke sel epitel sebelum invansi gastrointestinal (Brooks, dkk., 2007). Struktur antigen *Escherichia coli* ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur Antigen *Escherichia coli* Sumber: (Brooks, dkk., 2007).

d. Patogenesis

Bakteri *E. coli* merupakan bagian dari flora normal di usus manusia. Namun, bakteri ini dapat berubah menjadi patogen apabila terjadi peningkatan jumlah yang signifikan dan mencapai jaringan di luar usus (Brooks, dkk., 2007). Bakteri *E. coli* menghasilkan zat toksin

yang dapat menyebabkan diare. Menurut Tim Mikrobiologi Unibra (2013), terdapat lima galur *E. coli* yang dibedakan berdasarkan sifat virulensinya.

1) E. coli enteropatogen (EPEC)

Galur *E. coli* enteropatogen dikenal sebagai penyebab utama diare kronik pada bayi. Antigen yang mengakibatkan diare EPEC adalah strain O dan seringkali H (Brooks, dkk., 2007). Patogenesis diare EPEC diawali dengan melekatnya bakteri pada sel mukosa usus kemudian terjadi pengikisan permukaan hingga terbentuk lesi. Akibatnya terjadi diare cair yang dapat disembuhkan dengan antibiotik (Jawetz, dkk, 2007).

2) E. coli enterotoksigenik (ETEC)

E. coli enterotoksigenik menjadi penyebab utama di negaranegara berkembang dan seringkali menginfeksi para wisatawan. Infeksi ETEC mengakibatkan terjadinya jaringan parut dan perlengketan pada usus (Jawetz, dkk, 2007). Selain itu, E. coli enterotoksigenik menghasilkan eksotoksin yang bersifat tahan panas dan tidak tahan panas (Tim Mikrobiologi Unibra, 2013). Eksotoksin yang bersifat tahan panas mengakibatkan diare encer dan kram abdomen, sehingga membutuhkan pengobatan. Sementara eksotoksin yang bersifat tidak tahan panas mengakibatkan diare yang terjadi selama beberapa hari (Brooks et al., 2007).

3) E. coli enterohemoragik (EHEC)

Galur EHEC memproduksi verotoksin yang dapat menyebabkan diare, kolitis hemoragik dan HUS. Kolitis hemoragik ditandai dengan diare cair yang disertai darah, sedangkan HUS ditandai dengan kegagalan ginjal akut, anemia hemolitik dan trombositopenia (Brooks, dkk., 2007). Kelompok EHEC banyak menyerang anak-anak

4) *E coli* enteroinvasive (EIEC)

Galur *E coli* enteroinvasive dapat menyebabkan penyakit yang klinisnya menyerupai shigellosis. Infeksi ini umumnya paling sering ditemukan pada anak-anak dan wisatawan. Pola infeksi dari EIEC adalah menyerang sel epitel mukosa intestinal sehingga menimbulkan diare (Tim Mikrobiologi Unibra, 2013).

5) E coli enteroaggregative (EAEC)

Galur ini merupakan penyebab utama diare akut maupun kronis, terutama di negara berkembang. Ciri khas infeksi oleh galur ini adalah kemampuannya menempel secara kuat pada mukosa usus, yang kemudian menghasilkan enterotoksin dan sitotoksin. Produksi toksin menyebabkan keruskan pada membran mukosa dan memicu terjadinya diare. (Brooks, dkk., 2007)

2. Antibiotik

Antibiotik adalah senyawa organik yang bekerja dengan cara menghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri tertentu. Penggunaan antibiotik ditujukan untuk menekan pertumbuhan bakteri yang dapat merugikan bagi manusia. efektivitas antibiotik ini didasarkan pada sifat toksisitas selektif yang tinggi sehingga dapat bersifat toksin bagi bakteri, namun tetap aman bagi sel hospes (Tim Mikrobiologi Unibra, 2013).

Secara umum, suatu obat digolongkan ke dalam antibiotik apabila memenuhi karakteristik tertentu. Menurut Tim Mikrobiologi Unibra (2013), berikut ini karakteristik dari antibiotik:

- a. Kemampuan untuk menghambat atau membunuh mikroorganisme patogen tanpa memberikan efek samping yang buruk bagi penderita
- b. Tidak menimbulkan resistensi pada patogen target
- c. Berspektrum luas
- d. Bersifat stabil di dalam plasma dan cairan tubuh
- e. Konsentrasi bakterisidal tetap stabil di dalam tubuh dalam jangka waktu yang lama

Menurut Tim Mikrobiologi Unibra (2013) dan Brooks. dkk. (1995), setiap antibiotik memiliki struktur kimia dan mekanisme kerja yang berbeda-beda. Terdapat empat mekanisme antibiotik dalam menghambat pertumbuhan bakteri, yaitu:

a. Penghambatan pembentukan dinding sel

Dinding sel bakteri berfungsi sebagai lapisan pelindung luar yang menjaga integritas sel dengan mencegah kerusakan akibat tekanan osmotik yang berbeda antara intra sel dan ekstra sel. Dinding sel juga berperan dalam mempertahankan bentuk mikroorganisme. Dinding sel tersusun dari komponen kimia, yaitu peptidoglikan yang merupakan gabungan antara polisakarida dan rantai polipeptida yang tinggi. Dinding sel yang mengalami kerusakan atau penghambatan pembentukannya dapat berakibat pada lisisnya sel. Sehingga bentuk dari bakteri menjadi tidak beraturan. Hal ini dapat terjadi apabila sel berada pada kondisi larutan yang hipertonik.

Mekanisme kerja antibiotik yang menghambat dinding sel melibatkan interaksi dengan satu atau lebih enzim. Sehingga terbentuk dinding sel yang lemah sampai terjadi pemecahan osmotik. Oleh karena itu, banyak ditemukan bakteri dengan bentuk tidak beraturan pada spesimen pasien yang diobati dengan antibiotik ini. Kelompok antibiotik yang bekerja dengan mekanisme menghambat pembentukan dinding sel bakteri adalah golongan β-lactam, seperti penisilin, sefalosporin, vankomisin dan sikloserin.

b. Penghambatan terhadap fungsi membran sel

Sitoplasma memiliki peran penting dalam menjaga selektivitas membrane, mengatur proses transport aktif serta mengontrol keseimbangan dan komposisi zat dalam sel. Antibiotik yang bekerja dengan menghambat fungsi membran sel akan merusak sitoplasma mengakibatkan keluarnya makromolekul, rusaknya sel kemudian terjadi kematian sel. Beberapa antibiotik yang bekerja dengan menghambat fungsi membrane sel adalah amfoterisin B, kolistin, imidazol dan triazol.

c. Penghambatan terhadap sintesis protein

Bakteri membutuhkan sejumlah bahan baku, seperti RNA, asam amino dan nukleotida trifosida untuk proses sintesis protein. Sintesis protein meliputi proses transkripsi dan translasi sampai terbentuknya protein. Prinsip kerja antibiotik seperti eritromisin, linkomisin, tetrasiklin, aminoglikosida, dan kloramfenikol adalah dengan menghambat translasi atau menghambat sintesis protein dengan mencegah pengikatan RNA pada tempat spesifik di ribosom (Hauser, 2020; Pelczar, dkk., 1986).

d. Penghambatan terhadap pembentukan asam nukleat

Sintesis DNA dan RNA dalam replikasi bakteri menggunakan beberapa jalur sintesis seperti deoksiadenosin trifosfat (dATP), deoksiguanin trifosfat (GTP), deoksisistidin trifosfat (dCTP) dan deoksitimidin trifosfat (dTTP). Antibiotik yang menargetkan DNA akan menghambat sintesis nukleotida, replikasi sampai menghentikan transkripsi. Beberapa antibiotik golongan ini adalah quinolon, pirimetamin, rifampisin, sulfonamida dan trimetoprim.

3. Kloramfenikol

Kloramfenikol adalah antibiotik dengan spektrum kerja yang luas dan mampu menghambat pertumbuhan bebrbagai jenis bekteri, termasuk bakteri gram positif, gram negatif serta bakteri anaerob. Antibiotik kloramfenikol pertama kali diisolasi dari bakteri *Streptomyces venezuelae* dan sekarang diproduksi secara sintetis. Kloramfenikol biasa disingkat CAP dan memiliki rumus molekul C₁₁H₁₂Cl₁₂N₂O₅ (Tim Mikrobiologi Unibra, 2013; Singhal, dkk., 2020). Struktur kimia kloramfenikol ditunjukkan pada Gambar 3.

Gambar 3. Struktur Kimia Kloramfenikol Sumber: Chloramphenicol | C11H12Cl2N2O5 | CID 5959 - PubChem

Mekanisme kerja antibiotik kloramfenikol melibatkan penghambatan sintesis protein bakteri. Antibiotik kloramfenikol akan berikatan dengan subunit ribosom 50S, sehingga mencegah pembentukan ikatan peptida antara asam amino yang sedang disintesis (Singhal, 2020).

Kloramfenikol dimetabolisme didalam tubuh menjadi bentuk aktif yang mudah diserap oleh dinding sel saluran pencernaan. Setelah penyerapan, kloramfenikol didistribusikan ke seluruh jaringan dan cairan tubuh. Sebanyak 90% senyawa dari kloramfenikol diubah menjadi bentuk

tidak aktif melalui dua proses yaitu konjugasi dengan asam glukoronat di hati atau direduksi menjadi arilamin (Brooks, dkk, 1995).

4. Media Muller Hinton Agar (MHA)

Muller Hinton Agar (MHA) merupakan media yang digunakan dalam prosedur uji sensitivitas dan direkomendasikan oleh *Clinical and Laboratory Standars Institute* (CLSI, 2020). Media MHA menyediakan kandungan nutrisi yang optimal untuk mendukung pertumbuhan bakteri aerob dan fakultatif anaerob (Rahman, dkk., 2022). Komposisi dari media MHA ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Komposisi Media MHA

Bahan	Jumlah	
Ekstrak daging	2,0 g/L	
Hidrolisat asam kasein	17,5g/L	
Pati	1,5g/L	
Agar	17,0g/L	
pH akhir media MHA	7.3 ± 0.1 pada suhu 25° C	

Sumber: Cappucino dan Sherman, 2009; Atmojo, 2016.

Ekstrak daging dan hidrolisat asam kasein dalam media menyediakan berbagai nutrisi seperti nitrogen, vitamin, karbon dan asam amino yang diperlukan untuk mendukung pertumbuhan optimal bakteri. Sementara itu, agar berfungsi sebagai pemadat dan pati untuk menyerap zat toksin pada media yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri (The European Committee, 2022).



Gambar 4. Media Muller Hinton Agar Sumber: The European Committee, 2022

5. Uji Sensitivitas Bakteri

Uji sensitivitas bakteri merupakan prosedur laboratorium yang bertujuan untuk menentukan tingkat kepekaan bakteri terhadap suatu antibiotik (Cappucino dan Sherman, 2009). Tujuan lainnya dari uji sensitivitas adalah untuk mengetahui potensi antibiotik dan konsentrasinya di dalam tubuh (Brooks, dkk, 1995). Metode pemeriksaan sensitivitas antibiotik dibagi menjadi dua, yaitu:

a. Metode dilusi

Metode dilusi dalam uji sensitivitas digunakan untuk mengidentifikasi kadar hambat minimal (KHM) dengan cara memperkirakan konsentrasi antimikroba yang diuji melalui penggunaan media cair maupun media padat sebagai media uji. Metode dilusi cair dan padat dapat menentukan aktivitas antimikroba secara kuantitatif. Konsentrasi terendah antimikroba dinyatakan dalam satuan µg/ml atau mg/L (Pfaller, dkk., 2004).

1) Dilusi media cair

Metode dilusi cair dilakukan pada media cair dengan melakukan pengenceran serial antibiotik, misalnya 1, 2, 4, 8, 16 dan 32 µg/ml. Metode dilusi dapat menggunakan tube dengan

volume akhir 2 ml (makrodilusi) atau dapat menggunakan mikroplate dengan 96 lubang. Setiap tube atau lubang mikroplate diinokulasi dengan suspensi bakteri yang kekeruhannya telah disesuaikan dengan standar McFarland (Balouiri, dkk., 2016). Kemudian, dilakukan inkubasi selama 18 hingga 24 jam pada suhu 37°C dan diamati untuk melihat adanya kekeruhan pada tabung. Tabung yang mulai menunjukkan kejernihan manandakan konsentrasi terendah antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri atau disebut juga dengan kadar hambat minimum (KHM) (Tim Mikrobiologi Unibra, 2013).

2) Dilusi media padat

Uji sensitivitas antibiotik melalui metode dilusi padat dilakukan dengan menanamkan menginokulasikan larutan yang mulai tampak jernih pada tabung pengenceran (KHM) ke dalam media agar padat. Setelah proses inkubasi apabila tidak ditemukan pertumbuhan koloni pada media padat, maka kondisi tersebut merupakan konsentrasi terendah antibiotik yang mampu membunuh bakteri atau disebut juga dengan kadar bunuh minimum (KBM) (Tim Mikrobiologi Unibra, 2013).

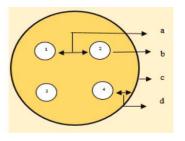
b. Metode difusi

Metode difusi merupakan salah satu metode yang umum digunakan untuk mengetahui tingkat aktivitas suatu antibiotik. Prinsip kerja dari metode difusi ini terletak pada kemampuan senyawa antibiotik untuk berdifusi ke dalam media agar yang sebelumnya telah ditanami bakteri uji (CLSI, 2015). Proses difusi ini menghasilkan zona bening yang terbentuk akibat penghambatan pertumbuhan bakteri oleh antibiotik pada media MHA (Rahmawati, 2020). Menurut Vandepitte (2018) dan Kuswiyanto (2016), media MHA dibuat dengan ketebalan 4 mm atau dengan volume 20-25 ml (Martiningsih, dkk, 2024). Adapun metode difusi terdiri dari dua teknik, yaitu:

1) Teknik cakram (kirby-bauer)

Metode difusi cakram *kirby-bauer* merupakan metode yang telah dibakukan dan akurat (Hombach, dkk., 2013). Menurut Prasetia, dkk. (2014), teknik cakram direkomendasikan untuk keperluan klinis karena memiliki keunggulan dalam hal prosedur yang sederhana dan tingkat ketelitian yang memadai. Adapun prinsip dari teknik cakram yaitu suspensi bakteri dengan kekeruhan 10⁸ CFU/ml dioleskan pada media MHA, kemudian di bagian atas media diletakkan cakram antibiotik dengan jarak tertentu. Cakram antibiotik ditekan perlahan sehingga terjadi kontak langsung antara bakteri dengan antibiotik (Cappucino dan Sherman, 2009). Langkah selanjutnya dilakukan inkubasi selama 16 hingga 24 jam pada suhu 35-37°C. setelah periode inkubasi, diamati dan diukur zona jernih di sekitar area cakram (Brooks, dkk., 2007; Tim Mikrobiologi Unibra, 2013). Menurut Jorgensen

dan Ferraro (2009), zona jernih yang terbentuk berkaitan dengan kemampuan laju difusi antibiotik melalui media agar dan obat. Hasil pengukuran kemudian dianalisis berdasarkan pedoman dari *Clinical and Laboratory Standars Institute* (CLSI) (Nurul, dkk., 2023).

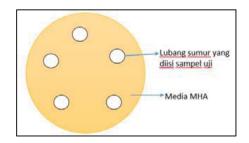


Gambar 5. Metode Difusi Cakram Sumber: Ayen, dkk., 2017.

2) Teknik sumuran (well difussion)

Metode difusi sumuran merupakan salah satu teknik untuk menilai potensi antimikroba yang dimiliki oleh senyawa aktif dari tumbuhan atau ekstrak. Prinsipnya adalah pembuatan sumuran pada media yang telah ditanami bakteri menggunakan alat cork borer berdiameter 6-8 mm. Setelah itu, tiap sumuran diisi dengan antibiotik yang diuji sebanyak 20-100 µl. Plate agar diinkubasi pada suhu 37°C selama 16-24 jam (Balouiri, dkk., 2016; Singh, dkk., 2019). Kemudian dilakukan pengukuran zona jernih yang terbentuk di sekitar sumuran (Rahmawati, 2020). Metode difusi sumuran pada media padat dapat dimanfaatkan mengidentifikasi konsentrasi terendah dari senyawa antimikroba

yang masih mampu menghambat pertumbuhaan bakteri (KHM) (Bubonja-šonje, dkk., 2020).



Gambar 6. Metode Difusi Sumuran Sumber: Anliza & Rachmawati, 2022

6. Kelebihan dan Kekurangan Metode Uji Sensitivitas

Adapun kelebihan dan kekurangan dari metode dilusi dan difusi ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Kelebihan dan Kekurangan Metode Dilusi dan Difusi

Kelebihan		Kekurangan	
Metode dilusi	Metode difusi	Metode dilusi	Metode difusi
Mengukur	Pengerjaannya	Pengenceran	Penentuan
resistensi	sederhana	dilakukan serial,	sensitivitas dan
secara		sehingga daya	resistensi
kuantitatif		hambat bakteri	antibiotik
		hanya dapat	secara kualitatif
		diketahui pada	
		konsentrasi	
		tertentu	
Interaksi antara	Tidak	Pengerjaannya	Ketebalan
bahan uji dan	memerlukan	yang rumit dan	media
bakteri lebih	waktu yang	membutuhkan	mempengaruhi
maksimal	lama	waktu yang	diameter zona
		lama	hambat

Sumber: Soleha, 2015; Sulistiyowati dan Siswati, 2011.

Metode difusi terdiri dari teknik cakram dan sumuran. Penggunaan kedua teknik tersebut dalam uji sensitivitas didasarkan pada kelebihan dan kekurangan masing-masing teknik. Kelebihan dan kekurangan teknik cakram dan sumuran ditunjukkan pada Tabel 4.

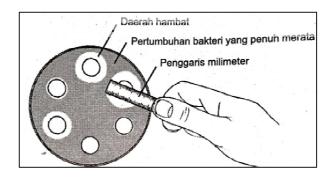
Tabel 4. Kelebihan dan Kekurangan Teknik Cakram dan Sumuran

Kelebihan		Kekurangan	
Cakram	Sumuran	Cakram	Sumuran
Proses	Dapat	Adanya endapan	Adanya sisa
pengujiannya	digunakan	kertas dapat	agar dapat
cepat	untuk sampel	mengganggu	mengganggu
	cair seperti	proses difusi	pengujian
	ekstrak		
	tumbuhan		
Prosedurnya	Kemudahan	Sulit	Membutuhkan
yang mudah	dalam	diaplikasikan	alat yang
	mengukur	pada	banyak
	diameter zona	mikroorganisme	
	hambat karena	yang fastidious	
	antibiotik		
	mencapai ke		
m: 1 1	dasar media	D' .	D' '1
Tidak	Tidak	Diameter zona	Risiko
memerlukan	membutuhkan	hambat	kontaminasi
keahlian khusus	alat-alat yang	dipengaruhi oleh	
	khusus	inkubasi,	
		inokulum dan	
		ketebalan media.	

Sumber: Balouiri, dkk., 2016; Nurhayati, dkk., 2020; Sarosa, dkk., 2018; Prayoga, 2013.

7. Pembacaan Hasil Pengujian

Terbentuknya zona jernih di sekitar area aplikasi antibiotik mengindikasikan adanya aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri. Diameter zona jernih atau zona hambat tersebut kemudian diukur menggunakan jangka sorong dalam satuan milimeter (Cappucino dan Sherman, 2009). Pengukuran diameter zona hambat ditunjukkan pada Gambar 7.



Gambar 7. Pengukuran Diameter Zona Hambat Sumber: Cappucino dan Sherman, 2009.

Hasil pengukuran yang diperoleh kemudian dicocokkan dengan tabel dari *Clinical and Laboratory Standarts Institute* yang ditunjukkan pada Tabel 5. Hal ini bertujuan untuk menentukan antibiotik tersebut termasuk ke dalam kategori sensitif, intermediate atau resisten.

Tabel 5. Kategori Zona Hambat

Diameter zona hambat	Kategori zona hambat	
≥ 20 mm	Sensitif	
15-19 mm	Intermediate	
≤ 14 mm	Resisten	
. 1		

Sumber: CLSI, 2020

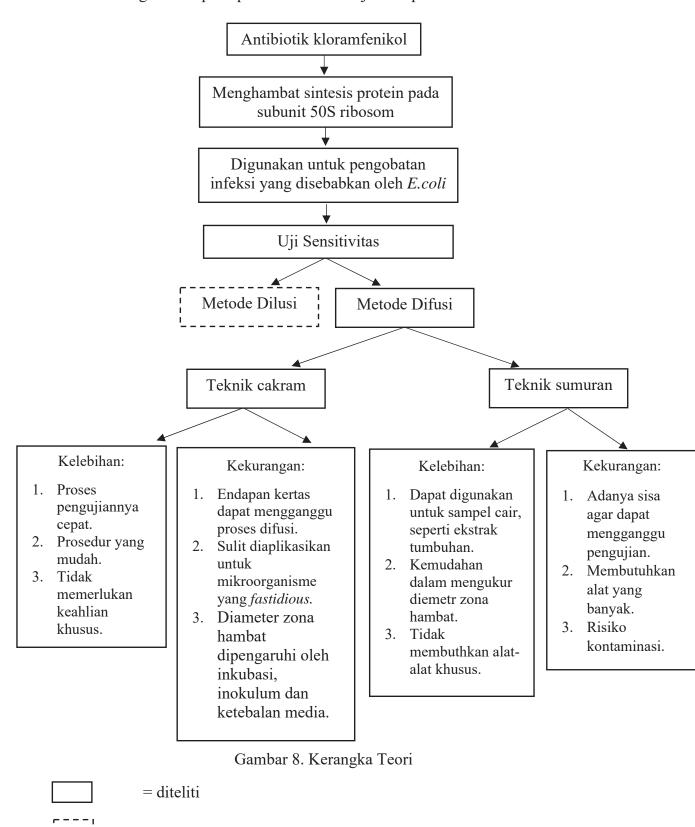
Menurut Cappucino dan Sherman (2009), terdapat sejumlah faktor yang mempengaruhi hasil uji sensitivitas suatu bakteri terhadap antibiotik, diantaranya yaitu:

- a. Kecepatan difusi antibiotik ke dalam media
- b. Interaksi antibiotik dengan bakteri uji
- c. Jumlah bakteri yang diinokulasi pada media
- d. Kecepatan pertumbuhan bakteri
- e. Derajat sensitivitas bakteri uji terhadap antibiotik

B. Kerangka Teori

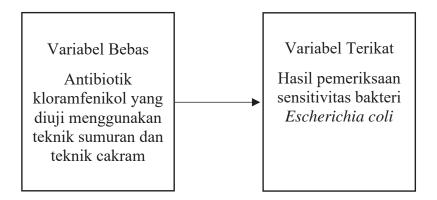
= tidak diteliti

Kerangka teori pada penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 8.



C. Hubungan Antar Variabel

Hubungan antar variabel pada penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 9.



Gambar 9. Hubungan Antar Variabel

D. Hipotesis

Teknik cakram (*kirby bauer*) menghasilkan zona hambat yang lebih besar dibandingkan teknik sumuran pada pemeriksaan sensitivitas bakteri *Escherichia coli* terhadap antibiotik kloramfenikol.