

BAB II

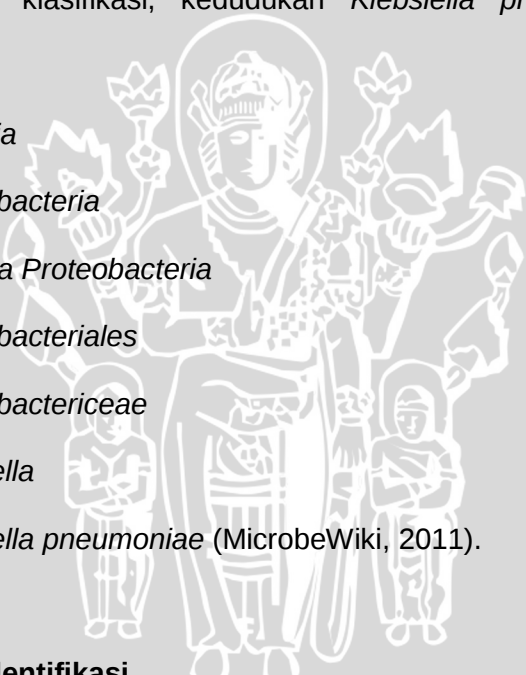
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Klebsiella pneumonia*

2.1.1 Taksonomi

Klebsiella pneumoniae merupakan golongan *Enterobacteriaceae*. Berdasarkan studi hubungan DNA, genus *Klebsiella* terdiri atas *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella planticola*, *Klebsiella terrigena*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella ozaena*, dan *Klebsiella group*. 47 (Dzen dkk, 2010).

Dalam susunan klasifikasi, kedudukan *Klebsiella pneumonia* adalah sebagai berikut :



Kingdom	: <i>Bacteria</i>
Phylum	: <i>Proteobacteria</i>
Kelas	: <i>Gamma Proteobacteria</i>
Ordo	: <i>Enterobacteriales</i>
Famili	: <i>Enterobacteriaceae</i>
Genus	: <i>Klebsiella</i>
Spesies	: <i>Klebsiella pneumoniae</i> (MicrobeWiki, 2011).

2.1.2 Morfologi dan Identifikasi

Klebsiella pneumoniae adalah bakteri Gram negatif, dimana bakteri tidak dapat mempertahankan pewarna dasar Kristal violet setelah diberi peluntur alkohol 96%, namun akan mengambil warna pembanding yaitu safranin, sehingga pada pewarnaan Gram, bakteri akan tampak berwarna merah (Gambar 2.1). Berdasarkan kebutuhannya akan oksigen, *Klebsiella pneumoniae* merupakan bakteri fakultatif anaerob. Bakteri ini berbentuk batang dengan ukuran panjang 1 – 2 µm dan lebar 0,5 - 1,5 µm. Bakteri ini memiliki kapsul,

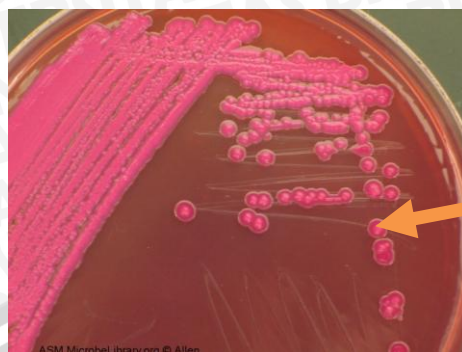
tetapi tidak membentuk spora. *Klebsiella* tidak mampu bergerak karena tidak memiliki flagel tetapi mampu memfermentasikan karbohidrat membentuk asam dan gas (Dzen dkk, 2010).



Gambar 2.1 Pewarnaan Gram Negatif bakteri *Klebsiella pneumoniae* (Smith, 2005)

Keterangan: pada panah yang ditunjuk nampak bakteri *Klebsiella pneumoniae* dengan bentuk batang dan berwarna merah dilihat dengan mikroskop dengan perbesaran 1000 kali.

Morfologi khas dari *Klebsiella* dapat dilihat dalam pertumbuhan padat *in vitro* tetapi morfologinya sangat bervariasi dalam bahan klinik (Rufaldi, 2008). Sifat biakan atau kultur dari *Klebsiella pneumoniae* pada media agar *McConkey* koloni menjadi berwarna merah muda dan mukoid, karena koloni bakteri ini dapat memfermentasikan laktosa yang ditandai dengan adanya perubahan warna menjadi merah pada medium agar tersebut (Gambar 2.2). Mudah dibiakkan di media sederhana (*bouillon agar*) dengan koloni putih keabuan dan permukaan mengkilap (Brooks et al, 2008).



Gambar 2.2 *Klebsiella pneumoniae* pada Media MacConkey (Allen, 2005).

Keterangan: pada panah yang ditunjuk nampak koloni *Klebsiella pneumoniae* yang dikultur menggunakan *Mac Conkey Agar* koloni menjadi berwarna merah muda dan mukoid, karena koloni bakteri ini dapat memfermentasikan laktosa

Klebsiella memiliki kapsul polisakarida yang besar dan kurang motil. Spesies ini menunjukkan hasil yang positif pada tes dekarboksilase lisin dan sitrat. *Klebsiella* memberikan reaksi Voges-Proskauer yang positif. Namun, pada uji ornithin dan oksidase memberikan hasil yang negatif (Brooks *et al*, 2008). Bakteri ini dapat mereduksi nitrat menjadi nitrit dan bereaksi terhadap urea. Pada TSI (*Triple Sugar Iron*) agar akan memberikan reaksi positif yaitu asam/asam, menghasilkan gas, tetapi tidak didapat hidrogen sulfida. Penyakit yang ditimbulkan oleh bakteri ini antara lain adalah bronkopneumonia dan pneumonia bakteri Gram negatif. Hampir semua pneumonia disebabkan oleh bakteri ini (Rufaldi, 2008).

2.1.3 Habitat dan Transmisi

Klebsiella pneumoniae merupakan spesies yang *ubiquitous* yakni bisa hidup di segala macam tempat, habitat alaminya meliputi tanah, vegetasi dan permukaan air, serta pada permukaan mukosa usus mamalia. Dalam pengaturan klinis, tempat yang paling penting untuk transmisi diasumsikan berada di saluran pencernaan dan tangan pasien. Khususnya pada tangan karena sering kali terjadi kontaminasi dengan bakteri *Klebsiella*, mungkin terpapar dari feses dan

sebagainya, ketika menyentuh makanan, serta lupa belum mencuci tangan. Hal ini telah terbukti bahwa sebagian besar infeksi pada saluran kencing atau pada saluran pernapasan yang akan didahului dengan kolonisasi bakteri patogen pada saluran pencernaan pasien. Adanya transfer gen resistensi pada bakteri yang berpotensi menjadi patogen dalam saluran pencernaan pada bakteri multiresisten yang dapat menyebabkan infeksi menyebar ke berbagai organ dan akhirnya menyebabkan kegagalan pengobatan (Schjørring *et al*, 2008).

Ada empat rute masuknya bakteri *Klebsiella pneumoniae* tersebut ke dalam saluran napas bagian bawah yaitu melalui aspirasi yang merupakan rute terbanyak pada kasus-kasus tertentu seperti kasus neurologis, melalui inhalasi, misalnya kontaminasi pada alat-alat bantu napas yang digunakan pasien di rumah sakit, melalui hematogenik, serta bisa juga melalui penyebaran langsung (PDPI, 2003). Sedangkan transmisi bakteri ke traktus urinarius yaitu dengan cara penyebaran vertikal dari feses, serta melalui infeksi *ascending* dan hematogenik (Schjørring *et al*, 2008).

Bakteri *Klebsiella pneumoniae* dapat menyebabkan infeksi nosokomial yaitu infeksi yang terjadi dalam waktu 48 jam setelah masuk rumah sakit. Akhir-akhir ini laporan dari beberapa kota di Indonesia menunjukkan bahwa bakteri yang ditemukan dari pemeriksaan dahak penderita pneumonia komunitas adalah bakteri Gram negatif. Penelitian Pneumonia komunitas rawat inap di Asia misalnya di Indonesia atau di Malaysia mendapatkan kuman patogen yang bukan *Streptococcus pneumonia* sebagai penyebab tersering, tetapi *Klebsiella pneumonia*. Sebagaimana yang ditemukan di Rumah Sakit Saiful Anwar Malang, Astuti (2003) melaporkan bahwa pola bakteri dari isolat sputum pada bulan Januari-Juni tahun 2003 dengan urutan 5 teratas sebagai berikut: *Klebsiella pneumoniae* (20,2%), *Acinetobacter anitratus* (16,5%), *Staphylococcus*

coagulase negative (12,5%), *Pseudomonas aeruginosa* (8,7%), *Staphylococcus coagulase positive* (6,9%).

Djuariah dan Infianto (2005), melaporkan pola kuman dari isolat sputum pada bulan Januari – Desember 2005 di RS Saiful Anwar dengan urutan 5 teratas sebagai berikut: *Klebsiella pneumoniae* (20,13%), *Staphylococcus coagulase negative* (19,39%), *Acinetobacter anitratus* (14,33%), *Pseudomonas aeruginosa* (8,22%), *Staphylococcus coagulase positif* (6,82%) (Tabel 2.1).

Tabel 2.1 Pola Bakteri Penyebab Pneumonia Terbanyak di RSSA Malang Tahun 2005 (Djuariah dan Infianto, 2005)

No	Bakteri Temuan	Persentase (%)
1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	20,13
2	<i>Staphylococcus koagulase negatif</i>	19,39
3	<i>Acinetobacter anitratus</i>	14,32
4	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8,22
5	<i>Staphylococcus koagulase positif</i>	6,82

Satolom dan Wailan (2006), melaporkan sepanjang tahun 2006 didapatkan pola 5 besar kuman yang diperoleh dari sputum pasien di RS Saiful Anwar adalah: *Staphylococcus coagulase negative* (17,83%), *Klebsiella pneumoniae* (17,11%), *Acinetobacter anitratus* (8,35%), *Staphylococcus aureus* (7,12%), *Pseudomonas aeruginosa* (6,76%) (Tabel 2.2).

Tabel 2.2 Pola Bakteri Penyebab Pneumonia Terbanyak di RSSA Malang Tahun 2006 (Satolom dan Wailan, 2006)

No	Bakteri Temuan	Persentase (%)
1	<i>Staphylococcus koagulase negatif</i>	17,83
2	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	17,11
3	<i>Acinetobacter anitratus</i>	8,35
4	<i>Staphylococcus aureus</i>	7,12
5	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6,76

Wijaya dan Rahmawati (2007), melaporkan pola 5 besar kuman dari pemeriksaan sputum selama tahun 2007 adalah: *Staphylococcus coagulase negatif* (16%), *Klebsiella pneumoniae* (11%), *Yeast like fungi* (9,6%), *Acinetobacter baumannii* (8,6%), *Eschericia coli* (6,8%) (Tabel 2.3).

Tabel 2.3 Pola Bakteri Penyebab Pneumonia Terbanyak di RSSA Malang Tahun 2007 (Wijaya dan Rahmawati, 2007)

No	Bakteri Temuan	Persentase (%)
1	<i>Staphylococcus koagulase negatif</i>	16
2	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	11
3	<i>Yeast like fungi</i>	9,6
5	<i>Acinetobacter baumannii</i>	8,6
6	<i>Eschericea coli</i>	6,8

Ekawati,dkk (2008), melaporkan pola 5 besar kuman dari pemeriksaan sputum selama tahun 2008 adalah: *Klebsiella pneumoniae* (20%), *Staphylococcus coagulase negatif* (18%), *Acinetobacter baumannii* (15%), *Yeast like Fungi* (11%), *Enterobacter gergoviae* (9 %) (Tabel 2.4).

Tabel 2.4 Pola Bakteri Penyebab Pneumonia Terbanyak di RSSA Malang Tahun 2008 (Ekawati dkk, 2008)

No	Bakteri Temuan	Persentase (%)
1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	20
2	<i>Staphylococcus koagulase negatif</i>	18
3	<i>Acinetobacter baumannii</i>	15
5	<i>Yeast like fungi</i>	11
6	<i>Enterobacter gergoviae</i>	9

Elvi, dkk (2009), melaporkan pola 5 besar kuman dari pemeriksaan sputum selama tahun 2009 adalah: *Staphylococcus coagulase negatif* (28,98 %), *Klebsiella pneumoniae* (13,23 %), *Enterobacter gergovia* (10,17%), *Staphylococcus aureus* (8,80 %), *Yeast Like Fungi* (7,27 %) (Tabel 2.5).

Tabel 2.5 Pola Bakteri Penyebab Pneumonia Terbanyak di RSSA Malang Tahun 2009 (Elvi dkk, 2009)

No	Bakteri Temuan	Persentase (%)
1	<i>Staphylococcus koagulase negatif</i>	28,98
2	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	13,23
3	<i>Enterobacter gergoviae</i>	10,17
5	<i>Staphylococcus aureus</i>	8,80
6	<i>Yeast like fungi</i>	7,27

Kartikaningsih, dkk (2010), melaporkan pola 5 besar kuman dari pemeriksaan sputum selama tahun 2010 adalah: *Staphylococcus coagulase negatif* (37,70%), *Enterobacter gergovia* (12,50%), *Klebsiella pneumoniae* (9,90%), *Acinetobacter baumannii* (6,21%), *Yeast Like Fungi* (5,68 %) (Tabel 2.6).

Tabel 2.6 Pola Bakteri Penyebab Pneumonia Terbanyak di RSSA Malang Tahun 2010 (Kartikaningsih dkk, 2010)

No	Bakteri Temuan	Persentase (%)
1	<i>Staphylococcus koagulase negatif</i>	37.70
2	<i>Enterobacter gergoviae</i>	12.50
3	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	9.90
5	<i>Acinetobacter baumannii</i>	6.21
6	<i>Yeast like fungi</i>	5.68

Data di atas diperoleh dari SMF Ilmu Penyakit Paru Rumah Sakit Saiful Anwar Malang, menunjukkan bahwa bakteri *Klebsiella pneumoniae* masih berada pada posisi lima besar bakteri terbanyak yang menyebabkan pneumonia di Rumah Sakit Saiful Anwar.

2.1.4 Struktur Antigenik

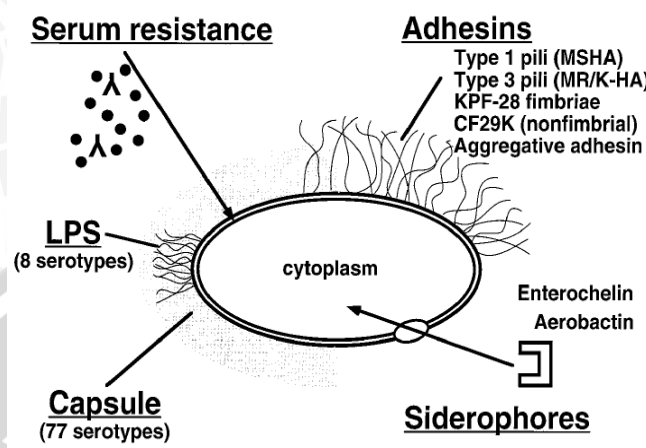
Enterobacteriaceae memiliki struktur antigenik yang kompleks, yang digolongkan berdasarkan lebih dari 150 antigen somatik O (liposakarida) yang tahan panas, lebih dari 100 antigen K (Kapsular) yang tidak tahan panas dan lebih dari 50 antigen H (flagella) (Brooks *et al*, 2008).

Klebsiella yang juga merupakan anggota dari *Enterobacteriaceae* mempunyai antigen O dan K (Dzen dkk, 2010). Antigen O yang merupakan bagian terluar dari lipopolisakarida dinding sel dan terdiri atas unit polisakarida yang berulang. Beberapa polisakarida O-spesifik mengandung gula yang unik. Antigen O tahan terhadap panas dan alkohol dan biasanya dideteksi dengan aglutinasi bakteri. Antibodi terhadap antigen O terutama adalah IgM. Sedangkan antigen K berada di luar antigen O dan merupakan suatu *capsular polysacharida*. Antigen K dapat mengganggu aglutinasi melalui antiserum O dan berhubungan dengan virulensi. *Klebsiella* mempunyai kapsul besar yang terdiri atas polisakarida (antigen K) yang menutupi antigen somatik (O atau H) dan dapat dikenali dengan pembengkakan kapsul melalui uji pembengkakan kapsul dengan antiserum khusus. Infeksi pada saluran nafas manusia disebabkan terutama oleh jenis kapsul 1 dan 2, pada saluran kemih terutama disebabkan oleh jenis kapsul 8, 9, 10, dan 24 (Brooks *et al*, 2008). Penggolongan secara serologis ini berguna sebagai sarana epidemiologis untuk investigasi kejadian luar biasa yang disebabkan oleh mikroorganisme ini (Dzen dkk, 2010).

2.1.5 Penentu Patogenisitas

Patogenisitas adalah kemampuan suatu bakteri untuk menyebabkan adanya penyakit, sedangkan virulensi adalah pengukuran atau tingkat patogenisitas dari setiap spesies bakteri. Penentu patogenisitas dari bakteri

Klebsiella pneumoniae antara lain kapsul antigen, pili (fimbriae), serum resisten, lipopolisakarida, dan siderofor (Gambar 2.3)



Gambar 2.3 Gambaran skematis faktor patogenisitas bakteri *Klebsiella pneumonia* (Podschun and Ulman, 1998)

2.1.5.1 Kapsul Antigen

Kapsul merupakan suatu lapisan tipis, berada di luar dinding sel dan secara kimiawi tersusun atas polisakarida, polipeptida, atau kedua-duanya. Kapsul tidak dimiliki oleh semua bakteri dan kompleksitas susunan kimiawinya tergantung dari spesies bakteri. Kapsul dapat melindungi bakteri dari proses fagositosis. Pada dasarnya pertahanan terhadap invasi bakteri tergantung pada fagositosis oleh granulosit polimorfonuklear dan efek bakterisidal serum. Bakteri mengatasi imunitas hospes bawaan melalui kapsul polisakarida. Pada *Klebsiella pneumoniae*, materi-materi kapsul tersebut membentuk fibril yang tebal sehingga dapat menutupi seluruh permukaan bakteri. Kapsul dapat menentukan derajat keganasan atau virulensi bakteri, artinya bakteri yang mempunyai kapsul lebih virulen dibandingkan yang tidak memiliki kapsul. Selain itu, kapsul juga bersifat sebagai antigenik. Untuk pewarnaannya dapat digunakan *negative staining*, *Indian ink*, serta dapat pula menggunakan reaksi imunologis dari Quellung (Dzen dkk, 2010).

2.1.5.2 Pili (Fimbriae)

Pada bakteri Gram negatif terdapat permukaan bagian tubuh yang kaku yang disebut pili (dari bahasa Latin yang artinya “rambut”) atau fimbriae. Pili mempunyai panjang 10 μm dan diameter mencapai 1-11 nm. Organ ini lebih halus dan lebih pendek dari flagella, yang tersusun atas protein struktural yang disebut pilin. Protein minor, yang terdapat pada ujung pili, menyebabkan bakteri dapat melekat pada sel lain atau sel hospes (Brooks *et al*, 2008).

Pili dibagi menjadi dua macam yaitu pili biasa, yang berperan dalam perlekatan bakteri simbiotik atau patogen ke sel hospes yang disebut *colonizing faktor*, dan pili seksual, yang berperan dalam proses pemindahan materi genetik dari salah satu bakteri ke bakteri yang lain (Dzen dkk, 2010).

Terdapat dua jenis pili yang dominan pada *Klebsiella pneumoniae*, yaitu pili tipe 1 dan tipe 3. Pili tipe 1 ditemukan di sebagian besar spesies *Enterobacteriaceae*, dimana pili tipe 1 merupakan MSHA (*Mannose Sensitive HemAgglutinin*) yang dapat memediasi faktor adhesi terhadap struktur *mannose containing* melalui unsur DNA *invertible* (*fim switch*). Sedangkan pili tipe 3 terdapat pada hampir semua isolat *Klebsiella pneumoniae* dan memediasi faktor adhesi dari beberapa jenis sel secara *in vitro*, namun, reseptor untuk tipe 3 fimbriae belum teridentifikasi (Schroll *et al*, 2010).

2.1.5.3 Serum Resisten dan Lipopolisakarida

Lipopolisakarida (LPS) pada dinding sel Gram negatif tersusun atas lipid kompleks yang disebut lipid A. LPS melekat pada membran luar melalui ikatan hidrofobik. LPS sangat beracun bagi hewan, dikenal sebagai endotoksin pada bakteri Gram negatif karena terikat kuat pada permukaan sel dan akan dilepaskan ketika sel mengalami lisis. Saat LPS dipecah menjadi Lipid A dan

polisakarida, keseluruhan sifat toksisitasnya hanya berkaitan dengan lipid A. Sebaliknya polisakarida merupakan antigen utama pada sel bakteri yang disebut antigen O (Brooks *et al*, 2008).

Selain dapat digunakan sebagai petanda serologis, LPS juga mempunyai peran sebagai faktor virulensi yang penting. Disamping itu, antigen O pada LPS dapat meningkatkan perlekatan organisme pada hospes. Karbohidrat pada region I dari LPS pada spesies tertentu, berperan pada perlekatan bakteri tersebut ke jaringan hospes ketika terjadinya proses infeksi dan dapat melindungi bakteri dari adanya proses eliminasi oleh komponen dalam serum (Dzen dkk, 2010).

2.1.5.4 Siderofor

Besi merupakan zat makanan yang penting untuk proses infeksi dan telah dipelajari secara mendalam. Besi mempunyai potensi oksidasi-reduksi yang luas, sehingga besi penting untuk berbagai fungsi metabolik. Seperti sel-sel yang lain, bakteri juga memerlukan besi sebanyak 0,4-4 $\mu\text{mol/L}$ untuk pertumbuhannya. Manusia dan hewan mempunyai banyak besi, namun sebagian besar terletak intraseluler dan tidak dapat diakses oleh bakteri. Konsentrasi besi ionik bebas dalam darah, limfe, cairan jaringan ekstraseluler, dan eksresi eksternal sangat rendah. Hal ini disebabkan oleh protein transport dan molekul pengikat besi pada hospes yang berupa transferin dan laktoferin hanya tersaturasi sebagian dalam keadaan metabolisme besi yang normal. Ferritin dan hemoglobin juga dapat mengikat besi. Pada habitat bakteri kebanyakan, Fe^{2+} teroksidasi menjadi Fe^{3+} baik secara spontan dengan bereaksi dengan molekul oksigen atau enzimatis selama asimilasi dan sirkulasi dalam organisme (Brooks *et al*, 2008).

Bakteri telah mengembangkan beberapa metode untuk mendapatkan besi yang cukup bagi metabolisme dasar. Terdapat bakteri yang mempunyai sistem asimilasi besi dengan afinitas rendah, dengan menggunakan bentuk besi polimerik meskipun daya larut senyawa-senyawa feri rendah. Beberapa bakteri telah menyusun sistem asimilasi besi dengan afinitas tinggi. Bagian dari sistem yang berafinitas tinggi ini melibatkan siderofor, yang merupakan suatu *ligand* kecil yang spesifik untuk besi feri / Fe^{3+} sehingga dapat menyuplai besi ke dalam sel bakteri (Brooks *et al*, 2008).

Banyak variasi siderofor yang telah diketahui, tetapi sebagian besar digolongkan ke dalam dua kategori yaitu katekol (fenolat) contohnya adalah enterobaktin dan hidroksamat contohnya adalah ferikrom. Enterobaktin dihasilkan oleh *Enterobacteriaceae* sedangkan hidroksamat dihasilkan oleh fungi. Produksi siderofor secara genetik responsif terhadap konsentrasi besi dalam medium. Misalnya enterobaktin hanya dihasilkan bila konsentrasi besi rendah. Enterobaktin dapat mengangkut besi dari transferin. Begitu menangkap bakteri, siderofor diinternalisasi ke dalam sel melalui kerja reseptor protein membran luar yang spesifik, yang juga disintesis bila konsentrasi besi rendah (Brooks *et al*, 2008).

2.1.5.5 Enterotoksin

Klebsiella pneumoniae merupakan salah satu dari golongan *Enterobacteriaceae* yang memproduksi enterotoksin. Insiden penyakit yang disebabkan oleh *Klebsiella pneumoniae* belum diketahui secara jelas. Enterotoksin dari *Klebsiella pneumoniae* pernah diisolasi dari penderita *tropical sprue*. Toksin ini mirip ST dan LT dari *Escherichia coli*. Kemampuan memproduksi toksin ini diperantarai oleh plasmid (Dzen dkk, 2010).

2.1.6 Manifestasi Klinis

Klebsiella pneumoniae dapat menyebabkan *primary community-acquired pneumonia* serta pneumonia nosokomial. Biasanya terjadi pada penderita usia pertengahan dan usia tua dengan latar belakang alkoholisme, *chronic bronchopulmonary disease* atau diabetes mellitus. Disamping pneumonia, *Klebsiella pneumoniae* juga dapat menyebabkan infeksi saluran kemih, infeksi pada luka, bakteremia, dan meningitis (Dzen dkk, 2010).

Klebsiella pneumoniae merupakan patogen oportunistik yang ditemukan di lingkungan dan di permukaan mukosa mamalia. Merupakan patogen utama pada infeksi saluran pernafasan. Bakteri ini dapat menyebar dengan cepat, sehingga sering menimbulkan wabah nosokomial. Infeksi dengan organisme *Klebsiella* terjadi di paru-paru, di mana mereka menyebabkan perubahan destruktif. nekrosis, peradangan, dan perdarahan terjadi dalam jaringan paru-paru. Kadang-kadang menghasilkan dahak yang kental, berdarah, dan mukoid yang digambarkan sebagai *currant jelly sputum* (Umeh, 2011).

Lobar pneumonia berbeda dari pneumonia lain dalam hal itu dikaitkan dengan perubahan destruktif di paru-paru. Lobar pneumonia merupakan penyakit yang sangat berat dengan onset yang cepat dan hasil yang sering fatal meskipun dengan pengobatan antibakteri dini dan tepat. Pasien biasanya hadir dengan onset akut demam tinggi dan menggigil, gejala seperti flu, dan batuk produktif dengan sputum yang mukoid dan kental. Sebuah kecenderungan meningkat menjadi pembentukan abses, kavitasi, empiema, dan adhesi pleura. Kebanyakan penyakit paru yang disebabkan oleh *Klebsiella pneumoniae* dalam bentuk bronkopneumonia atau bronkitis. Infeksi ini biasanya didapat di rumah sakit dan memiliki presentasi yang lebih halus. Foto x-ray dada diperlukan. Adanya tanda fisik berupa konsolidasi yang sugestif tetapi sering juga tidak ditemukan pada

presentasi foto x-ray. Namun demikian, beberapa tanda-tanda klinis lainnya, seperti *confussion*, harus dicatat secara khusus sebagai penentuan prognosis pada pasien tersebut (Johnson *et al*, 2003).

Infeksi dimulai dari masuknya bakteri ke saluran nafas bawah melalui inhalasi materi aerosol, melalui aspirasi dari flora normal saluran nafas atas, atau melalui *hematogenous spreading*. Kemudian bakteri patogen bermultiplikasi di dalam atau di atas epitel dan menyebabkan reaksi inflamasi, meningkatkan sekresi mukus dan terganggunya fungsi mukosilia. Pneumonia terjadi ketika mekanisme pertahanan pada paru berkurang atau hilang. Setelah masuk dan menempel pada epitel mukosa alveolus, bakteri kemudian melakukan multiplikasi. Ketika bakteri masuk, hospes terstimulasi untuk mengadakan *first line defense* dengan fagositosis oleh granulosit polimorfonuklear dan kemudian terbentuk eksudat (Ardianti, 2010). Jika bakteri tersebut tidak dapat dimusnahkan oleh mekanisme pertahanan tubuh, maka akan terjadi pneumonia aspirasi dan dalam waktu 7-14 hari kemudian berkembang menjadi nekrosis jaringan paru, yang berakhir dengan pembentukan abses. Secara klinis pneumonia yang disebabkan oleh *Pneumococcus* dan pneumonia karena *Klebsiella pneumoniae* tidak dapat dibedakan, namun pneumonia karena *Klebsiella pneumoniae* mempunyai kecenderungan yang lebih besar untuk menjadi abses dan empiema paru (Fauci *et al*, 2008).

Secara klinis dan epidemiologi, terdapat empat klasifikasi pneumonia yaitu *Community Acquired Pneumonia* (CAP), *Health Care Associated Pneumonia* (HCAP), *Hospital Acquired Pneumonia* (HAP), dan *Ventilator Acquired Pneumonia* (VAP). Bakteri *Klebsiella pneumoniae* merupakan bakteri yang sering ditemukan pada pasien dengan pneumonia CAP, HCAP, HAP, juga VAP. Bakteri ini mudah sekali menyebar dan mampu bertahan hidup di permukaan

tanah sehingga mudah menginfeksi manusia dimana saja yang menyebabkan penyakit pneumonia (Kleninger and Lipsett, 2009).

Pengertian infeksi saluran kemih adalah suatu infeksi yang melibatkan ginjal, ureter, buli-buli, ataupun uretra. Infeksi saluran kemih (ISK) adalah istilah umum yang menunjukkan keberadaan bakteri dalam urin (Sukandar, 2004). Infeksi saluran kemih adalah keadaan yang ditandai dengan adanya bakteri dalam urin dan pada pemeriksaan biakan bakteri didapatkan jumlah bakteri sebanyak 10^5 CFU/ml urin atau lebih yang dapat disertai dengan gejala-gejala (simtomatik) atau tidak (asimtomatik). Pada pasien dengan simptom ISK tanpa menggunakan kateter, jumlah bakteri dikatakan signifikan jika lebih besar dari 10^5 CFU/ml urin, sedangkan pada pasien dengan kateter, jumlah bakteri dikatakan signifikan apabila pada kultur urin didapatkan jumlah bakteri antara 10^2 – 10^3 CFU/ml (Husada dkk, 2008).

Di beberapa rumah sakit, *Klebsiella pneumoniae* menggantikan *Escherichia coli* sebagai isolat kultur darah utama, dan telah ditunjukkan bahwa *Klebsiella pneumoniae* bertanggung jawab atas 15% meningitis yang disebabkan oleh bakteri Gram negatif, dimana kebanyakan isolat berasal dari penderita bedah syaraf yang memiliki infeksi pada bagian tubuh yang lain (Dzen dkk, 2010).

2.1.7 Resistensi Bakteri terhadap Antibakteri

Bakteri dari genus *Klebsiella* menyebabkan berbagai infeksi pada manusia, yang sering diobati menggunakan β -laktam antibiotik. Mekanisme dasar resistensi *Klebsiella* terhadap penisilin atau sefalosporin melibatkan produksi enzim yang disebut *Extended Spectrum β -laktamases* (ESBLs), karena resistensi

dari banyak galur *Klebsiella* untuk β -laktamase, terapi antibiotik alternatif dapat menggunakan aminoglikosida dan kuinolon (Amin *et al*, 2009).

Berbagai infeksi nosokomial dan *community (food borne)* disebabkan oleh *Klebsiella pneumoniae* yang merupakan salah satu patogen paling mematikan golongan *Enterobacteriaceae*. Patogen ini memiliki β -laktamase, oleh karena itu mereka memediasi resistensi tingkat tinggi terhadap β -laktam antibiotik dan telah menjadi ancaman global (Bouchillon *et al*, 2004).

Pada hasil penelitian yang dilakukan Damian, *et al* (2009) menunjukkan bahwa lebih dari 50% galur *Klebsiella pneumoniae* yang mulai resisten terhadap sefalosporin generasi ketiga dan diantaranya sejumlah 69% merupakan produsen ESBL. Begitu pula pada hasil penelitian Sarojamma, *et al* (2011) menunjukkan bahwa Dari 100 isolat *Klebsiella pneumoniae* diuji dengan antibiogramnya, sebanyak 61% isolat telah menunjukkan kerentanan terhadap generasi ketiga sefalosporin dan 39% resisten. Amoksisilin menunjukkan persentase tertinggi resistensi (86% di rumah sakit dan 76% di masyarakat) diikuti oleh tetrasiklin dan kotrimoksazol. Demikian pula, persentase tertinggi kerentanan terhadap imipenam (84% di rumah sakit dan 96% di masyarakat) diikuti oleh seftriakson dan kombinasi sefaperazon dengan sulbaktam. Dalam penggunaan aminoglikosida, amikasin menunjukkan persentase yang lebih tinggi dari kerentanan resistensi (56% di rumah sakit dan 78% di masyarakat) dibandingkan dengan gentamisin (40% di rumah sakit dan 62% di masyarakat).

Berita terbaru mengenai resistensi antibiotik terhadap *Klebsiella pneumoniae* yang disampaikan oleh *World Health Organization* (WHO) menyatakan bahwa telah ditemukan bakteri NDM-1 (*New Delhi metallo- β -laktamase 1*) yang merupakan enzim dari suatu bakteri yang mampu menetralkan efek buruk akibat antibiotik carbapenem. Dewasa ini, carbapenem sering

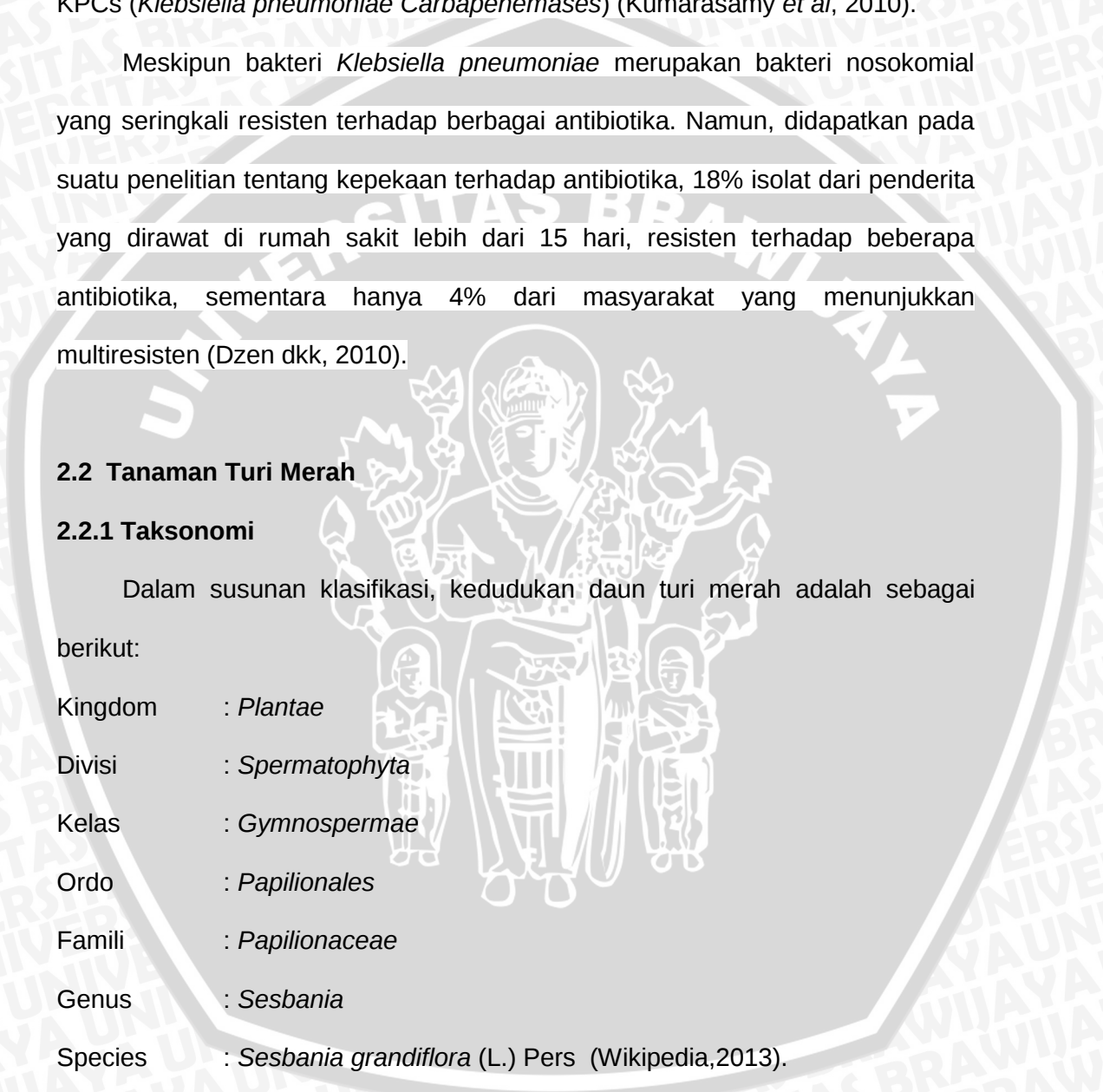
digunakan sebagai lini terakhir sebagai pertahanan untuk melawan infeksi yang disebabkan oleh MDR (*Multi Drugs Resistant*). *Klebsiella pneumoniae* merupakan salah satu bakteri penghasil enzim tersebut, sehingga muncullah KPCs (*Klebsiella pneumoniae Carbapenemases*) (Kumarasamy *et al*, 2010).

Meskipun bakteri *Klebsiella pneumoniae* merupakan bakteri nosokomial yang seringkali resisten terhadap berbagai antibiotika. Namun, didapatkan pada suatu penelitian tentang kepekaan terhadap antibiotika, 18% isolat dari penderita yang dirawat di rumah sakit lebih dari 15 hari, resisten terhadap beberapa antibiotika, sementara hanya 4% dari masyarakat yang menunjukkan multiresisten (Dzen dkk, 2010).

2.2 Tanaman Turi Merah

2.2.1 Taksonomi

Dalam susunan klasifikasi, kedudukan daun turi merah adalah sebagai berikut:



Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Kelas	: <i>Gymnospermae</i>
Ordo	: <i>Papilionales</i>
Famili	: <i>Papilionaceae</i>
Genus	: <i>Sesbania</i>
Species	: <i>Sesbania grandiflora</i> (L.) Pers (Wikipedia,2013).

2.2.2 Sinonim Tanaman Turi

Nama-nama lokal Tumbuhan turi merah di Indonesia menurut Nasution (2010), mencakup turi (Jawa Tengah), toroi (Madura), tuwi, suri (Mongondow),

uliango (Gorontalo), gorgogua (Buol), kayu jawa (Baree, Makassar), ajutaluma (Bugis), palawu (Bima), tanunu (Sumba), gala-gala (Timor), serta tuli, turi, turing, ulingalo, suri, gongo gua, kaju jawa (Sulawesi), kalala, gala-gala, ghunga, ngganggala (Nusa Tenggara) (Ipteknet, 2005). Sedangkan di beberapa Negara, tanaman turi merah atau *Sesbania grandiflora* (L.) Pers dikenal dengan bermacam-macam nama seperti Agati, *Vegetable-Humming Bird*, *Scarlet Wistario tree*, *West Indian Pea*, Agati sesbania (Inggris), Gallito, Cresta de Gallo (Spanyol), Fagotier (Prancis), Bokphul, agasta, agati, buko, bak (Bangladesh), Flamingo Bill (Bahama), Tunibaum (Jerman), August flower (Guyana), Chogache, Basna, agathi, hadga, bak, bagphal, agathio (India), sesbania (Italia), Kathuru murunga (Srilanka), Pico de Flamenco (Meksiko), Sesban Getih, turi, kacang turi, petai belalang (Malaysia), Agasthi (Nepal), Katurai, pan, gauai-gauai, katudang (Filipina), Khae-ban, (Thailand), so dua (Vietnam) (Unimelb, 2004).

2.2.3 Morfologi Tanaman Turi

Turi (*Sesbania grandiflora* L. Pers) merupakan pohon dari Asia Selatan dan Asia Tenggara namun sekarang telah tersebar ke berbagai daerah tropis dunia. Turi umumnya ditanam di pekarangan sebagai tanaman hias, di tepi jalan sebagai pohon pelindung, atau ditanam sebagai tanaman pembatas pekarangan (Widiyati, 2009). Tanaman ini dapat ditemukan di bawah 1.200 meter di atas permukaan air laut. Tanaman ini tidak berumur panjang, dengan pertumbuhan cepat dan sistem perakaran yang dangkal serta cabangnya menggantung. Bentuk berupa pohon dengan batang kurus yang memiliki tinggi 5-12 meter. Kulit luar berwarna kelabu hingga kecoklatan dengan tekstur tidak rata, lapisan gabus mudah terkelupas. Di bagian dalam berair dan sedikit berlendir. Percabangan jarang dengan alur membujur dan melintang tidak beraturan. Percabangan baru

keluar setelah tinggi tanaman sekitar 5 meter. Daun menyirip ganda yang letaknya tersebar, dengan daun penumpu yang panjangnya 0,5-1 cm. Panjang daun 20-30 cm, menyirip genap, dengan 20-40 pasang anak daun yang bertangkai pendek. Helaian anak daun berbentuk jorong memanjang, tepi rata, panjang 3-4 cm, lebar 0,8-1,5 cm (Gambar 2.5). Ada 2 varietas, yang berbunga putih dan berbunga merah. Bunganya tersusun majemuk yang letaknya menggantung dengan 2-4 bunga yang bertangkai, kuncupnya berbentuk sabit, panjangnya 7-9 cm, terdapat mahkota bunga berwarna putih dan berwarna merah, tipe kupu-kupu khas *Faboideae* atau *Papilionaceae* (Gambar 2.6). Buah bentuk polong yang menggantung, berbentuk pita dengan sekat antara, panjang 20-55 cm, lebar 7-8 mm. Biji 15-50, letak melintang di dalam polong. Akarnya berbintil-bintil, berisi bakteri yang dapat memanfaatkan nitrogen, sehingga bisa menyuburkan tanah (Nasution dkk, 2010).



Gambar 2.3 Daun pada Tanaman Turi (Nasution dkk, 2010)

Keterangan : Tanaman turi dengan daun majemuk menyirip ganda yang letaknya tersebar.



(a)

(b)

Gambar 2.4 Bunga dari Tanaman Turi dengan Varietas Merah dan Putih (Nasution dkk, 2010)

Keterangan : (a) merupakan bunga dari tanaman turi dengan varietas turi merah.

(b) merupakan bunga dari tanaman turi dengan varietas turi putih.

2.2.4 Kandungan Kimia Tanaman Turi Merah

Pada turi merah (*Sesbania grandiflora* L. Pers), pada setiap bagian dari tanamannya memiliki beberapa kandungan kimia yang terletak pada :

- Batang : Tanin, egatin, zantoegatin, basorin, resin, calsium oksalat, sulfur, dan zat warna.
- Daun : Saponin, tanin, flavonoid , peroksidase, vitamin A, dan vitamin B.
Selain itu, terdiri dari 77.2% air, 9.7% karbohidrat, 8.4% protein, 2-5% serat, 3-5.5% nitrogen, 1% lemak, kalsium, zat besi, fosfor, natrium, kalium dan vitamin C.
- Bunga : Kalsium, zat besi, zat gula, flavonoid, saponin, vitamin A, dan vitamin B.
- Kulit : Getah (gon) dan zat merah.
- Biji polong : 40-70% protein, 6.5% nitrogen
- Akar : β -mercaptoethanol. (Ipteknet 2005; Ong, 2008)

2.2.5 Manfaat dan Efek Farmakologis Tanaman Turi Merah

Bunga dan daun tanaman turi muda bisa dimakan dan sering digunakan untuk suplemen makanan. Daun turi, bunga, dan polong mudanya dapat dimakan sebagai sayur. Daun muda setelah dikukus bisa dimakan oleh ibu yang sedang menyusui anaknya untuk menambah produksi ASI. Bunganya gurih dan manis biasanya yang berwarna putih dikukus dan dimakan sebagai lalapan pecel. Daun dan ranting muda merupakan makanan ternak yang kaya protein (Ipteknet, 2005). Turi berbunga merah lebih banyak dipakai dalam pengobatan, karena memang lebih berkhasiat. Daun turi kering bisa dipakai sebagai teh yang diduga berdaya antibakteri, antihelmintik, antitumor, dan juga untuk kontrasepsi. Karena kadar taninnya lebih tinggi, sehingga manjur untuk pengobatan luka ataupun disentri (Suttie, 2001).

Daun turi sudah digunakan oleh masyarakat luas, karena memiliki efek farmakologis untuk mencairkan gumpalan darah, mempunyai efek diuretik, dan sebagai analgesik. Sehingga daun turi dimanfaatkan untuk mengatasi radang tenggorokan, menyembuhkan luka yang tidak terlalu dalam, mengatasi batu ginjal, mengatasi keputihan dan demam nifas, memperlancar pengeluaran ASI, serta bersifat antioksidan. Selain itu jus daun turi dapat digunakan untuk mengobati epilepsi, karena dalam sebuah penelitian klinis didapatkan antikejang. Daun turi mempunyai efek sebagai ekspektoran, *styptic*, dan antipiretik sehingga dapat digunakan sebagai pengobatan untuk bronchitis, batuk, muntah, konstipasi, luka, diare, disentri, perdarahan internal dan eksternal, karies gigi, stomatitis, dan demam *intermittent* (Vipin *et al*, 2011).

Bunga turi merah mempunyai efek farmakologis sebagai pelembut kulit dan obat pencahar, sedangkan akar turi merah mempunyai efek farmakologis untuk mengatasi pegal linu dan sakit kepala (Rahman, 2006). Pada kulit batang turi

secara tradisional digunakan sebagai pengobatan pada smallpox, luka di mulut dan saluran pencernaan, scabies, dan gangguan perut pada anak-anak (Vipin *et al*, 2011).

2.2.6 Faktor Antibakteri pada Daun Turi Merah

2.2.6.1 Saponin

Saponin merupakan glukosida yang larut dalam air dan etanol, tetapi tidak larut dalam eter. Saponin bekerja sebagai antibakteri dengan mengganggu stabilitas membran sel bakteri sehingga menyebabkan sel bakteri lisis, jadi mekanisme kerja saponin termasuk dalam kelompok antibakteri yang berfungsi menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas sel bakteri, yang mengakibatkan kerusakan membran sel dan menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel bakteri yaitu protein, asam nukleat, dan nukleotida (Darsana dkk, 2012). Saponin paling tepat diekstraksi dari tanaman dengan pelarut etanol 70-96% atau metanol (Suharto dkk, 2011).

Saponin merupakan senyawa glikosida kompleks yaitu senyawa hasil kondensasi suatu gula dengan suatu senyawa hidroksil organik yang apabila dihidrolisis akan menghasilkan gula (glikon) dan non-gula (aglikon). Saponin banyak digunakan dalam kehidupan manusia, yang dapat digunakan untuk bahan pencuci kain (batik) Dan sebagai sampo. Saponin dapat diperoleh dari tumbuhan melalui metode ekstraksi (Jayanti, 2007).

2.2.6.2 Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa polar yang umumnya mudah larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, dan aseton. Flavonoid merupakan

golongan terbesar dari senyawa fenol, senyawa fenol mempunyai sifat efektif menghambat pertumbuhan virus, bakteri dan jamur. Senyawa-senyawa flavonoid umumnya bersifat antioksidan dan banyak yang telah digunakan sebagai salah satu komponen bahan baku obat-obatan. Senyawa flavonoid dan turunannya memiliki dua fungsi fisiologi tertentu, yaitu sebagai bahan kimia untuk mengatasi serangan penyakit (sebagai antibakteri) dan antivirus bagi tanaman. Para peneliti lain juga menyatakan pendapat sehubungan dengan mekanisme kerja dari flavonoid dalam menghambat pertumbuhan bakteri, antara lain bahwa flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri. Didukung juga dengan penelitian yang mendapatkan bahwa flavonoid mampu menghambat motilitas bakteri (Darsana dkk, 2012).

2.2.6.3 Tanin

Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri menurut Naim (2004) berhubungan dengan kemampuan tanin dalam menginaktivasi adhesin sel bakteri (molekul yang menempel pada sel hospes) yang terdapat pada permukaan sel, enzim yang terikat pada membran sel dan polipeptida dinding sel. Tanin yang mempunyai target pada polipeptida dinding sel akan menyebabkan kerusakan pada dinding sel, karena tanin merupakan senyawa fenol. Terjadinya kerusakan pada dinding sel bakteri menyebabkan sel bakteri tanpa dinding yang disebut protoplasma. Kerusakan pada dinding sel bakteri akan menyebabkan kerusakan membran sel yaitu hilangnya sifat permeabilitas membran sel, sehingga keluar masuknya zat-zat antara lain air, nutrisi, enzim-enzim tidak terseleksi. Apabila enzim keluar dari dalam sel, maka akan terjadi hambatan metabolisme sel dan selanjutnya akan mengakibatkan terhambatnya pembentukan ATP yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan

sel. Bila hal ini terjadi, maka akan terjadi hambatan pertumbuhan bahkan kematian sel (Hayati dkk, 2009). Selain itu, tanin juga dapat menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Nuria dkk, 2009).

Daun turi merah mengandung jenis tanin yang terkondensasi yaitu tanin yang merupakan polimer senyawa flavonoid dengan ikatan karbon-karbon (Jayanegara dan Sofyan, 2008). Tanin dapat larut pada pelarut organik seperti etanol dan air (Pansera *et al*, 2004).

2.3 Bahan Antibakteri

2.3.1 Definisi Ekstrak dan Simplisia

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Padilah, 2009).

Simplisia merupakan istilah yang dipakai untuk menyebut bahan-bahan obat alam yang berada dalam wujud aslinya atau belum mengalami perubahan bentuk. Pengertian simplisia menurut Departemen Kesehatan RI adalah bahan alami yang digunakan untuk obat dan belum mengalami perubahan proses apa pun, dan kecuali dinyatakan lain umumnya berupa bahan yang telah dikeringkan (Gunawan dan Mulyani, 2004).

2.3.2 Ekstraksi

Ekstraksi atau penyarian merupakan pemindahan massa zat aktif yang semula berada dalam sel, ditarik oleh cairan penyari tertentu sehingga terjadi zat

aktif dalam cairan penyari. Metode penyarian yang digunakan tergantung pada wujud dan kandungan zat dari bahan yang akan diuji. Terdapat dua pembagian metode ekstraksi, yaitu (BPOM, 2010):

1. Cara dingin

- a. Maserasi

Maserasi adalah proses pengestraksi simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali mengocokkan pada temperatur ruangan (kamar). Cairan penyari yang digunakan dapat berupa air, metanol, etanol, etanol-air atau pelarut lainnya. Remaserasi dilakukan apabila diperlukan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat yang pertama, dan seterusnya. Keuntungan metode ini adalah pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana, serta perusakan zat aktif yang tidak tahan panas dapat dihindari.

- b. Perkolasi

Perkolasi adalah metode ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna yang dilakukan pada temperatur kamar (ruangan). Tahap dalam proses perkolasi yaitu penetesan terus menerus sampai diperoleh ekstrak 1-5 kali bahan awal.

2. Cara panas

- a. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu yang ditentukan dan jumlah pelarut terbatas relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

b. Sokhletasi

Sokhletasi adalah ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang biasanya dilakukan dengan alat khusus, sehingga terjadi ekstraksi berulang dan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

c. Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama dan pada temperatur sampai titik didih air, yaitu selama 30 menit dengan suhu 90-100° C.

d. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan berulang) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan, yang umumnya dilakukan pada temperatur 40-50° C.

2.3.3 Larutan Penyari

Sistem pelarut dalam ekstraksi dipilih berdasarkan kemampuannya dalam melarutkan jumlah yang maksimal dari zat aktif dan seminimum mungkin bagi unsur yang tidak diinginkan. Larutan penyari yang baik harus memenuhi kriteria: murah, mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, selektif yaitu hanya menarik zat berkhasiat yang dikehendaki dan tidak mempengaruhi zat aktif (Puryanto, 2009).

Air sebagai cairan penyari kurang menguntungkan karena zat lain yang mengganggu proses pembuatan sari seperti gom, pati, protein, lemak, enzim, dan lendir akan ikut tersari. Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kurkumin, kumarin, antraknon, flavonoid, steroid, damar, klorofil, tanin dan saponin. Etanol digunakan sebagai penyari karena lebih selektif, kapang dan bakteri sulit tumbuh dalam etanol, tidak beracun, netral,

absorbsinya baik, panas untuk pemekatan sedikit, dan mudah bercampur dengan air (Kurnia, 2012).

Pada umumnya sifat dari bahan pelarut yang menggunakan alkohol dan turunannya semakin panjang rantai karbon maka semakin tinggi daya toksisitasnya. Tetapi ada pengecualian dalam teori ini ialah metanol lebih toksik daripada etanol. Etanol adalah bahan cairan yang telah lama digunakan sebagai obat, dan merupakan bentuk alkohol yang terdapat dalam minuman keras seperti bir, anggur, whiskey maupun minuman lainnya. Etanol merupakan cairan yang jernih tidak berwarna, terasa membakar pada mulut maupun tenggorokan bila ditelan. Etanol bersifat lebih non polar daripada metanol sehingga lebih mudah larut dalam air. Namun, etanol memiliki potensi untuk menghambat sistem saraf pusat terutama dalam aktifitas sistem retikular. Aktifitas dari etanol sangat kuat dan setara dengan bahan anestetik umum. Tetapi toksisitas etanol relatif lebih rendah daripada metanol ataupun isopropanol, sehingga dapat dikatakan bahwa etanol merupakan bahan pelarut yang paling aman dibandingkan dengan derivat alkohol yang lain. Etanol lebih bersifat universal terhadap berbagai macam zat aktif. (Darmono, 2003; Silalahi, 2010).

2.3.4 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Turi Merah

1. Menyiapkan daun turi merah, dipilih daun yang segar dan tidak layu
2. Kemudian menjemur daun turi merah dibawah sinar matahari atau apabila belum kering sempurna dapat dilanjutkan dengan dioven pada suhu 30°C sampai daun benar-benar mengering
3. Setelah kering, daun tersebut dihaluskan dengan menggunakan blender kering sampai terbentuk simplisia kering .
4. Menimbang bahan kering sejumlah 100 gram

5. Memasukkan bahan kering ke dalam tabung *Erlenmeyer* ukuran 1 liter
6. Merendam bahan kering dengan ditambah larutan etanol 96% dengan volume 900 ml dan mengocoknya sampai benar-benar tercampur $\pm$ 30 menit
7. Mendinginkan selama 12-24 jam sampai mengendap
8. Mengambil cairan bagian atas pada campuran etanol 96% dengan zat aktif yang telah larut.
9. Memasukkan ke dalam labu evaporasi pada evaporator.
10. Mengisi *water bath* dengan air sampai penuh.
11. Memasang semua rangkaian alat, termasuk *rotator evaporator*, pemanas *water bath* (diatur sampai 90°C, sesuai titik didih etanol sebesar 78,5°C) dan menyambungkan dengan aliran listrik.
12. Membiarkan larutan etanol memisah dengan zat aktif yang sudah ada dalam labu.
13. Hasil penguapan etanol dikondensasikan menuju labu penampung etanol sehingga tidak tercampur hasil evaporasi dan uap lain tersedot pompa vakum.
14. Proses evaporasi dilakukan hingga volume hasil ekstraksi berkurang dan menjadi kental. Setelah kental evaporasi dihentikan dan hasil evaporasi diambil. Hasil evaporasi ditampung dalam cawan penguap kemudian di oven selama 2 jam pada suhu 80°C untuk menguapkan pelarut yang tersisa sehingga didapatkan hasil ekstrak 100%. Kemudian hasilnya dimasukkan dalam botol plastik dan disimpan di dalam *freezer* (Singh, 2008).

2.3.5 Uji Sensitivitas Bakteri terhadap Antibakteri

Secara *in vitro* uji antibakteri biasanya digunakan beberapa macam metode, diantaranya *tube dilution test*, *agar dilution test*, dan *disk diffusion test* (Jorgensen, 2009).

2.3.5.1 Tube Dilution Test

Pada prinsipnya, tes ini dikerjakan dengan menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi media cair dan sejumlah tertentu bakteri yang diuji. Kemudian masing-masing tabung diisi dengan obat yang telah diencerkan secara serial. Selanjutnya, seri tabung diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan diamati terjadinya kekeruhan pada tabung. Konsentrasi terendah obat pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan bakteri) adalah KHM (Kadar Hambat Minimal) dari obat. Selanjutnya biakan dari semua tabung yang jernih diinokulasikan pada media agar, diinkubasikan dan keesokan harinya diamati ada tidaknya koloni bakteri yang tumbuh. Konsentrasi terendah obat pada biakan padat yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri adalah KBM (Kadar Bunuh Minimal) dari obat terhadap bakteri uji (Dzen, dkk, 2010). Selain itu ada satu tabung yang hanya diisi bahan aktif tanpa bakteri yang disebut sebagai kontrol bahan dan satu tabung yang hanya diisi bakteri biakan yang disebut sebagai kontrol bakteri yang nantinya akan digunakan sebagai pembanding (Forbes *et al*, 2007).

2.3.5.2 Agar Dilution Test

Agar dilution test dianggap sebagai standar emas untuk semua metode pengujian sensitivitas pada bakteri dibandingkan dengan metode yang lainnya.

Hal ini tentu sangat penting untuk dapat mempersiapkan agar pada cawan petri sedemikian rupa sehingga konsentrasi antibakteri yang diperoleh dalam cawan petri persis atau sangat dekat dengan konsentrasi yang diinginkan (Hendriksen, 2003).

Pada metode ini, bahan antibakteri yang sudah diencerkan secara serial dicampurkan ke dalam medium agar yang masih cair (tetapi tidak terlalu panas) kemudian agar dibiarkan memadat, selanjutnya agar yang sudah mengandung antibakteri diinokulasi dengan bakteri dengan konsentrasi 1×10^4 CFU/ml. Antibakteri dan bakteri ditanamkan pada media agar padat ditambah 1 kontrol tanpa disertai antibakteri. Dengan metode ini, dapat diuji satu atau lebih bakteri terisolasi untuk setiap cawan dengan satu konsentrasi antibakteri. Selanjutnya, diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Setelah di inkubasi, cawan diamati KHM pertumbuhan bakteri (Forbes *et al*, 2007).

2.3.5.3 Disk Diffusion Test

Metode ini dikerjakan dengan menggunakan cakram kertas saring. Cakram kertas saring yang mengandung obat tertentu, ditempatkan di atas permukaan medium padat yang telah diinokulasi pada permukaan dengan bakteri uji (Brooks *et al*, 2008). Cakram kertas saring tersebut ditanam pada media perbenihan agar padat yang telah dicampur dengan bakteri yang diuji, kemudian diinkubasikan 37°C selama 18-24 jam. Selanjutnya diamati adanya area (zona) jernih disekitar cakram kertas yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri (Dzen dkk, 2010).

Untuk menginterpretasikan hasil uji sensitivitas bakteri terhadap obat tersebut, menurut Dzen dkk (2010) dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu :

1. Cara Kirby Bauer, yaitu dengan cara membandingkan diameter area jernih di sekitar cakram dengan tabel standar yang dibuat oleh NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standard*) sehingga dapat diketahui kriteria sensitif, sensitif intermediet, dan resisten.
2. Cara Joan – Stokes, yaitu yaitu dengan cara membandingkan radius zona hambatan yang terjadi antara bakteri kontrol yang sudah diketahui kepekaannya terhadap obat tersebut dengan isolat bakteri yang diuji. Pada cara ini, prosedur uji sensitivitas untuk bakteri kontrol dan bakteri uji, dilakukan bersamaan dalam satu cawan agar.

