

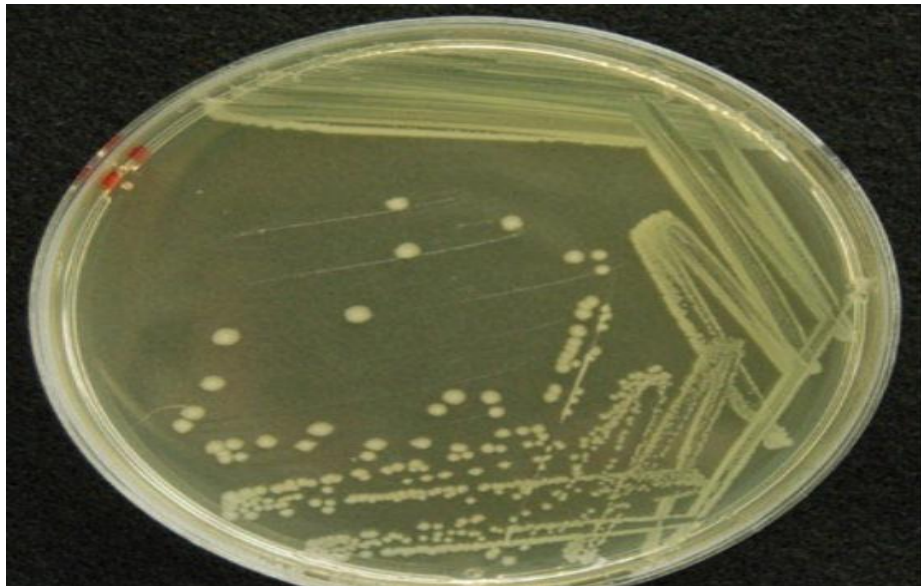
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan salah satu flora normal saluran pencernaan manusia yang sering mengkontaminasi makanan (Januartha, 2012). Berbagai antibiotik seperti Tetrasiklin, Ampisilin, dan Amoksisilin telah banyak dipakai dalam mengobati pasien yang terinfeksi oleh *Escherichia coli* (Pathak, *et al.*, 2011). Penggunaan antibiotik dalam waktu panjang akan berpengaruh negatif pada pasien dan memacu kemunculan sifat resisten pada bakteri patogen tertentu (Noviana, 2004; Shakya, *et al.*, 2013).



Gambar 1 Makroskopik *Escherichia coli*
(Kunkel, 2009).

Klasifikasi *Escherichia coli* adalah sebagai berikut:

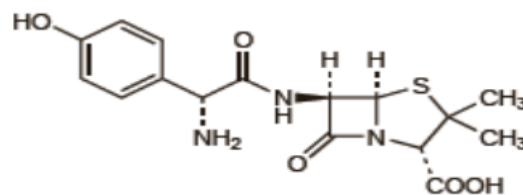
Kingdom : Procaryotae
Divisi : Gracilicutes
Class : Scotobacteria
Ordo : Eubacterialis
Familia : Euterobactericea
Genus : Escherichia
Spesies : *Escherichia coli* (Jawetz, 2005).

Escherichia coli adalah bakteri gram negatif berbentuk batang pendek dan bersifat anaerob fakultatif. *Escherichia coli* merupakan flora normal yang terdapat dalam usus dan dapat menyebabkan penyakit serta bersifat patogen (Pratiwi, 2008). Penyakit infeksi yang disebabkan karena *Escherichia coli* seperti infeksi sistem saluran kemih dan diare (Jawetz *et al.*, 2005). Timbulnya berbagai penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri mendorong untuk terus dilakukannya penelitian baru yang mampu menghasilkan antibiotik baru serta memiliki efikasi yang optimal untuk mengobati penyakit infeksi (Waluyo, 2009).

2. Amoksisilin

Amoksisilin adalah antibiotik jenis β -laktam salah satunya golongan penisilin yang bekerja dalam menghambat sintesis dinding sel bakteri dan dapat menangani penyakit infeksi (Irianto, 2013). Amoksisilin memiliki sifat tahan asam karena ada gugus penarik elektron, O, atau N pada posisi C α sehingga mencegah penataulangan menjadi asam amilat yang terjadi pada suasana asam. Amoksisilin juga mempunyai spektrum yang luas karena ada gugus hidrofil, seperti NH₂. Amoksisilin lebih efektif dibandingkan Penisilin pada absorpsi obat dalam saluran cerna yaitu 80%-90%, sehingga memiliki efek pada saluran seni dan kadar darah dalam plasma lebih tinggi.

Amoksisilin adalah salah satu turunan Penisilin yang mempunyai beberapa kelebihan, antara lain aktivitasnya yang baik terhadap bakteri gram positif dan beberapa gram negatif. Serta stabilitasnya terhadap asam lambung. Aktivitas antibakteri Amoksisilin sangat terbatas pada beberapa bakteri gram negatif, seperti *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella* dan *Proteus mirabilis* terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia*, *Providentia* dan *Citrobacter*. Mekanisme kerja antibiotik betalaktam seperti Amoksisilin terhadap bakteri terletak dari aktivitas cincin betalaktam, dengan cara menghambat sintesa dinding sel bakteri, atau bersifat bakterisid pada mikroorganisme yang aktif membelah (Kaur *et al.*, 2011).

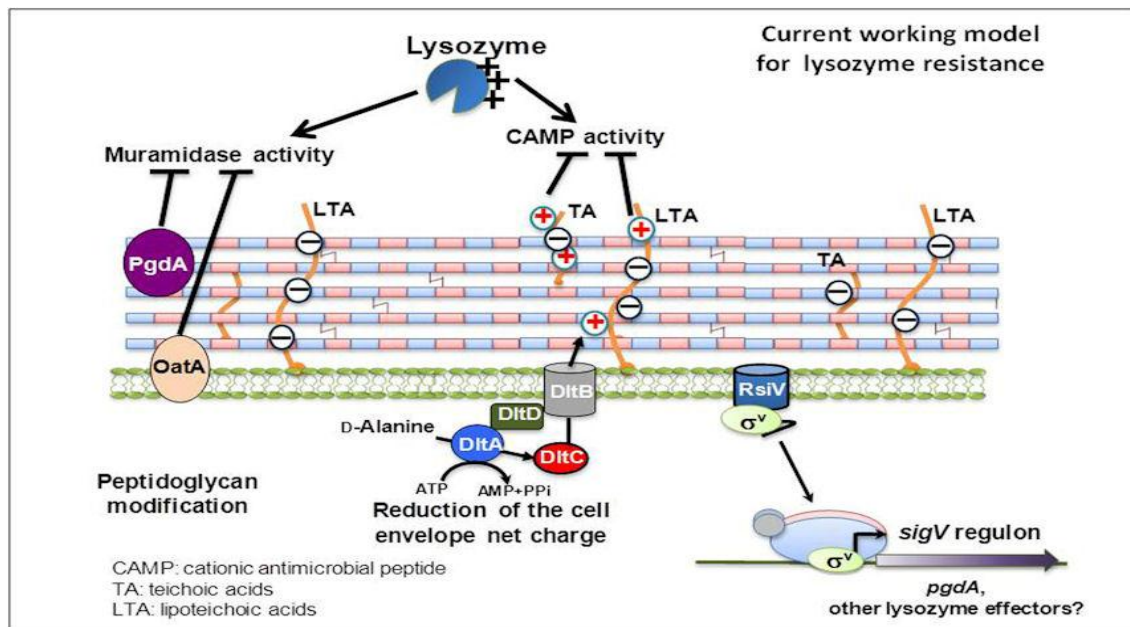


Gambar 2 Struktur Kimia Amoksisilin
(Nanda,*et al.*, 2011).

3. Lisozim

Lisozim atau nasetil neuramide glikan hidrolase adalah enzim penghidrolisis yang dapat membunuh kuman tertentu. Enzim ini umumnya ditemukan dalam cairan hidung, air liur, air mata, sel darah putih, selaput lendir lambung dan putih telur. Lisozim merupakan suatu protein dengan berat molekul 14.600, yang terdiri atas 129 asam amino menyerupai rantai polipeptida tunggal, dengan empat ikatan silang. Pemanfaatan lisozim agar dapat bekerja dengan efektif pada bakteri gram negatif, maka lisozim ditumbuhkan dengan bahan perusak membran seperti detergen dan *chelator* (Melani, *et al.*, 2013). Lisozim adalah suatu senyawa yang mengandung antibiotik yang dapat menghancurkan beberapa bakteri. Fungsi lisozim adalah untuk melisiskan sel bakteri sebagai pertahanan konstitutif melawan bakteri patogen. Beberapa bakteri gram

negatif sangat sensitif terhadap lisozim meskipun dalam konsentrasi yang sangat rendah. Sekresi lakrimal (air mata) dengan pengenceran 1:40.000 tetap memiliki kemampuan untuk melisis beberapa sel bakteri. Bakteri gram negatif kurang rentan untuk diserang oleh lisozim karena peptidoglikannya dilindungi oleh membran luar. Sasaran pemecahan oleh lisozim adalah diikatan 1,4 antara asam N-asetil muramat dan N-asetil glukosamin (Prasetyo, 2009). Pada kandungan bakteri gram positif terdapat dinding sel peptidoglikan yang lebih banyak dari pada lipid, sedangkan kandungan dari bakteri gram negatif lipidnya lebih banyak kandungannya dari pada peptidoglikannya (Sumarsih, 2003). Lisozim adalah suatu enzim yang melarutkan dinding sel beberapa bakteri, terdapat di kulit dan dapat membantu memberikan perlindungan terhadap beberapa mikroorganisme. Lisozim juga ada dalam air mata dan secret pernapasan serta serviks (Jawetz, *et al.*, 2007).



Gambar 3 Mekanisme Kerja Lisozim
(Stephane, 2014).

4. Kadar Hambat Minimum

Kadar Hambat Minimum (KHM) diartikan sebagai angka minimal dari konsentrasi antimikroba yang akan kelihatan dengan jelas menghambat masa pertumbuhan mikroba setelah masa inkubasi. (Andrews, 2001).

Uji aktivitas antimikroba bisa dilakukan dengan beberapa metode yaitu dengan metode difusi dan metode pengenceran. Uji difusi disk dilakukan dengan mengukur diameter zona bening yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri. Syarat jumlah bakteri untuk uji kepekaan atau sensitivitas yaitu 10^5 - 10^8 CFU/ml (Hermawan, *et al.*, 2007). Aktivitas antimikroba diukur secara *in vitro* sehingga dapat ditentukan potensi suatu zat antimikroba dalam larutan, konsentrasi dalam cairan badan, jaringan dan kepekaan suatu mikroba terhadap konsentrasi obat yang dikenal (Jawetz, *et al.*, 2008), Jawetz juga mengungkapkan bahwa aktivitas antibakteri dapat diukur dengan menggunakan metode:

a. Metode Dilusi

Sejumlah zat antimikroba dimasukkan ke dalam media bakteriologi padat maupun cair. Biasanya digunakan pengenceran dua kali lipat zat antimikroba. Tujuan akhirnya adalah untuk mengetahui seberapa banyak jumlah zat antimikroba yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri yang diuji. Keuntungan uji dilusi kaldu mikrodilusi adalah bahwa uji tersebut memungkinkan adanya hasil kuantitatif, yang menunjukkan jumlah obat tertentu yang diperlukan untuk menghambat atau membunuh mikroorganisme yang diuji.

Metode dilusi cair dibagi menjadi dua yaitu:

1) Metode dilusi cair

Metode ini mengukur *minimum inhibitory concentration* atau kadar hambat minimum. Prinsip metode pengenceran adalah senyawa antibakteri diencerkan hingga diperoleh beberapa macam konsentrasi, kemudian masing-masing konsentrasi ditambahkan suspensi bakteri uji dalam media cair. Perlakuan tersebut akan diinkubasi dan diamati ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri, yang ditandai dengan terjadinya kekeruhan. Larutan uji senyawa antibakteri pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan bakteri uji, ditetapkan sebagai kadar hambat minimum atau *minimal inhibitory concentration*. Larutan yang ditetapkan sebagai kadar hambat minimal tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan bakteri uji ataupun senyawa antibakteri dan diinkubasi selama 18-24 jam (Pratiwi, 2008).

2) Metode dilusi padat

Metode ini serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat (solid). Keuntungan metode ini adalah suatu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Pratiwi, 2008).

b. Metode Difusi

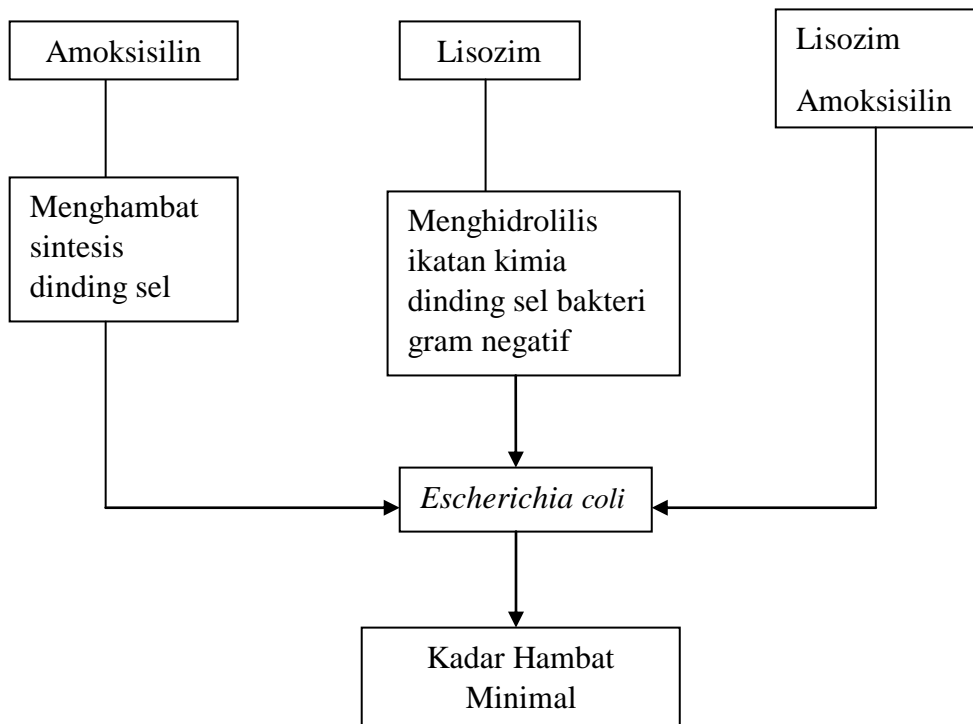
Metode difusi merupakan salah satu metode yang sering digunakan. Metode difusi dapat dilakukan dengan tiga cara yaitu metode silinder, metode lubang/sumuran, dan metode cakram kertas. Metode lubang/sumuran yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang diinjeksikan dengan ekstrak yang akan diuji. Setelah dilakukan

inkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling lubang (Kusmayati dan Agustin, 2007). Metode yang sering digunakan dalam meneliti aktivitas antimikroba adalah metode difusi padat, dengan keuntungan mudah untuk dikerjakan, lebih ekonomis, cepat dan hasil pembacaannya lebih mudah (Sherris & Ryan, 1994).

B. Kerangka Teori

Lisozim adalah suatu enzim yang terdapat pada tubuh manusia yang mempunyai efek antibakteri. Enzim lisozim pada berbagai macam cairan jaringan dapat menyebabkan lisis pada bakteri. Bakteri bekerja dengan memecah ikatan mukopetida dinding sel pada bakteri gram negatif seperti *Escherichia coli*. Kombinasi dari lisozim dan Amoksisilin akan di ujikan pada bakteri *Escherichia coli* yang resisten terhadap Amoksisilin, sehingga analisis selanjutnya dapat dilihat bahwa kombinasi lisozim dan Amoksisilin diharapkan dapat menjadi obat alternatif baru untuk membantu mengobati infeksi bakteri *Escherichia coli* resisten Amoksisilin.

C. Kerangka Konsep



Gambar 4: Kerangka Konsep

D. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori dan tinjauan pustaka yang telah dikumpulkan, maka hipotesis dari penelitian ini adalah:

1. Lisozim dengan kadar 300 $\mu\text{g/ml}$ memiliki efek antibakteri terhadap *Escherichia coli*.
2. Kombinasi lisozim dengan Amoksisilin mampu menurunkan kadar hambat minimal Amoksisilin terhadap *Escherichia coli*.