

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Salmonella Typhimurium*

Salmonellae Typhimurium adalah bakteri basil Gram negatif yang termasuk dalam famili Enterobacteriaceae. Bakteri ini merupakan mikroba fakultatif anaerob dan dapat diisolasi pada laboratorium mikrobiologi dengan menggunakan beberapa media pertumbuhan, diantaranya media *low-selective* (*MacConkey*, deoxycholate agar), *intermediate selective* (*Salmonella-Shigella* [SS] agar, Hektoen [HE] agar) dan *highly selective* (*bismuth sulfite agar* (BSA), *selenite agar* dengan *brilliant green*). *Salmonella Typhimurium* merupakan bakteri oksidase-negatif dan tidak memfermentasikan laktosa (sehingga tidak menimbulkan warna merah muda pada agar *MacConkey*) dan memproduksi hidrogen sulfida (dideteksi dengan HE, SS maupun BSA) (Klocho dan Wallace, 2011)



Gambar 2.1 Bakteri *Salmonella Typhimurium*. Bakteri ini berbentuk basil (batang) dan bersifat Gram negatif(CDC,2012)

2.1.1 Klasifikasi *Salmonella Typhimurium*

Kingdom	: Bakteria
Divisi	: Proteobacteria
Kelas	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Salmonella</i>
Spesies	: <i>Salmonella Typhimurium</i>

Salmonella Typhimurium mampu memfermentasikan dextrose, maltose dan manitol dengan menghasilkan H₂S dan gas, namun tidak dapat memfermentasikan sukrosa dan laktosa (Hossain, 2002). Bakteri ini akan bernilai negatif pada tes Indol, Voges Proskauer dan urease; dan memberikan hasil positif pada *methyl red*, *citrate* dan *motility test*. Jika ditanam pada medium *Bismuth Sulfite Agar* (BSI), maka akan terjadi reaksi antara ferrosulfat, bismuth sulfit pada medium dengan H₂S yang dihasilkan oleh bakteri sehingga menimbulkan koloni yang berwarna hitam (*black jet colony*) dan memiliki bright sheen. Sedangkan pada medium *MacConkey*, koloni *Salmonella Typhimurium* akan muncul *colorless* atau kuning pucat.

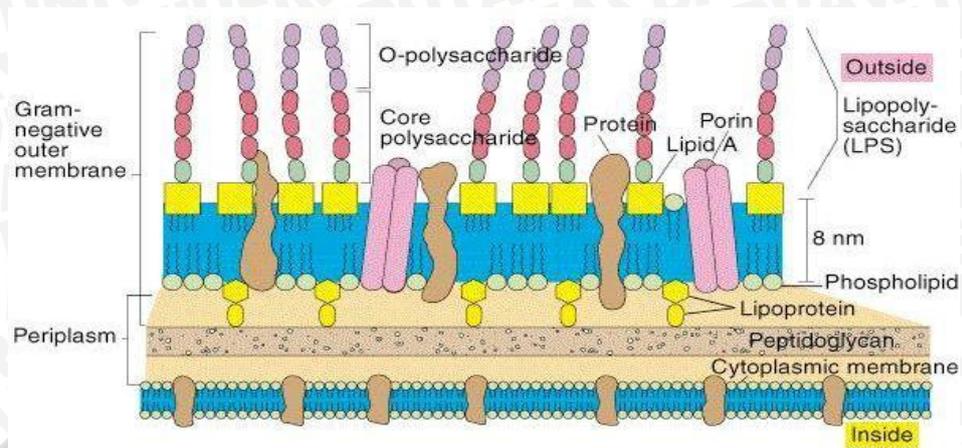
2.1.2 Taksonomi

Taksonomi *Salmonella* kompleks, karena perkembangan dan penggunaan beberapa nomenklatur yang berbeda selama bertahun-tahun. Skema antigenik Kauffman-White memberikan lebih dari 2000 spesies melalui kombinasi perbedaan antigen somatic O, antigen permukaan Vi dan antigen *flagellar* H. Ewing *et al.* mengusulkan hanya ada tiga tipe spesies *Salmonella*, yaitu *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella enteritidis*, dan *Salmonella typhi*. Semua spesies

atau serotipe lain dimasukkan sebagai serotipe dari *Salmonella enteritidis*. Menurut skema ini, *Salmonella* Typhimurium dari Kauffman-White menjadi *Salmonella enteritidis* serotipe Typhimurium.

Sistem CDC tahun 2000 mengklasifikasikan *Salmonella* berdasarkan variasi karakteristik biokimia dan hasil hibridisasi DNA-DNA, genus *Salmonella* dibagi menjadi 2 spesies, yaitu *Salmonella enterica* dan *Salmonella bongori*. *Salmonella enterica* dibagi menjadi 6 subspecies, yaitu, *S. enterica* subsp. *enterica* (subspecies I), *S. enterica* subsp. *salamae* (subspecies II), *S. enterica* subsp. *arizonae* (subspecies IIIa), *S. enterica* subsp. *diarizonae* (subspecies IIIb), *S. enterica* subsp. *houtenae* (subspecies IV), and *S. enterica* subsp. *indica* (subspecies VI) (Evins *et al.*, 1989).

CDC menggunakan istilah serotipe pada subspecies 1, misalnya serotipe Enteritidis, Typhimurium, Typhi dan Choleraesuis. Sedangkan untuk subspecies II, IV, dan VI and in *S. bongori* menggunakan formula antigenik. Pemberian nama serotipe harus ditulis mengikuti kata serotipe atau ser, tidak ditulis dengan huruf miring, tetapi huruf pertama ditulis dengan huruf kapital, misalnya *Salmonella* serotipe atau ser. Typhi. Namun, sekarang penamaannya lebih dipersingkat dengan tanpa menuliskan kata serotipe, dengan nama *Salmonella* ditulis miring dan jenis serotipenya ditulis cetak diawali dengan huruf kapital. Misal *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Typhi (Brenner *et al.*, 2000).



Gambar 2.2 Struktur Dinding Bakteri Gram Negatif

2.1.3 Penentu Patogenisitas

Secara garis besar, faktor virulensi *Salmonella* terdiri dari antigen permukaan (*surface antigen*), faktor-faktor yang berperan pada invasi, endotoksin, sitotoksin, dan enterotoksin. *Salmonella* Typhimurium menyebabkan sindroma yang mirip dengan demam tifoid pada sel hospes alamiahnya mencit, tetapi pada manusia hanya menimbulkan gastroenteritis yang sembuh spontan (Dzen *et al.*, 2003). Pada mencit, *Salmonella* Typhimurium menyebar secara sistemik melalui sirkulasi. Infeksi sistemiknya menyebabkan terjadinya perubahan patologis serta berkumpulnya bakteri di jaringan seperti di Peyer's patches, nodus limfe mesenterik, hati dan limpa. Distribusi bakteri secara sistemik ini mirip dengan mekanisme infeksi *Salmonella* Typhi pada manusia dengan disertai proses bakteremia. Berbeda dengan infeksi *Salmonella* Typhimurium pada manusia yang hanya bersifat lokal di usus dan nodus limfe, sedangkan bakteremia jarang terjadi (Hohmann, 2001).

2.1.3.1 Antigen Permukaan

Salmonella memiliki dua antigen utama yaitu antigen O somatik pada dinding selnya dan antigen H flagelar.

Antigen somatik atau antigen dinding sel adalah antigen yang tahan terhadap panas serta resisten terhadap alkohol. Lipopolisakarida (LPS) merupakan komponen utama dinding sel bakteri. LPS berperan dalam menjaga permeabilitas membran serta membantu bakteri beradaptasi terhadap perubahan lingkungan luar (Raetz and Whitfield, 2002). Selain itu, LPS juga berperan dalam adhesi sel, kolonisasi organ maupun resistensi terhadap komponen efektor beberapa antimikroba. LPS terdiri dari antigen O yang berfungsi melindungi bakteri dari *complement* dalam tubuh, deterjen dan antibiotik. Antigen O ini akan menginduksi respon imunitas adaptif dalam tubuh. Selain terdiri dari antigen O, LPS juga terdiri dari endotoxin lipid A. Lipid A dapat dikenali oleh Toll-like receptor 4 (TLR-4) yang menginduksi respon imunitas alamiah (Hoshino *et al.*, 1999).

Sebagian besar strain *Salmonella* bergerak dengan menggunakan flagella. Antigen *flagellar* (H) adalah protein yang tidak tahan terhadap pemanasan. Jika diberi antisera yang spesifik terhadap flagella maka bakteri akan mengalami aglutinasi dan menghambat pergerakannya. Antigen H dapat muncul sebagai salah satu dari fase antigenik mayor yaitu fase-1 yang merupakan fase spesifik; atau fase-2 yang merupakan fase nonspesifik. Antigen *flagellar* (H) *Salmonella* Typhimurium memiliki 2 fase, yang disebut i dan 1,2 (Dzen, *et al.* 2003).

Keberadaan fimbria tipe -1 atau *mannose-binding fimbriae* telah ditunjukkan oleh beberapa *Salmonella*. Namun demikian, organisme yang memiliki fimbria ini hanya sedikit lebih virulen daripada organisme yang tidak memiliki fimbria tipe-1 (Dzen *et al.*, 2003).

Pada *Salmonella* Typhimurium, selain fimbria tipe-1 ada tiga macam fimbria lain yang telah diketahui yaitu *plasmid encoded (PE) fimbriae*, *long polar (LP) fimbriae* dan *thin aggregative fimbriae*. Telah dibuktikan bahwa *multiple fim-*

brial adhesin ini diperlukan sebagai faktor virulensi utuh dari *Salmonella* Typhimurium pada mencit (Dzen *et al.*, 2003).

2.1.3.2 Daya Invasi

Salmonella Typhimurium yang virulen bisa menembus lapisan epitel usus halus bahkan sampai mampu mengadakan penetrasi ke jaringan subepitelial. Bukti-bukti baru menunjukkan bahwa organisme ini menyintesis protein baru bila ditumbuhkan bersama-sama sel mamalia dan protein baru ini diperlukan untuk perlekatan dan penetrasi pada sel mamalia tersebut. (Dzen *et al.*, 2003).

Apabila bakteri telah mencapai epitel, maka mulai terjadi degenerasi *brush border* dan *ruffling* pada membran sel. Selanjutnya, akan terjadi proses internalisasi bakteri dan terbentuknya *Salmonella containing vacuole*. Kemudian bakteri akan berpenetrasi melewati sel epitel masuk ke lamina propria. Kadang-kadang penetrasi ini terjadi pada *interceluler junction*. Setelah penetrasi, organisme akan mengadakan perkembangbiakan dan menyebar ke bagian tubuh yang lain. Hal ini akan menyebabkan kerusakan mukosa dan mikrovili di terminal ileum dan colon. Kerusakan ini kemudian akan memicu infiltrasi sel-sel netrofil pada area yang terinfeksi, namun hal ini malah memperparah kerusakan mukosa sehingga mukosa kehilangan fungsi penyerapannya dan menyebabkan diare pada penyakin gastroenteritis (Dzen *et al.*, 2003).

2.1.3.3 Endotoksin

Endotoksin berperan pada patogenesis infeksi *Salmonella*, selama stadium bakteremia dari demam tifoid. Dalam hal ini, endotoksin bertanggung jawab atas terjadinya demam yang tampak pada penderita penyakit ini. Endotoksin (senyawa LPS) dalam aliran darah pada awalnya berikatan dengan protein tertentu dalam sirkulasi, kemudian mengadakan interaksi dengan reseptor pada

makrofag dan monosit serta sel-sel RES. IL-1, TNF dan sitokin yang lain dilepaskan, serta komplemen dan rangkaian koagulasi diaktifkan. Secara klinis atau eksperimental dapat diamati gejala-gejala sebagai berikut: demam, leukopenia dan hipoglikemia; hipotensi dan syok sebagai akibat gangguan perfusi organ-organ vital (misalnya otak, jantung, ginjal), koagulasi intravaskuler, dan terjadinya kematian disebabkan disfungsi organ yang berlebihan (Dzen *et al.*, 2003).

2.1.3.4 Enterotoksin

Enterotoksin pada serotipe Typhimurium menyebabkan ileitis berat pada hewan coba. Hal ini tidak terjadi pada serotipe yang lain. Enterotoksin menyebabkan pengeluaran berlebihan cairan ke dalam lumen usus yang akan memperparah diare dan muntah. Selain enterotoksin, *Salmonella* Typhimurium juga menghasilkan sitotoksin yang penting dalam proses invasi dan pertahanan terhadap destruksi seluler (Dzen *et al.*, 2003).

2.1.4 Manifestasi Klinis

Salmonella Typhimurium pada manusia sering menyebabkan penyakit gastroenteritis. Gejala gastroenteritis berupa mual, muntah, diare, kram perut, sakit kepala dan demam mencapai suhu 39°C yang terjadi selama 4-7 hari. Biasanya penyakit ini dapat sembuh spontan dengan rehidrasi yang cukup. Namun dalam keadaan yang parah atau pada bayi berumur kurang dari 3 bulan dan pasien beresiko tinggi (imunokompromise atau mengidap *sickle cell anemia*) perlu diberikan antibiotik (Zhang *et al.*, 2003). Sedangkan *Salmonella* Typhimurium pada mencit dapat menyebabkan penyakit demam tifoid. Demam tifoid pada mencit dianalogikan serupa dengan gejala demam tifoid pada manusia sehingga *Salmonella* Typhimurium sering dijadikan model penelitian *Salmonella* Typhi untuk pembuatan vaksin demam tifoid.

Masa tunas demam tifoid berlangsung antara 10-14 hari. Gejala-gejala klinis yang timbul sangat bervariasi dari ringan sampai dengan berat, dari asimtomatik hingga gambaran penyakit yang khas disertai komplikasi hingga kematian (Sudoyo *et al.*, 2009). Pada minggu pertama gejala klinis penyakit demam tifoid ditemukan keluhan dan gejala serupa dengan penyakit infeksi akut pada umumnya, yaitu demam, nyeri kepala, pusing, nyeri otot, anoreksia, mual, muntah, obstipasi atau diare, perasaan tidak enak di perut, batuk dan epistaksis. Pada pemeriksaan fisik hanya didapatkan suhu badan yang meningkat. Sifat demam adalah meningkat perlahan-lahan dan terutama pada sore hingga malam hari. Dalam minggu kedua gejala-gejala menjadi lebih jelas berupa demam, bradikardi relatif (peningkatan suhu 1°C tidak diikuti peningkatan denyut nadi 8 kali per menit), lidah yang berselaput (kotor di tengah, tepi dan ujung merah serta tremor), hepatomegali, splenomegali, meteroismus, gangguan mental berupa somnolen, stupor, koma, delirium atau psikosis. Roseole jarang ditemukan pada orang Indonesia (Sudoyo *et al.*, 2009).

2.2 Uji Kepekaan Terhadap Antibakteri In Vitro

Uji kepekaan bakteri terhadap obat-obatan secara in vitro bertujuan untuk mengetahui obat antimikroba yang masih dapat digunakan untuk mengatasi infeksi oleh mikroba tersebut. Uji kepekaan terhadap obat antimikroba pada dasarnya dapat dilakukan melalui dua cara, yaitu: metode dilusi dan metode difusi cakram (Dzen dkk, 2003).

2.2.1 Metode Dilusi

Cara metode ini digunakan untuk menentukan KHM (kadar hambat minimal) dan KBM (kadar bunuh minimal) dari obat antimikroba (Dzen dkk, 2003).

Prinsip dari metode dilusi menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi media cair dan jumlah tertentu sel mikroba 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 mikroba) adalah KHM dari obat. Selanjutnya biakan dari semua tabung yang jernih diinokulasikan pada media agar padat, diinkubasikan dan keesokan harinya diamati ada tidaknya koloni mikroba yang tumbuh. Konsentrasi terendah obat pada biakan padat yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni mikroba adalah KBM dari obat terhadap bakteri uji (Dzen dkk, 2003).

Selain itu ada metode lain yang digunakan jika nilai KHM tidak dapat ditentukan dengan metode dilusi tabung, yaitu dengan metode dilusi agar. Metode ini menggunakan plate yang berisi medium agar padat yang kemudian dicampur dengan obat. Kemudian pada plate tersebut akan ditetesi bakteri dengan konsentrasi 10^4 CFU/ml. Plate diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan kemudian dihitung jumlah koloninya. Konsentrasi terendah obat pada plate yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri disebut dengan KHM dari obat.

2.2.2 Metode Difusi Cakram

Prinsip dari metode difusi cakram adalah sebagai berikut : obat dijenuhkan ke dalam kertas saring (cakram kertas). Cakram kertas yang mengandung obat tertentu ditanam pada media perbenihan agar padat yang telah dicampur dengan mikroba yang diuji, kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Selanjutnya diamati adanya area (zona) jernih di sekitar cakram kertas yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan mikroba (Dzen dkk, 2003).

Untuk mengevaluasi hasil uji kepekaan tersebut, dapat dilakukan dua cara seperti berikut ini :

- **Cara Kirby Bauer**, yaitu dengan cara membandingkan diameter dari area jernih (zona hambatan) di sekitar cakram dengan tabel standar yang dibuat oleh NCCLS (*'National Committee for Clinical Laboratory Standard'*). Dengan tabel NCCLS ini dapat diketahui criteria sensitif, sensitive intermediet dan resisten (Dzen dkk, 2003).
- **Cara Joan-Stokes**, yaitu dengan cara membandingkan radius zona hambatan yang terjadi antara bakteri control yang sudah diketahui kepekaannya terhadap obat tersebut dengan isolasi bakteri yang diuji. Pada cara Joan-Stokes, prosedur uji kepekaan untuk bakteri control dan bakteri uji dilakukan bersama-sama dalam satu piring agar (Dzen dkk, 2003).

2.3 Kunyit Kuning (*Curcuma domestica*)

2.3.1 Klasifikasi

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledonae
Ordo	: Zingiberales
Famili	: Zingiberaceae
Genus	: Curcuma
Spesies	: <i>Curcuma domestica</i> .

(Linnaeus dalam Winarto, 2003)

Tanaman kunyit mempunyai nama lain yang cukup banyak antara lain: *Curcuma longa* Linn., *Curcuma domestica* Rump., dan *Curcuma longa* Auct (Wijayakusuma *et al.*, 1992). Sedangkan nama farmasi simplisia tanaman ini adalah *Curcuma domestica* Rhizome. Tanaman kunyit mempunyai kurang lebih 47 genus dan 1400 jenis yang tersebar di daerah tropis dan subtropis, genus zingiber sendiri meliputi 80 jenis (Taryono, 2001). Di Indonesia, kunyit memiliki berbagai macam nama daerah diantaranya kunyit (Melayu), kunyet (Aceh), kuning (Gayo), hunik (Batak), undre (Nias), kakunye (Enggano), kunyir (Lampung), kunyir, koneng (Sunda), kunir, kunir bentis, temu kuning (Jawa), keunyi (Sawu), koneh, kuneh, guni (Flores), kuma (Solor), kumeh (Alor), kunik (Roti), hunik, kunir (Timor), huminu, unin, unina, uninun (Ambon), kuriai (Leti), lulumalai (Babar), uiin (Tanimbar), unin, kunin (Seram), hunir, hunida, holawak, hur (Sulawesi Utara), uinida (Talaud), kuni (Sangir), guraci (Ternate), gurai (Halmahera), alawahu (Gorontalo), pagidon (Toli-Toli), uni, huni (Toraja), kuni (Mandar), kunyi (Makasar, Selayar), unyi (Bugis), rame (Kapaur, Irian), kandeifa (Nufor, Irian), nikwai (Wandani, Irian), mingguai (Wandamen, Irian), yaw (Arso, Irian). Sedangkan di Inggris, kunyit dikenal dengan nama *turmeric*, *curcuma*, *yellow ginger* dan *Indian saffron*.

2.3.2 Morfologi dan Ekologi

Tanaman kunyit merupakan tanaman menahun, tinggi dapat mencapai 100 cm. Batang semu, tegak dan bulat, berwarna hijau agak keunguan, dengan pangkal batang membentuk rimpang. Daun tunggal 3-8 helai, helai daun membentuk lanset memanjang, ujung dan pangkal daun meruncing, tepi rata, panjang 20-40 cm, lebar 8-12,5 cm, pertulangan menyirip, berwarna hijau atau keunguan di dekat ibu tulang daun (Syukur & Hermani, 2002).

Menurut Yuniati *et al.* (2001) bunga tanaman kunyit tegak dan berbentuk paku besar yang muncul diantara pelepah daun, berbulu lebat yang ditutupi oleh pelepah yang akan tumbuh. Bunganya silindrikal berukuran 5-20 cm dan 3-7,5 cm. Setiap bunganya mempunyai tiga lembar kelopak bunga, tiga lembar tajuk bunga dan empat helai benang sari. Salah satu dari ke empat benang sari itu berfungsi sebagai alat pembiakan sedang tiga helai lainnya berubah bentuk menjadi daun bunga.

Rimpang adalah bagian utama dari tanaman kunyit, yang juga merupakan tempat tumbuhnya tunas. Rimpang ini tumbuh menjalar, umbi utama berbentuk elips, sebesar 5-8 cm dengan tebal 1,5 cm. Berdasarkan bentuk fisiknya, rimpang kunyit digolongkan dalam tiga bentuk yaitu fingers, bulbs dan splits. Fingers artinya rimpang cabang yang panjangnya seperti jari antara 2,5-7,5 cm dan diameter sekitar 1 cm atau lebih. Biasanya digunakan sebagai bumbu karena baunya yang sedap dan tidak pahit. Bulbs artinya rimpang yang bulat, pendek dengan diameter lebih besar dibandingkan fingers. Biasanya digunakan sebagai zat warna dan obat-obatan karena rasanya yang pahit. Splits merupakan potongan dari fingers dan bulbs, digunakan untuk membuat bubuk dari kunyit. Untuk keperluan bumbu orang-orang memilih umbi samping yang kecil, sedangkan umbi-umbi induknya digunakan untuk obat. Umbi induk jika diiris berwarna jingga dan mengandung banyak minyak (Taryono, 2001).

Mutu dari Splits, fingers, dan bulbs dinilai berdasarkan kehalusan permukaan rimpang, kekerasan, warna bagian tengah rimpang, rasa, aroma serta kadar air. Rimpang yang baik berwarna kuning tua sampai jingga, tidak terlalu putih, keras, mudah dipatahkan, baunya tajam serta kadar airnya rendah (Taryono, 2001).

Menurut Yuniati *et al.* (2001) tanaman kunyit dapat beradaptasi dengan baik di daerah tropik dan sub-tropik dengan curah hujan 1000-2000 mm/tahun atau dengan irigasi. Ketinggian yang baik untuk pertumbuhan adalah 450-900 m. Tanaman ini membutuhkan kondisi yang hangat dan lembab, dengan suhu optimum 30-35 0C. Tanah yang cocok untuk tanaman kunyit adalah tanah lempung berpasir yang mengandung cukup organik dengan pH tanah 5-7,5.



Gambar 2.3 Tanaman dan Rimpang Kunyit (Tanaman Sehat, 2011)

2.3.3 Kandungan Kimia Rimpang Kunyit

Menurut Yuniati *et al.* (2001) komposisi kimiawi rimpang kunyit adalah karbohidrat (69,4%) yang unsur utamanya adalah tepung, protein (6,3%), lemak (5,1%), mineral (3,5%), air (13,1%), serat (2-7%), asam askorvik (2,5%), dan kurkuminoid (3-5%). Kurkuminoid terdiri dari kurkumin (49,6%), desmetoksikurkumin (28,7%) dan bis-demetoksikurkumin (22,3%). Persentase ketiga senyawa kurkuminoid ini dipengaruhi oleh faktor umur rimpang, daerah dan tempat tumbuh, proses pengeringan dan lama penyimpanan.

Kurkumin merupakan zat pemberi warna jingga kekuningan pada kunyit, yang mempunyai rumus kimia $C_{21}H_{20}O_6$ (Biswas, 2004; Yuniati *et al.*, 2001). Kur-

kumin berupa serbuk kristal yang mempunyai sifat yang tidak mudah menghilang dengan pemanasan dan tidak larut dalam air tapi larut dalam larutan alkali dan agak larut dalam eter dan asam asetat pekat (Taryono, 2001).

Dalam penyulingan uap rimpang kunyit mengandung minyak atsiri (5,8%) yang terdiri dari α -pelandren (1%), sabinen (0,6%), cineol (1%), borneol (0,5%), zingiberen (25%), dan seskuiterpen (53%). Minyak atsiri inilah yang menentukan aroma dan cita rasa dari kunyit. Minyak atsiri berwujud cairan kental yang mempunyai sifat mudah menguap pada suhu ruangan dan dengan pemanasan (Yuniati *et al.*, 2001).

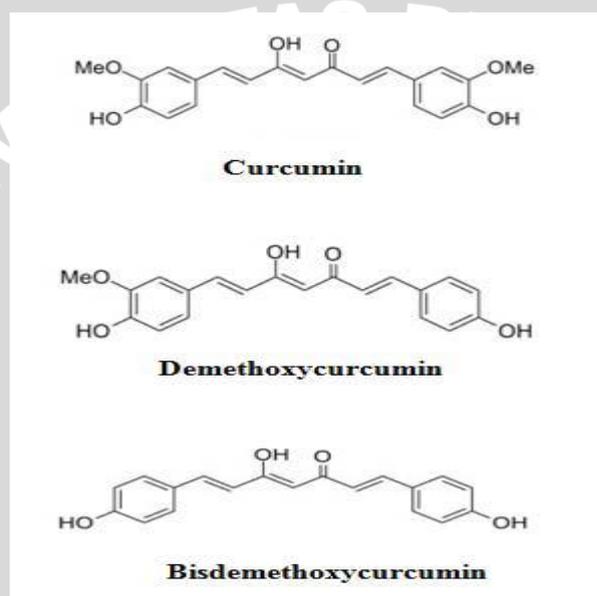
Kandungan kimia utama rimpang kunyit adalah kurkumin dan desmetoksikurkumin, yaitu suatu bahan aktif berwarna kuning yang menjadi bahan dasar pembuatan obat-obat modern untuk anti asma, anti inflamasi, dan menurunkan kolesterol (Santosa & Gunawan, 2003).

Curcuminoid adalah suatu senyawa polifenol yang memiliki 2 bentuk tautomerik, yaitu keto dan enol. Bentuk keto tampak pada fase solid dan bentuk enol tampak pada fase cairan. *Curcuminoid* memiliki aktivitas berspektrum luas antara lain antihepatotoksik, antibakteri, antioksidan, antitumor promoter, antiradang, dan antivirus (Riwan, 2008 dalam Sari, 2010). Senyawa ini sukar larut dalam larutan asam dan pH normal, namun dapat dihidrolisis dengan cepat pada larutan basa. Selain itu, *Curcuminoid* juga larut dalam dimethyl sulfoxida (DMSO), aseton dan etanol. Namun, akan membusuk jika terpapar cahaya terang, temperature tinggi atau kondisi oksidatif.

Kunyit terdiri dari tiga senyawa kurkuminoid, yaitu kurkumin (diferuloylmetane), demetoksikurkumin dan bisdemetoksikurkumin (Gambar 2.5). Kurkumin adalah kandungan senyawa terbanyak dalam *curcuminoid*, dan merupakan ba-

han aktif utama yang didapat dari rimpang kunyit. Jumlah senyawa kurkumin dalam *curcuminoid* mencapai 70-75%, demetoksikurkumin 15-20%, dan bisdemetoksikurkumin hanya 3% (Nutrasanus, 2004 dalam Sari 2010).

Kurkumin tidak larut dalam air dan eter namun larut dalam ethanol, dimethylsulfoxide, dan pelarut organik lainnya. Titik cair 183°C dan memiliki berat molekul 368.37.



Gambar 2.4 Struktur Kimia Kurkumin, Demethoxykurkumin dan Bis-Demethoxykurkumin

Flavonoid pada kunyit merupakan senyawa polar sehingga flavonoid dapat larut dalam pelarut polar seperti etanol, methanol, aseton, dimetil sulfoksida (DMSO), dimetil fonfamida (DMF), dan air (Chusni dan Lamb, 2005). Flavonoid adalah golongan senyawa bahan alam dari senyawa fenolik yang banyak merupakan pigmen tumbuhan. Saat ini lebih dari 6.000 senyawa yang berbeda masuk ke dalam golongan flavonoid. Flavonoid merupakan bagian penting dari diet manusia karena banyak manfaatnya bagi kesehatan. Manfaat kebanyakan flavonoid dalam tubuh manusia adalah sebagai anti oksidan sehingga sangat baik untuk pencegahan kanker. Manfaat lain flavonoid adalah untuk melindungi struktur sel,

memiliki hubungan sinergis dengan vitamin C (meningkatkan efektivitas vitamin C), anti inflamasi, mencegah keropos tulang, dan sebagai antibiotik (Chusni dan Lamb, 2005).

Saponin pada kunyit terdiri dari komponen steroid atau glikosida triterpena yang dapat berikatan dengan satu atau lebih rantai gula. Struktur kimia ini menentukan fungsinya seperti memiliki efek sitotoksik, hemolitik, *molluscicidal*, antiinflamasi, antijamur, anti yeast, antibakteri, dan antivirus. Saponin dapat diklasifikasikan menjadi dua grup berdasarkan komponen skeleton *aglycone*: steroid (terdiri dari skeleton spirostane C27 yang menekan struktur 6 cincin) dan triterpenoid (terdiri dari skeleton C30 yang menekan struktur pentasiklik. Efek antimikroba saponin terhadap sel eukariotik melalui kemampuannya berikatan dengan kolesterol sehingga dapat mengganggu permeabilitas membran sel. Mekanisme anti karsinogenik saponin meliputi efek anti oksidan dan sitotoksik langsung pada sel kanker (Sparg *et al.*, 2004).

Minyak atsiri (*essential oil*) pada kunyit adalah senyawa terpenoid 2-5% terdiri dari *sesquiterpen* dan turunan *phenylpropene* (I) yang meliputi *turmeron*, *ar-turmeron*, α -*turmeron*, β -*turmeron*, *curion*, *curcumol*, *atlanton*, *turmerol*, β -*bisabolen*, β -*sesquiphellandre*, *zingiberen*, *ar-curcumene*, *humulen*, arabinosa, fruktosa, glukosa, pati, *tannin*, dan dammar, serta minyak mineral seperti Mg, Mn, Fe, Cu, Ca, Na, K, Pb, Zn, Co, Al, dan Bi. Minyak atsiri merupakan bahan aktif yang memberikan bau khas pada kunyit dan mudah menguap pada suhu kamar tanpa mengalami dekomposisi (Sudarsono, 1996).

2.3.4 Komponen Antimikroba Rimpang Kunyit

Kurkumin merupakan zat aktif utama yang terdapat pada rimpang *Curcuma*. Penelitian yang dilakukan oleh Sari (2010) menunjukkan bahwa ekstrak

etanol dari rimpang kunyit (*Curcuma domestica*) memiliki efek antibakteri terhadap pertumbuhan *Shigella dysenteriae* isolat 2312-F secara *in vitro* (Sari, 2010). Kurkumin merupakan senyawa polifenol yang memiliki potensi antimikroba melalui mekanisme penghambatan pembentukan protein bakteri. Protein bakteri memerlukan enzim tiolase yang berperan pada oksidasi dari gugus sulfhidril (-SH) yang membentuk struktur sekunder dari protein. Enzim tiolase dihambat kerjanya oleh kurkumin. Jika struktur sekunder dari bakteri tidak terbentuk, maka akan terjadi denaturasi dari protein dan hal ini menyebabkan kematian bakteri. Selain itu, gugus kimia polifenol bersifat lipofilik sehingga dapat merusak struktur membran sel bakteri (Cowan, 1999)

Kurkumin dapat menghambat FtsZ, yaitu protein yang berperan dalam proses pembelahan sel terutama pada proses sitokinesis. Kurkumin akan berikatan dengan tubulin dan menghambat polimerisasi mikrotubulin serta meningkatkan aktivitas enzim GTPase pada FtsZ. Kurkumin meningkatkan laju hidrolisis GTP pada FtsZ, sehingga FtsZ menjadi tidak stabil dan akan dipecah lebih cepat (dalam 200 detik). Berdasarkan penelitian Dipti *et al.*, didapatkan bahwa aktivitas GTPase dari FtsZ meningkat sebanyak 35% dengan pemberian kurkumin ($p < 0,0001$), yang mengindikasikan bahwa kurkumin dapat mengganggu dinamika FtsZ (Rai *et al.*, 2008)

Penelitian yang dilakukan oleh Guo *et al* (2012) menemukan bahwa kurkumin dapat berikatan lemah (*low affinity binding*) dengan reseptor vitamin D (*vitamin D receptor / VDR*) dan dapat menginduksi ekspresi dari VDR pada sel. Reseptor vitamin D meregulasi dua gen target yang penting, salah satunya adalah CAMP (*cathelicidin antimicrobial peptide*). Protein *cathelicidin* adalah famili protein yang mengandung gugus antimikroba pada terminal-C, sedangkan pada

terminal N merupakan holoprotein. Protein ini telah diketahui memiliki spektrum luas sebagai antimikroba, selain merupakan kemoatraktan untuk netrofil, monosit, sel mast dan sel T, menginduksi degranulasi dari sel mast, merubah respon transkripsi dari makrofag, serta menstimulasi re-epitelialisasi dari luka. Gugus *cathelin* merupakan gugus aktif dari *cathelicidin* yang secara *in vitro* telah dibuktikan dapat menginaktivasi pertumbuhan bermacam-macam bakteri, jamur dan virus dengan spesifisitas dan signifikansi yang berbeda-beda (Zanetti, 2004). Mekanisme eliminasi dari bakteri oleh *cathelicidin* berlangsung cepat, dan diduga terjadi melalui proses interkolasi dan penyusunan peptide dalam membran bakteri sehingga merubah integritas dinding bakteri, kecuali *cathelicidin* jenis PR-39 yang telah diketahui memiliki target intraseluler dan memblokade sintesis protein (Cowan, 1999).

Saponin diperkirakan memiliki efek antibakteria melalui ikatannya dengan lipid A pada lipopolisakarida (LPS) sehingga akan merusak permeabilitas membran sel bakteri dan akhirnya menyebabkan lisis pada sel. Saponin juga dapat menghambat proses inflamasi di dalam tubuh (Arabsky *et al.*, 2009).

Flavonoid memiliki efek antibakteri melalui mekanisme penghambatan sintesis asam nukleat dan penghambatan fungsi membran sitoplasm. Diperkirakan cincin B flavonoid berperan dalam proses interkalasi antara ikatan hydrogen dengan basa asam nukleat sehingga terjadi hambatan sintesis DNA/RNA bakteri. Selain itu, flavonoid juga dapat menghambat DNA Gyrase, yaitu suatu enzim penting dalam sintesis DNA bakteri. Penghambatan fungsi membran sitoplasma bakteri oleh flavonoid diperkirakan melalui mekanisme perusakan lapisan lipid bilayer bakteri yang memiliki fungsi pertahanan sehingga menyebabkan keluarnya komponen-komponen intraseluler bakteri (Chusnie *et al.*, 2005).

Minyak atsiri merupakan senyawa terpenoid, yang mekanisme antibakterinya diperkirakan melalui proses destruksi membran sel bakteri (Cowan, 1999). Selain itu juga, minyak atsiri diketahui memiliki efek antiinflamasi melalui mekanisme penurunan ekspresi sitokin proinflamasi (Kristina *et al.*, 2007). Mengingat inflamasi merupakan mekanisme penting terjadinya demam tifoid sehingga pemberian antiinflamasi diharapkan dapat mempercepat penyembuhan.

2.3.5 Komponen Antiinflamasi Rimpang Kunyit

Kurkumin memiliki efek antiinflamasi dengan menghambat pembentukan asam arakidonat, leukotrien, prostaglandin, enzim siklo-oksigenase dan enzim lipoksigenase (Kristina *et al.*, 2007). Senyawa ini mampu secara langsung menghambat produksi dari sitokin proinflamasi seperti halnya IL-1, TNF, IL-6 dan IL-12. Selain itu, kurkumin juga menaikkan sintesis dari IL-10 yang bersifat antiinflamasi. Dengan penurunan sitokin proinflamasi, diharapkan penyembuhan demam tifoid karena *Salmonella Typhimurium* ini dapat mempercepat masa penyembuhan.

Asam arakidonat yang dihasilkan oleh fosfolipid membran sel melalui aktivasi enzim fosfolipase A2, mempunyai salah satu fungsi yaitu mengaktivasi enzim lipoksigenase yang nantinya akan membentuk leukotrien dan enzim siklooksigenase yang akan membentuk prostaglandin. Leukotrien dan prostaglandin merupakan mediator kimiawi pada proses alergi dan inflamasi. Dengan dihambatnya produksi asam arakidonat berarti produksi leukotrien dan prostaglandin ikut mengalami penurunan sehingga proses peradangan pun akan dicengah. Selain itu kurkumin mempunyai aktivitas dalam menurunkan produksi interleukin I yang juga merupakan salah satu mediator kimiawi dalam inflamasi. Kurkumin

juga dapat mencegah timbulnya edema pada proses peradangan (Biokimia Farmakologi, 1995).

Minyak atsiri diketahui memiliki efek antiinflamasi melalui mekanisme penurunan ekspresi sitokin proinflamasi (Kristina *et al.*,2007). Mengingat inflamasi merupakan mekanisme penting terjadinya demam tifoid sehingga pemberian antiinflamasi diharapkan dapat mempercepat penyembuhan.

2.3.6 Manfaat Kunyit

Kunyit biasa digunakan masyarakat Indonesia sebagai bumbu dapur dan pewarna kuning pada makanan., bahan campuran kosmetika, maupun dalam pengobatan tradisional karena bersifat mendinginkan, membersihkan, mempengaruhi bagian perut, merangsang pelepasan gas di usus, menyetop pendarahan serta mencegah penggumpalan darah (Asiamaya, 2000).

Dalam dunia medis, karena mengandung minyak atsiri dan curcuminoid, rimpang kunyit dapat digunakan sebagai bakterisida, fungisida, stimulan, antioksidan, antitumor promoter, antiradang dan antivirus (Riwan, 2008).

Secara tradisional, air rebusan rimpang kunyit yang dicampur dengan gambir biasa digunakan sebagai air kumur mulut untuk mengobati gusi bengkak. Sementara salep dari kunyit dengan asam kawak digunakan untuk pengobatan kaki yang luka. Salep yang dibuat dari campuran kunyit dengan minyak kelapa banyak digunakan untuk menyembuhkan kaki bengkak dan untuk mengeluarkan cairan penyebab bengkak. Kunyit yang diremas-remas dengan cengkeh dan melati digunakan untuk mengobati radang hati dan penyakit kulit. Sementara akar kunyit yang diremas-remas dapat digunakan sebagai obat luar penyakit bengkak dan reumatik (Riwan, 2008).

Kunyit juga dapat digunakan untuk antiketombe, antigatal dan antikejang (Asiamaya, 2000). Selain itu, kunyit juga dapat menyembuhkan diare (disentri), jerawat, rematik, borok, hepatitis, diabetes, usus buntu, menurunkan tekanan darah, sebagai obat cacing, obat asma, dan penambah darah (Riwan, 2008).

Meskipun dipercaya memiliki banyak khasiat, studi yang relevan tentang penggunaan rimpang kunyit dalam dunia medis masih minim. Namun, studi keamanan (uji toksisitas) terhadap rimpang kunyit menunjukkan, ekstrak kunyit aman digunakan dalam dosis terapi. Rimpang kunyit yang diberikan secara oral tidak memberikan efek teratogenik (dampak pada embrio/janin) pada tikus. Keamanan ekstrak kunyit selama kehamilan, ekskresinya melalui ASI, serta efeknya pada bayi belum terbukti, sehingga penggunaannya selama kehamilan dan menyusui, sebaiknya di bawah pengawasan medis (Riwan, 2008).

2.4 Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses untuk mengisolasi senyawa dari suatu tumbuhan. Ragam ekstraksi bergantung pada tekstur dan kandungan air bahan tumbuhan yang diekstraksi pada jenis senyawa yang diisolasi (Harborne 1987). Ekstraksi amat bergantung pada jenis dan komposisi dari cairan pengekstraksi. Cairan pelarut yang biasanya digunakan dalam proses ekstraksi adalah air, eter, atau campuran etanol air. Ekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol air sebaiknya menggunakan cara maserasi (Farmakope Indonesia 1979).

Prosedur klasik ekstraksi untuk memperoleh kandungan senyawa organik dari jaringan tumbuhan kering (galih, biji kering, akar, daun) ialah dengan menggunakan alat soxlet dengan menggunakan sederetan pelarut secara berganti-ganti, mulai dengan eter, lalu eter minyak bumi, dan kloroform (untuk memisah-

kan lipid dan terpenoid). Kemudian digunakan alkohol dan etil asetat untuk senyawa yang lebih polar. Ekstrak yang diperoleh kemudian diuapkan dengan penguap putar yang akan menguapkan larutan menjadi volume kecil (Harborn 1987).

Menurut Wientarsih dan Prasetyo (2006) metode ekstraksi dibagi kedalam 5 cara, yaitu:

1. Maserasi

Maserasi adalah cara ekstraksi paling sederhana. Metode ini dianggap paling tepat digunakan untuk mengisolasi bahan aktif golongan polifenol seperti kurkumin dan flavonoid; serta bahan aktif lain seperti saponin. Proses maserasi adalah proses menyatukan bahan yang telah dihaluskan dengan bahan ekstraksi. Waktu maserasi, semua farmakope mencantumkan 4-10 hari. Setelah waktu itu, sebaiknya ditetapkan suatu keseimbangan antara bahan yang diekstraksi dalam bagian sebelah dalam sel dengan yang masuk ke dalam cairan, dengan demikian difusi akan berakhir. Melalui usaha ini diharapkan akan terjadi keseimbangan konsentrasi simplisia yang lebih cepat kedalam cairan. Sedangkan keadaan diam saat maserasi menyebabkan turunnya perpindahan bahan aktif (Voight 1994).

Metode ekstraksi maserasi memiliki kelebihan karena pengerjaan dan alat yang dipakai sederhana. Tetapi proses ekstraksi dengan metode ini membutuhkan waktu yang relatif lama, serta hasil ekstraksi yang kurang sempurna (Yuliani dan Sofyan 2003).

2. Metode Perkolasi

Metode ini dilakukan dengan cara mencampur 10 bagian simplisia ke dalam 5 bagian larutan pencuci. Setelah itu dipindahkan ke dalam perkolator, dan ditutup selama 24 jam setelah itu biarkan menetes sedikit demi sedikit. Kemudian ditambahkan larutan pencuci secara berulang-ulang hingga terdapat selapis cai-

ran pencuci. Perkolat yang telah terbentuk kemudian diuapkan (Wientarsih dan Prasetyo 2006).

3. Digesti

Metode ini merupakan bentuk lain dari maserasi yang menggunakan panas seperlunya selama proses ekstraksi (Wientarsih dan Prasetyo 2006).

4. Infus

Metode ini dilakukan dengan memanaskan campuran air dan simplisia pada suhu 90°C dalam waktu 5 menit. Selama proses ini berlangsung campuran terus diaduk dan diberi tambahan air hingga diperoleh volume infus yang dikehendaki (Wientarsih dan Prasetyo 2006).

5. Dekoksi

Metode yang digunakan sama dengan metode infusi hanya saja waktu pemanasannya lebih lama yaitu sekitar 30 menit (Wientarsih dan Prasetyo 2006).

