

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

1.1 Gastroenteritis

Gastroenteritis didefinisikan sebagai inflamasi dari membran mukosa saluran pencernaan, yaitu di lambung, usus halus, dan usus besar. Gastroenteritis ditandai dengan gejala utamanya, yaitu diare, muntah, mual, dan kadang disertai demam dan nyeri abdomen. Sekiranya tidak ditangani segera dapat mengakibatkan kehilangan cairan (dehidrasi) dan gangguan keseimbangan elektrolit. Kebanyakan kasus gastroenteritis bersifat infeksius, namun dapat juga terjadi akibat konsumsi obat-obatan dan bahan-bahan toksik seperti plumbum. Penularan gastroenteritis dapat melalui rute fekal-oral atau melalui air dan makanan yang dikonsumsi (Beers, 2003).

Gastroenteritis adalah inflamasi membran mukosa lambung dan usus halus yang ditandai dengan muntah-muntah dan diare yang berakibat kehilangan cairan elektrolit yang menimbulkan dehidrasi dan gejala keseimbangan elektrolit. Gastroenteritis adalah kehilangan cairan dan elektrolit secara berlebihan yang terjadi karena frekuensi buang air besar lebih dari tiga kali dengan bentuk tinja yang encer dan cair. Penyebab utama gastroenteritis adalah adanya bakteri, virus, parasit (jamur, cacing, protozoa) atau faktor mengkonsumsi bahan makanan beracun (Murwani, 2010).

2.1.1 Etiologi

Gastroenteritis dapat disebabkan oleh infeksi internal. Pada saat ini dapat diidentifikasi tidak kurang dari 25 jenis mikroorganisme yang dapat menyebabkan gastroenteritis, yaitu :

- a. Golongan virus : *Asrovirus*, *Calicivirus*, *Enteric adenovirus*, *Coronavirus*, *Rotavirus*, *Norwalkvirus*, *Herpes simples virus*, *Cytomegalovirus*. Penyebab utama oleh *Rotavirus* (40-60%).
- b. Golongan bakteri : *Aeromonashidrophilia*, *Bacillus cereus*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium defficile*, *Clostridium perfringens*, *E. Coli*, *Plesiomonas*, *Shigelloides*, *Salmonella spp*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholera*, dan *Yersinia enterocolitica*.
- c. Golongan parasit : *Balatidium coli*, *Capillaria philippinensis*, *Entamoeba histolitica*, *Giarsia lamblia*, *Isospora billi*, *Cryptosporodium*, *Fasiolapsis buksi*, *Sarcococystic sui hominis*, *Strongiloides stercoralis*, *Trichuris trichuria*, dan *Taeniasis* (Chow dkk, 2010).

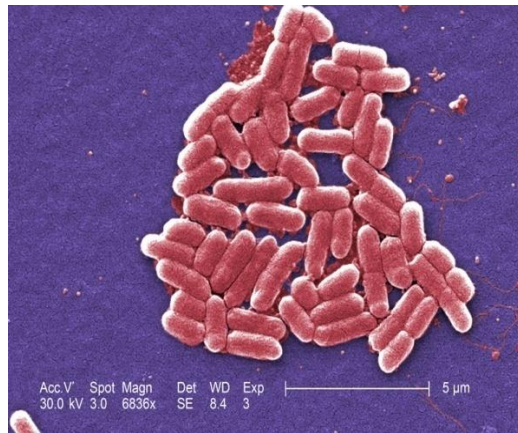
Bakteri penyebab gastroenteritis dibagi menjadi dua golongan besar, yaitu: bakteri noninvasif dan bakteri invasif. Golongan bakteri yang masuk dalam noninvasif adalah *Vibrio cholera*, *E. coli pathogen (EPEC, ETEC, EIEC)*. Sedangkan, golongan bakteri invasif adalah *Salmonella spp*, *Shigella spp*, *E. coli infasif (EIEC)*, *E. coli hemorrhagic (EHEC)* dan *Campylobacter* (Setiati, 2009).

2.1.2 Gastroenteritis disebabkan oleh *E. coli*

Klasifikasi *Escherichia coli* menurut Songer and Post (2005) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesie	: <i>Escherichia coli</i>

Bakteri *Escherichia coli* merupakan spesies dengan habitat alami dalam saluran pencernaan manusia maupun hewan. *E. coli* pertama kali diisolasi oleh Theodor Escherich dari tinja seorang anak kecil pada tahun 1885. Bakteri ini berbentuk batang, berukuran 0,4-0,7 x 1,0-3,0 μm , termasuk gram negatif, dapat hidup soliter maupun berkelompok, umumnya motil, tidak membentuk spora, serta fakultatif anaerob. Morfologi *E. coli* dapat dilihat pada **Gambar 2.1** di bawah ini (Carter, 2004).



Gambar 2.1: Morfologi *E.coli* (Carter, 2004)

Bakteri *E. coli* dapat membentuk koloni pada saluran pencernaan manusia maupun hewan dalam beberapa jam setelah kelahiran. Faktor predisposisi pembentukan koloni ini adalah mikroflora dalam tubuh masih sedikit, rendahnya kekebalan tubuh, faktor stres, pakan, dan infeksi agen patogen lain. Kebanyakan *E. coli* memiliki virulensi yang rendah dan bersifat oportunistik. *E. coli* keluar dari tubuh bersama tinja dalam jumlah besar serta mampu bertahan sampai beberapa minggu. Kelangsungan hidup dan replikasi *E. coli* di lingkungan membentuk koliform. *E. coli* tidak tahan terhadap keadaan kering atau desinfektan biasa. Bakteri ini akan mati pada suhu 60°C selama 30 menit (Songer, 2005).

Escherichia coli, atau biasa disingkat *E. coli* adalah salah satu jenis spesies utama bakteri gram negatif fakultatif anaerobik dan tidak berspora. Pada *E. coli* terdapat tiga jenis antigen, yaitu O-antigen yang merupakan inti liposakarida dan unit-unit polisakarida, K-antigen yang merupakan kapsul, dan H-antigen yang merupakan flagel. Dinding sel dari gram negatif secara khas terdiri dari tiga lapisan, yaitu (1) Membran sitoplasmatis (membran yang menyelubungi

sitoplasma tersusun atas lapisan fosfolipid dan protein); (2) Lapisan Peptidoglikan (gabungan protein dan polisakarida); (3) Membran bagian luar (terdiri atas fosfolipid, protein, dan lipopolisakarida) (Lehtolainen, 2004).

Bakteri ini diklasifikasikan sebagai mikroba normal pada manusia yang tidak berbahaya, yang terletak di kolon. Bakteri ini sering menyebabkan diare pada hewan baru lahir baik melalui *fecal oral* dari induk maupun terpapar dari lingkungan. Namun kebanyakan strain *E. coli* tidak bersifat patogen. Dampak individu/ hewan yang terpapar *E. coli* adalah infeksi akut pada traktus urinari dan juga dapat menyebabkan sepsis. Selain itu dapat juga terjadi enteritis akut, *traveller's* diare, disentri, dan *colitis haemorrhagic* yang biasanya disebut sebagai diare berdarah (*blood diarrhea*). Derajat infeksi yang dibutuhkan untuk menghasilkan diare dan infeksi setiap strain adalah 10^5 sampai 10^{10} untuk strain EPEC, 10^8 sampai 10^{10} untuk strain ETEC, dan 10^8 untuk strain ETEC. Jumlah ini tergantung dari umur, jenis kelamin, dan keasaman lambung (Percival, 2004).

A. Patogenitas *E. coli*

Faktor-faktor patogenitas menurut Karsinah (1994) adalah: antigen permukaan dan enterotoksin. Antigen permukaan mempunyai dua jenis tipe fimbriae pada *E. coli*, yaitu tipe mannososa sensitif (pili) dan tipe mannososa resisten (CFAs I dan II). Kedua fimbriae ini digunakan sebagai faktor kolonisasi (*Colonization factor*), yaitu perlekatan sel bakteri pada jaringan inangnya. Enterotoksin yang telah diisolasi dari *E. coli* ada dua, yaitu toksin LT (*heat labil/ termolabil*) dan ST (*heat stabil/ termostabil*). Kedua toksin ini diatur oleh plasmid

yang mampu pindah dari satu sel bakteri ke sel bakteri lainnya. Terdapat dua macam plasmid, yaitu 1 plasmid yang mengkode pembentukan toksin LT dan ST dan 1 plasmid lainnya mengatur pembentukan ST saja.

Patogenitas *E. coli* dalam menghasilkan beberapa jenis toksin seperti endotoksin, verotoksin, kolisin, dan siderofor serta resistensinya pada aksi litik dari komplemen hospes dan antibiotik. *E. coli* juga merupakan patogen utama dari infeksi gastroenteritis. *E. coli* diklasifikasikan oleh ciri khas sifat-sifat virulensinya dan setiap kelompok menimbulkan penyakit melalui mekanisme yang berbeda (Biswas *et al*, 2006).

Menurut virulensinya ada enam grup *E. coli* patogen yang telah diidentifikasi, yaitu *enteropathogenic E. coli* (EPEC), *enterotoxigenic E. coli* (ETEC), *enterohemorrhagic E. coli* (EHEC), *enteroinvasive E. coli* (EIEC), *diffuse-adhering E. coli* (DAEC), dan *enteroaggregative E. coli* (EAEC). Masing-masing grup memiliki virulensi dan mekanisme patogenik yang berbeda serta inang yang spesifik (Marzuki, 2013).

B. Patogenesis

Bakteri masuk ke dalam saluran cerna dan melakukan penempelan pada epitel usus. Bakteri kemudian menetap pada usus yang dapat merangsang produksi toksin/endotoksin di saluran pencernaan dan dapat mengakibatkan terjadinya peradangan pada usus sehingga terjadi penurunan absorpsi karbohidrat yang mengakibatkan hipoglikemi. Akibat dari peradangan usus dapat menimbulkan peningkatan asam lambung sehingga menimbulkan gejala mual,

muntah yang mengakibatkan kekurangan volume cairan dan resiko tinggi nutrisi kurang dari kebutuhan tubuh sehingga terjadi hipoglikemi dan malnutrisi energi protein. Terjadi peningkatan mortalitas usus sehingga sekresi cairan dan elektrolit meningkat yang dapat menimbulkan gangguan cairan dan elektrolit seperti kalium dan natrium sehingga terjadi hipokalemia yang mengakibatkan kejang dan kram abdomen sehingga menimbulkan rasa nyeri. Peradangan usus juga dapat mengakibatkan meningkatnya permeabilitas usus yang dapat meningkatkan sekresi cairan dan elektrolit serta meningkatnya tekanan intra lumen, maka usus tidak mempunyai kemampuan untuk menyerap sehingga terjadi pengeluaran feses encer dan frekuensi buang air besar yang berlebihan, konsistensi cair dan bersifat asam sehingga dapat menimbulkan gangguan integritas kulit. Selain itu peningkatan cairan dan elektrolit dapat mengakibatkan peningkatan tekanan pada intra lumen yang akan menimbulkan terjadinya dehidrasi dan terjadi syok hipovolemik (Try, 2011).

C. Gejala Klinis

Infeksi *E. coli* pada ayam dikenal dengan sebutan kolibasilosis. Bentuk infeksinya bisa bersifat lokal. Bentuk infeksi lokal seperti omphalitis, cellulitis, diare, dan salpingitis. Bentuk kolibasilosis yang lebih spesifik menyerang saluran pencernaan ialah bentuk diare dan koligranuloma. Gejala klinis yang dapat diamati adalah adanya diare berwarna kuning. Gejala klinis tersebut diikuti pula oleh perubahan patologi anatomi. Pada kolibasilosis bentuk diare ditemukan adanya granuloma (bungkul-bungkul) pada hati, sekum, duodenum, dan penggantung usus (Dinev, 2014).

D. Patologi Anatomi

Perubahan patologi anatomi yang menciri pada gastroenteritis adalah terlihat adanya fibrin yang melapisi hampir semua organ-organ abdomen dan adanya akumulasi cairan pada organ abdomen. Perubahan secara makroskopis pada organ intestin berupa adanya distensi dan pembengkakan usus (Nielsen *et al*, 2005). Menurut Rahmawandani dkk (2014), perubahan patologi anatomi yang terlihat pada usus halus adalah adanya distensi usus halus. Kongesti atau hiperemi akan teramati pada saluran pencernaan hewan yang terinfeksi.

E. Diagnosa

Hewan yang mengalami gastroenteritis umumnya akan memperlihatkan tanda-tanda berupa lemas, rambut kusam, kurus, nafsu makan turun, murung, pertumbuhan terganggu, diare, rambut kotor dan lengket disekitar anus, suhu tubuh meningkat, warna feses berubah, dan terjadi dehidrasi. Sedangkan untuk pemeriksaan penunjang dapat dilakukan dengan inokulasi bakteri pada media selektif EMBA agar yang diinkubasi selama 24 jam untuk seleksi bakteri dan dilakukan uji morfologi bakteri dengan pewarnaan gram (Tarmuji, 2003).

F. Diagnosa Banding

Diagnosa banding dari infeksi *E. coli* meliputi penyakit-penyakit infeksi dari *Shigella dysenteriae bacteria*, *Shigelosis*, *Ulcerative coliti* , *Acute Ischemia*, dan beberapa penyakit lain yang memiliki gejala umum diare (Tarmuji, 2003).

G. Terapi

Adapun terapi dari penyakit gastroenteritis kausa bakteri *E. coli* dapat menggunakan antibiotik. Antibiotik yang dapat diberikan pada kasus ini adalah antibiotik dari golongan sulfonamide, ampilisin, sefalosporin, tetrasiklin, kloramfenikol, dan aminoglikosida (Kusuma, 2010)

2.1.3 Pemeriksaan Laboratorium

Pemeriksaan laboratorium atau kultur untuk bakteri dan parasit tetap harus dilakukan apabila gejala seperti demam, tinja berdarah, dan diare menetap sampai satu minggu atau lebih. Adanya leukosit pada tinja menunjukkan adanya infeksi inflamasi (Southpaul, 2004).

1.2 Tanaman Dewandaru (*Eugenia uniflora* L)

Tanaman dewandaru tersebar luas di negara-negara Amerika Selatan, terutama Brazil, Argentina, Uruguay, dan Paraguay. Di Indonesia tanaman ini terdapat di Sumatra dan Jawa. Secara biologi, tanaman dewandaru termasuk ke dalam famili *Myrtaceae*. Dewandaru termasuk tanaman perdu tahunan dengan tinggi sekitar 5 meter, batangnya tegak berkayu, bulat, dan coklat, sedangkan daunnya tunggal, tersebar, lonjong, ujung runcing, pangkal meruncing, tepi rata, pertulangan menyirip, dengan panjang ± 5 cm dan lebar ± 4 cm serta berwarna hijau. Buah dewandaru berbentuk buni dan bulat dengan diameter $\pm 1,5$ cm dan berwarna merah. Buahnya memiliki biji kecil, keras, dan putih kecoklatan. Sesuai dengan taksonomi tanaman dewandaru termasuk sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Sub divisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledoneae
Ordo : Myrtales
Famili : Myrtaceae
Genus : Eugenia
Spesies : *Eugenia uniflora* Linn (Hutapea, 1994).

Tanaman dewandaru dapat tumbuh mulai dari dataran rendah sampai ketinggian tempat 1.800 mdpl dengan cahaya matahari penuh dan curah hujan sedang mampu bertahan pada musim kering yang panjang. Buah dan daun dewandaru dapat digunakan untuk meningkatkan kualitas *astrigent* dan menurunkan tekanan darah tinggi. Pada *Brazilian folk medicine*, buah dewandaru digunakan sebagai antidiare, antirematik, antifebrile, antidiabetik, dan diuretik. Ekstrak daun dewandaru dapat digunakan sebagai agen hipotensif dan menghambat peningkatan kadar trigliserida dan glukosa plasma (Catur dkk, 2013). Tanaman dewandaru terlihat seperti **Gambar 2.2** di bawah ini.



(a)

(b)

(c)

Gambar 2.2: Tanaman dewandaru (a) batang dan daun dewandaru ; (b) bunga dewandaru; (c) buah dewandaru (Catur dkk, 2013).

Salah satu tanaman asli Indonesia yang berkhasiat sebagai obat adalah dewandaru. Berdasarkan skrining fitokimia daun tanaman dewandaru mengandung flavonoid, tanin, dan saponin. Berbagai penelitian telah dilakukan menunjukkan bahwa dewandaru memiliki aktivitas antibakteri, antioksidan, penangkal radikal bebas, penghambat hidrolisis dan oksidasi enzim, dan antiinflamasi yang disebabkan karena adanya senyawa flavonoid (Utami *et al*, 2008).

Hasil penelitian Ridawati (2014) menunjukkan bahwa buah dewandaru memiliki kandungan antioksidan yang tinggi, terutama yang berwarna ungu. Hal ini disebabkan oleh tingginya kandungan senyawa-senyawa fungsional dalam buah tersebut, antara lain adalah adanya pigmen antosianin. Antosianin adalah

senyawa berwarna merah sampai biru dalam tanaman yang juga memiliki manfaat bagi kesehatan. Beberapa hasil penelitian melaporkan bahwa pigmen antosianin terbukti memiliki dampak positif terhadap kesehatan tubuh, diantaranya berperan sebagai antioksidan. Selain itu, buah dewandaru juga mengandung beberapa senyawa kimia lain yang berkhasiat bagi kesehatan seperti vitamin C, karotenoid, saponin, flavonoid, dan tanin.

1.3 Kandungan Daun Dewandaru (*Eugenia uniflora* L)

Menurut (Ridawati, 2014), buah dewandaru mengandung beberapa senyawa kimia seperti flavonoid, saponin, dan tanin. Senyawa-senyawa kimia tersebut akan dibahas lebih lanjut dalam bahasan di bawah ini:

1.3.1 Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam terbesar dan tersusun dari 15 atom karbon pada inti dasarnya dengan konfigurasi, yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh tiga atom karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga. Flavonoid adalah salah satu jenis senyawa yang bersifat racun/ aleopati, yang merupakan persenyawaan dari gula yang terikat dengan flavon. Flavonoid mempunyai sifat khas, yaitu bau yang sangat tajam, rasanya pahit, dapat larut dalam air, dan pelarut organik, serta mudah terurai pada temperatur tinggi (Ikawati, 2008).

Flavonoid merupakan senyawa pertahanan tumbuhan yang dapat bersifat menghambat serangga dan juga bersifat toksik. Flavonoid memiliki sejumlah kegunaan antara lain: pertama terhadap tumbuhan, yaitu sebagai pengatur

pertumbuhan tumbuhan, pengatur fotosintesis, kerja antimikroba, dan antivirus. Kedua, terhadap manusia, yaitu sebagai antibiotik terhadap penyakit kanker dan ginjal, dan menghambat pendarahan. Ketiga, terhadap serangga, yaitu sebagai daya tarik serangga untuk melakukan penyerbukan dan sebagai bahan aktif dalam pembuatan insektisida nabati (Dinata, 2009).

Efek flavonoid terhadap macam-macam organisme sangat banyak dan dapat menjelaskan mengapa tumbuhan yang mengandung flavonoid dipakai dalam pengobatan tradisional. Flavonoid mempunyai cara kerja yaitu dengan menghambat fosfodiesterase, aldoreduktase, protein kinase, balik transkriptase, DNA polimerase, dan lipooksigenase. Flavonoid merupakan senyawa pereduksi yang baik, yang menghambat banyak reaksi oksidasi, baik secara enzim maupun non-enzim (Robinson, 2005).

1.3.2 Tanin

Tanin merupakan senyawa polifenol yang berasal dari tumbuhan, berasa pahit dan kelat yang bereaksi dengan menggumpalkan protein atau berbagai senyawa organik lainnya termasuk asam amino dan alkaloid. Tanin pada mulanya merujuk pada penggunaan bahan tanin nabati dari pohon ek untuk menyamak belulang (kulit mentah) hewan agar menjadi kulit masak yang awet dan lentur. Namun kini pengertian tanin meluas, mencakup aneka senyawa polifenol berukuran besar yang mengandung cukup banyak gugus hidroksil dan gugus lain yang sesuai (misal gugus karboksil) untuk membentuk perikatan kompleks yang kuat dengan protein dan makromolekul yang lain. Mekanisme kerja tanin sebagai

antibakteri berhubungan dengan kemampuan dalam menginaktivasi adhesi sel mikroba (molekul yang menempel pada sel inang) yang terdapat pada permukaan sel. Tanin mempunyai target pada polipeptida dinding sel akan menyebabkan kerusakan pada dinding sel bakteri karena tanin merupakan senyawa fenol. Pada pengrusakan membran sel, ion H^+ dari senyawa fenol dan turunannya (flavonoid) akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipid akan terurai menjadi gliserol, asam karbositat, dan asam fosfat. Hal ini mengakibatkan fosfolipid tidak mampu mempertahankan bentuk membran sel akibatnya membran sel bocor dan bakteri akan mengalami hambatan pertumbuhan bahkan kematian (Kredy, 2010).

1.3.3 Saponin

Saponin adalah suatu glikosida alamiah yang terikat dengan steroid atau triterpena. Saponin mempunyai aktivitas farmakologi yang cukup luas diantaranya meliputi immunomodulator, anti tumor, anti inflamasi, antivirus, anti jamur, dapat membunuh kerang-kerangan, hipoglikemik, dan efek hipokolestrol. Saponin juga mempunyai sifat bermacam-macam, misalnya terasa manis, ada yang pahit, dapat berbentuk buih, dapat menstabilkan emulsi, dan dapat menyebabkan hemolisis. Saponin dapat menginduksi produksi dari sitokin seperti interleukin dan interferon yang dapat memediasi efek immunostimulan. Saponin juga dapat meningkatkan respon imun melalui imunisasi oral dengan cara meningkatkan pengambilan antigen oleh usus dan sel mukosa. Saponin yang bersifat amfifilik yang berarti saponin dapat membentuk busa dan merusak membran sel karena dapat membentuk ikatan dengan lipida dari membran sel (Oda *et al*, 2000)

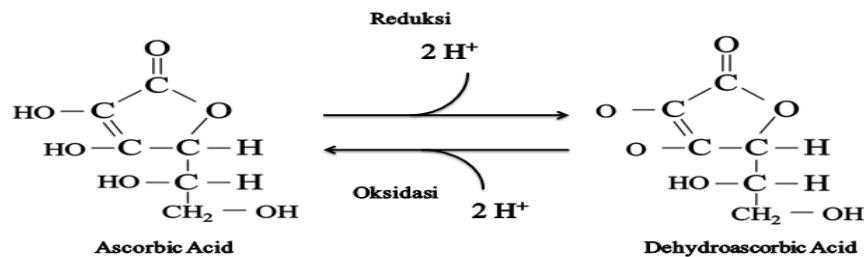
1.4 Radikal bebas dan Antioksidan

2.4.1 Radikal Bebas

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang mempunyai elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya dan dapat berdiri sendiri (Clarkson *and* Thompson, 2000). Kebanyakan radikal bebas bereaksi secara cepat dengan atom lain untuk mengisi orbital yang tidak berpasangan, sehingga radikal bebas normalnya berdiri sendiri hanya dalam periode waktu yang singkat sebelum menyatu dengan atom lain. Simbol untuk radikal bebas adalah sebuah titik (R.), yang berada di dekat simbol atom. Radikal bebas mempunyai peran dalam fungsi normal dan abnormal tubuh. Radikal bebas yang penting secara biologis antara lain anion superoksida (O_2^-), radikal hidroksil (OH.), dan oksida nitrit (NO.) (Vander *et al*, 2001). Bentuk radikal bebas yang lain adalah hidroperoksil (HO_2^-), peroksil (RO_2^-), alkoksil (RO), karbonat (CO_3^-), karbon dioksida (CO_2), atom klor (Cl^-), nitrogen dioksida (NO_2) (Halliwell *and* Whiteman, 2004).

Menurut Droge (2002), radikal bebas dapat bersumber dari tiga hal, yaitu 1) dari lingkungan bersumber dari asap rokok, asap kendaraan, peptisida, dan racun dari sisa pembuangan; 2) berasal dari dalam tubuh, yaitu proses metabolisme energi; 3) dari radikal itu sendiri, yaitu berusaha memperoleh elektron dari molekul lain sehingga terbentuklah radikal bebas baru yang kehilangan elektronnya. Bila reaksi berlanjut terus maka terjadilah suatu reaksi berantai (chain reaction) sampai radikal bebas itu hilang oleh reaksi dengan

radikal bebas lain atau sistem antioksidan tubuh. Reaksi tersebut dapat dilihat pada **Gambar 2.3** di bawah ini.



Gambar 2.3: Reaksi berantai dari radikal bebas (Droge, 2002).

Radikal bebas dapat bermuatan positif, negatif, dan juga netral. Radikal bebas terbentuk secara normal dalam reaksi biokimia, tetapi bila berlebihan atau tidak terkontrol maka dapat menimbulkan kerusakan pada daerah yang luas dari makromolekul. Radikal bebas dapat terbentuk secara *in vivo* dan *in vitro*, yaitu dengan pemecahan satu molekul normal secara homolitik menjadi dua, kehilangan satu molekul dari molekul normal dan penambahan elektron pada molekul normal. Selanjutnya dijelaskan juga bahwa secara biologis radikal bebas dalam tubuh berupa radikal superoksida (*superoxide radical*), radikal hidroksil (*hydroxyl radical*), radikal peroksil (*peroxyl radical*), hydrogen peroksida (*hydrogen peroxide*), oksigen tunggal (*single oxygen*), nitrit oksida (*nitric oxide*), nitrit peroksida (*peroxinitrite*), dan asam hipoklor (*hypochlorous acid*) (Araujo *et al*, 1998).

Penelitian yang ekstensif dengan menggunakan sistem model dan dengan material biologis *in vitro*, secara jelas menunjukkan bahwa radikal bebas dapat menimbulkan perubahan kimia dan kerusakan terhadap protein, lemak, karbohidrat, dan nukleotida. Bila radikal bebas diproduksi *in vivo* atau *in vitro* di dalam sel melebihi mekanisme pertahanan normal maka akan terjadi berbagai gangguan metabolik dan seluler. Jika posisi radikal bebas yang terbentuk dekat dengan DNA maka bisa menyebabkan perubahan struktur DNA sehingga bisa terjadi mutasi. Radikal bebas juga bisa bereaksi dengan nukleotida sehingga menyebabkan perubahan yang bermakna pada komponen biologi sel. Bila radikal bebas merusak grup thiol maka akan terjadi perubahan aktivitas enzim. Radikal bebas dapat merusak sel dengan cara merusak membran sel tersebut. Kerusakan pada membran sel ini dapat terjadi dengan cara: a) radikal bebas berikatan secara kovalen dengan enzim dan/ atau reseptor yang berada di membran sel sehingga merubah aktivitas komponen-komponen yang terdapat pada membran sel tersebut; b) radikal bebas berikatan secara kovalen dengan membran sel sehingga merubah struktur membran dan mengakibatkan perubahan fungsi membran dan/ atau mengubah karakter membran menjadi seperti antigen; c) radikal bebas mengganggu proses transportasi melalui ikatan kovalen, mengisolasi kelompok thiol atau dengan merubah asam lemak *polyunsaturated*; d) radikal bebas menginisiasi peroksidasi lipid secara langsung terhadap asam lemak *polyunsaturated* dinding sel. Peroksidasi ini akan mempengaruhi fluiditas membran, cross linking, serta struktur dan fungsi membran yang akhirnya menyebabkan kematian sel (Arya, 2012).

Jumlah radikal bebas dalam batas tertentu akan bersifat positif karena berperan penting bagi kesehatan dan fungsi tubuh dalam memerangi peradangan dan membunuh penyakit seperti bakteri. Namun demikian apabila radikal bebas yang dihasilkan melebihi batas kemampuan proteksi antioksidan selulernya maka radikal bebas tersebut akan berakibat negatif. Hal ini disebabkan karena radikal bebas tersebut akan menyerang sel itu sendiri. Struktur sel yang berubah akan merubah fungsi dari bagian tersebut dan hal tersebut akan berpengaruh pula pada proses munculnya penyakit (Sauriasari, 2006).

Masuknya radikal bebas ke dalam tubuh dapat melalui pernafasan, lingkungan luar yang tidak sehat, dan makanan yang berlemak. Selain itu pada kondisi stres dapat meningkatkan jumlah peroksisom pada jaringan seperti pada ginjal ginjal nera Jepang yang mengakibatkan peningkatan produksi radikal bebas di dalam tubuhnya. Hal tersebut ditunjukkan dengan terjadinya penurunan kandungan antioksidan endogen seperti superoksida dismutase (Kumalawati, 2007).

2.4.2 Antioksidan

Tubuh manusia ataupun hewan dalam keadaan normal mempunyai sistem antioksidan yang dapat menangkal aksi radikal bebas, yaitu sistem proses enzimatik dan nonenzimatik. Dalam pengertian kimia, antioksidan adalah senyawa-senyawa pemberi elektron. Dalam pengertian klasik, istilah antioksidan menunjukkan senyawa yang memiliki berat molekul rendah yang dapat menginaktivasi reaksi rantai dari peroksidasi lipid dengan mencegah terbentuknya

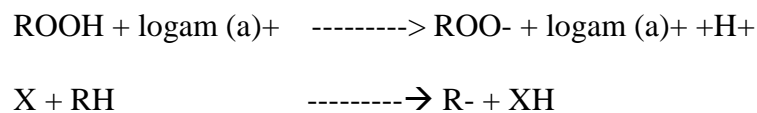
radikal peroksida. Dalam arti biologi dan kedokteran, istilah tersebut digunakan dalam pengertian yang luas, meliputi enzim yang dapat mendetoksifikasi senyawa-senyawa oksigen reaktif (Kartikawati, 1999).

Antioksidan adalah substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein, dan lemak. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stress oksidatif. Antioksidan yang dikenal ada yang berupa enzim dan ada yang berupa mikronutrien. Enzim antioksidan dibentuk dalam tubuh, yaitu super oksida dismutase (SOD), glutathion peroksida, katalase, dan glutathion reduktase. Sedangkan antioksidan yang berupa mikronutrien dikenal tiga yang utama, yaitu: β -karoten, vitamin C, dan vitamin E. Berdasarkan fungsinya, antioksidan dibagi menjadi empat, yaitu: tipe pemutus rantai reaksi pembentuk radikal bebas dengan menyumbangkan atom H, misalnya vitamin E; tipe pereduksi, dengan mentransfer atom H atau oksigen atau bersifat pemulung misalnya vitamin C; tipe pengikat logam, mampu mengikat zat peroksidan, seperti Fe^{2+} dan Cu^{2+} misalnya flavonoid; dan antioksidan sekunder, mampu mendekomposisi hidroperoksida menjadi bentuk stabil, pada manusia dikenal SOD, katalase, glutathion peroksidase.

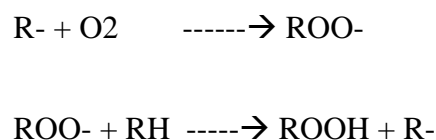
Mekanisme kerja antioksidan selular adalah sebagai berikut: berinteraksi langsung dengan oksidan, radikal bebas, atau oksigen tunggal; mencegah pembentukan jenis oksigen reaktif; mengubah jenis oksigen reaktif menjadi

kurang toksik; mencegah kemampuan oksigen reaktif; dan memperbaiki kerusakan yang timbul (Hariyatmi, 2004).

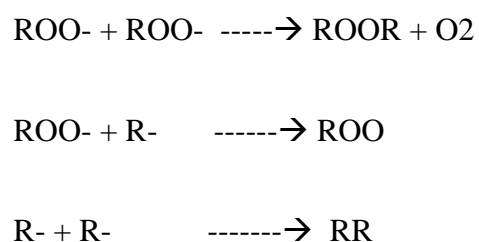
Secara umum mekanisme kerja dari antioksidan adalah menghambat oksidasi lemak. Menurut Kumalaningsih (2007), bahwa oksidasi lemak terjadi melalui beberapa tahap, yaitu suatu senyawa turunan asam lemak yang bersifat tidak stabil dan sangat reaktif akibat hilangnya satu atom hydrogen, dengan reaksi sebagai berikut:



Selanjutnya tahap propagasi, yaitu radikal asam lemak akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksi dengan reaksi sebagai berikut:



Kemudian dilanjutkan tahap terminasi, yaitu radikal peroksil yang telah terbentuk kemudian menyerang asam lemak sehingga menghasilkan hidroperoksida dan radikal asam lemak baru, dengan reaksi sebagai berikut:



Prekursor molekul untuk memulai proses ini umumnya berupaproduk hidroperoksida (ROOH) maka oksidasi lemak merupakan rangkaian reaksi bercabang dengan berbagai efek yang memiliki potensi untuk merusak. Pencegahan pembentukan radikal bebas yang reaktif dapat dilakukan antara lain dengan pemusnahan zat awalnya yang berupa peroksida ataupun hasil lain metabolisme oksigen oleh enzim superoksida dismutase, katalase, dan glutathion peroksida. Enzim ini dalam mengendalikan tahap awal radikal bebas yang terbentuk memerlukan bantuan mineral Mn, Cu, Zn, dan Se. Pemusnahan dapat pula melalui zat gizi yang berperan sebagai antioksidan. Zat gizi tersebut telah banyak diteliti diantaranya adalah vitamin A (β karoten), vitamin C, dan vitamin E. Pemusnahan radikal bebas hanya dapat dilakukan bila tepat waktu, tepat tempat, dan tepat dosis (Kartikawati, 1999).

1.5 Hewan Coba berupa Tikus (*Rattus novergicus*)

Penggunaan hewan coba dalam suatu penelitian sangat mendukung suatu penelitian untuk pengobatan suatu penyakit atau untuk penemuan baru di bidang medis. Hewan coba yang digunakan harus memiliki kriteria khusus dan mampu memunculkan kondisi patogenesis dan patofisiologis dari suatu kondisi yang sedang diteliti. Adapun hewan coba yang digunakan dalam penelitian gastroenteritis ini adalah tikus putih (*Rattus novergicus*) strain Wistar dengan klasifikasi seperti dibawah ini:

Kingdom : Animalia
Filum : Chordata
Kelas : Mamalia

Subkelas : Theria
Ordo : Rodentia
Famili : Murinae
Genus : Rattus
Spesies : *Rattus novergicus* strain Wistar (King, 2012).

Penggunaan tikus putih (*Rattus novergicus*) **Gambar 2.4** banyak dilakukan karena mudah diperoleh. Selain itu tikus putih memiliki respon biologik dan adaptasi yang mirip dengan manusia, mudah dikendalikan, dan mudah pemeliharaan dan perawatannya. Tikus putih dewasa pada umur 8-12 minggu baik jantan maupun betina. Pada umur tersebut seluruh organ sudah berfungsi secara normal dan stabil. Berat badan tikus putih dewasa berkisar 150-250 gram dan akan terus bertambah seiring dengan pertambahan usianya (Akbar, 2010).



Gambar 2.4 Tikus putih (*Rattus novergicus*) strain Wistar (Akbar, 2010)

Pada penelitian ini hewan coba akan diinduksi dengan *E. coli* untuk mendapatkan model gastroenteritis. Induksi diberikan secara peroral dengan

menggunakan sonde. Hewan coba akan diberi perlakuan selama 7 hari (Astawan dkk, 2011).

1.6 Kadar Malondialdehyde (MDA)

Malondialdehida (MDA) merupakan salah satu produk akhir dari peroksida lipid yang terbentuk akibat degradasi radikal bebas terhadap asam lemak tak jenuh (Yunus, 2001). MDA dapat menggambarkan aktivitas radikal bebas dalam sel dan jika jumlahnya banyak dapat menyebabkan toksik dengan efek menyebabkan kanker dan mutagen terhadap sel hidup (Jadhav, 1996). Malondialdehyde (MDA) selain produk dari peroksidasi lipid juga merupakan metabolit komponen sel yang dihasilkan oleh radikal bebas. Konsentrasi MDA yang semakin tinggi maka akan berbanding lurus dengan kadar ROS, tapi berbanding terbalik dengan kadar antioksidan (Malysa, 2014).

Menurut Mudassir (2012), peningkatan kadar MDA merupakan indikator bahwa terjadi kerusakan jaringan yang disebabkan oleh peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid terjadi karena adanya ikatan antara ROS dengan *Poly Unsaturated Fatty Acid* (PUFA). MDA diukur dengan menggunakan uji TBA. Ikatan yang dibentuk antara MDA dengan TBA akan menghasilkan warna merah muda.

1.7 Kadar Enzim Superoxide Dismutase (SOD)

Superoxide Dismutase (SOD) adalah enzim yang mengkatalisis dismutasi ion superoksida radikal (O_2^-) menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) dan molekul oksigen (O_2). Berdasarkan kofaktor logam dan distribusinya di dalam tubuh, SOD terbagi menjadi 4 macam yaitu cooper, zinc superoxide dismutase (Cu, Zn-SOD)

yang umumnya terdapat dalam sitoplasma eukariot. Manganase superoxide dismutase (Mn-SOD) yang terdapat pada mitokondria organisme aerobik. Iron superoxide dismutase (Fe-SOD) yang terdapat pada prokariot. Serta, ekstra seluler superoxide dismutase (Ec-SOD) yang ditemukan pada cairan ekstraselular mamalia (West, 2004).

SOD tergolong enzim yang sangat stabil karena tiap subunit tergabung oleh ikatan-ikatan non-kovalen dan terangkai oleh rantai disulfida. Enzim ini memainkan peran penting pada garis depan sistem pertahanan antioksidan endogen (Mates et al, 1999). Aktivitas SOD bervariasi pada beberapa organ tikus. Jumlah tertinggi terdapat di dalam hati. Kemudian berturut-turut dalam kelenjar adrenal, ginjal, limfa, pankreas, otak, paru-paru, lambung, usus, ovarium, timus, dan lemak (Nurmawati, 2002). Aktivitas SOD akan meningkat seiring dengan pemberian antioksidan endogen (flavonoid) secara bertahap. Proses tersebut terjadi karena antioksidan flavonoid menstimulasi aktivitas enzim superoxide sehingga tidak terbentuk hidrogen peroksida dan radikal hidroksil (Retnaningsih, 2013).