

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Duwet

2.1.1 Taksonomi

Klasifikasi

Kingdom : *Plantae*

Phylum : *Magnoliophyta*

Class : *Magnoliopsida*

Order : *Myrtales*

Family : *Myrtaceae*

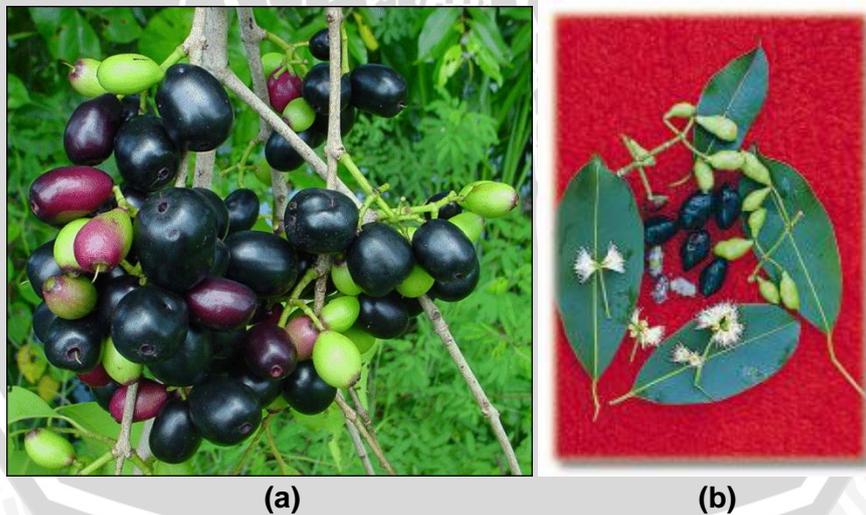
Genus : *Syzygium*

Species : *Syzygium cumini* (L.) Skeels

Syzygium cumini sinonimnya adalah *Myrtus cumini* L. (1753), *Eugenia jambolana* Lamk (1789), *Syzygium jambolanum* (Lamk) DC. (1828), dan *Eugenia cumini* (L.) Druce (1914) (Sari, 2011). Duwet disebut sebagai 'Brahapati' dalam bahasa sansekerta, sering dikenal sebagai Plum jawa, Plum portugis, Plum malabar, Plum hitam, Blackberry, Jamun, Jambul, Jambool dan Naval (Ramya *et al.*, 2012). *Syzygium cumini* merupakan tumbuhan asli India dan endemik di Asia Timur-Selatan dan India, tetapi juga dilaporkan tumbuh di Hawaii, Australia, Filipina, Zanzibar, Pemba, Mombassa, Kenya Florida dll (Benherlal, 2010).

2.1.2 Morfologi dan Karakteristik

Syzygium cumini merupakan pohon hijau tropis, yang dapat tumbuh dengan ketinggian di atas 30 meter. Kulit pohon secara umum keabu-abuan, daunnya sederhana dan berorientasi ke arah yang berlawanan, dengan bentuk elips yang tampak lembut dan berkilat. Panjang daun 5-10 cm dan berujung runcing. Rusuk di tengah daun berwarna kekuningan. Bunganya berkelompok di ujung batang, berwarna putih hingga merah jambu dengan kelopak berbentuk seperti mangkuk. Ada empat lembar mahkota bunga dan banyak benang sari pada bunganya. Buah duwet berdaging tebal, berwarna ungu tua dan berbentuk oval dengan sebuah biji yang keras ditengah. Pembiasaan tanaman ini melalui biji. Musim berbunga adalah Januari hingga Desember di Kerala Selatan. Berat buah perbijinya berkisar antara 4.8-17.6 g, panjang 2.22-4.51 cm, diameter 1.66-3.04 cm, dan berat biji 1.3-2.36 g (Benherlal, 2010).



Gambar 2.1 (a) Buah duwet (b) Daun, bunga, dan buah duwet (Sari, 2010)

Duwet dikenal diberbagai daerah di Indonesia dengan nama yang berbeda-beda antara lain di Sumatera: jambe kleng (Aceh), jambu kling (Gayo), jambu kalang (Minangkabau). Jawa: jamblang (Sunda), juwet, duwet, d. manting, dhalas, d. bato, dhuwak (Madura). Sulawesi: raporapo jawa (Makasar),

alicopeng (Bugis). Maluku: jambula (Ternate), Melayu: jamlang, jambelang, duwet. Duwet dikenal memiliki banyak nama asing diantaranya Hainan pu tao, wu kou guo, zi pu tao (Cina), waa (Taiwan) (Satyatama *et al.*, 2008).

2.1.3 Pemakaian di Masyarakat

Daun duwet secara tradisional digunakan dalam pengobatan disentri oleh masyarakat di Indonesia. Buah yang sudah matang biasa dimakan dalam keadaan segar dan juga dibuat *tarts*, saus, selai, sirup, *squash*, *sherbet*, dan anggur. Kegunaan lain tanaman duwet adalah daun dapat digunakan sebagai pakan ternak, bunga mengandung banyak nektar dengan kualitas baik, kulit kayu yang berasa sepat dan dapat digunakan sebagai obat kumur dan untuk pewarna, tepung bijinya bermanfaat untuk mengobati kencing manis, disentri, diare, diuretik, dan penyakit lainnya. Manfaat lain tanaman duwet untuk kesehatan juga sudah diteliti secara ilmiah. Kulit batang tanaman memiliki aktifitas antibakteri dan antiinflamasi. Bagian buah dan biji digunakan untuk pengobatan diabetes. Selain itu, buah duwet juga menunjukkan aktivitas antioksidan. Bagian daun juga digunakan untuk pengobatan diabetes, konstipasi, dan antibakteri (Sari, 2010).

2.1.4 Kandungan Zat Aktif dalam Tanaman Duwet

1. Akar

Akar dari tanaman duwet telah dilaporkan mengandung berbagai flavonoid, glikosida dan isorhamnetin 3-O-rutinosida (Ramya *et al.*, 2012).

2. Batang

Batang pohon duwet telah dilaporkan mengandung friedelin, friedelan-3- α -ol, asam betulinat, β -sitosterol, kaempferol, β -sitosterol-D-glukosida, asam galat, asam elagat, galotanin, elagitanin dan myricetin, eugenin dan asam lemak ester dari epi-friedelanol, quercetin, bergenin, flavonoid dan

tanin, derivat lignan cuminiresinol, syzygiresinol A, syzygiresinol B, didemetil-5-hidroksipinoresinol, dimetilpinoresinol, didemetokspinoresinol, pinoresinol dan 4'-metil-5'-hidroksipinoresinol (Ramya *et al.*, 2012).

3. Daun

Daun duwet kaya akan flavonoid, alkaloid, glikosida, steroid, fenol, tanin dan saponin. Daun duwet diketahui mengandung β -sitosterol, asam betulinat, asam krategolat, n-heptacosan, n-nonacosan, n-hentriacontan, noctacosanol, n-triacontanol, n-dotricontanol, myricetin, myricitrin dan glikosida flavonol, myricetin 3-O-(4"-asetil)-a-Lrhamnopiranosida, triterpenoid dan tanin, eikosan, octacosan, octadecan. Minyak esensial dari daun duwet kaya akan pinocarveol, α -terpeneol, myrtenol, eucarvon, muurolol, α -myrtenal, cineole, aseton geranil, α -cadinol dan pinocarvon. Dilaporkan juga dalam daun duwet terkandung asam elagat, isoquercetin, quercetin, dan kaempferol (Ramya *et al.*, 2012).

4. Bunga

Bunga duwet telah dilaporkan mengandung asam eragolat (asam maslinat), flavonoid - isoquercetin, quercetin, kaempferol, myricetin-3-L-arabinosida, quercetin-3-D-galactosida, dihidromyricetin, asam oleanolat, asam asetil oleanolat, eugenol-triterpenoid A dan eugenol-triterpenoid B (Ramya *et al.*, 2012).

5. Buah

Beberapa penelitian membuktikan bahwa daging buah duwet mengandung antosianin, delphinidin, petunidin, malvidin-diglukosida, yang menyebabkan warna ungu cerah. Buahnya kaya akan raffinosa, glukosa, fruktosa, asam sitrat, asam malat, asam galat, delphinidin-3-

gentiobiosida, malvidin-3-lamaribiosida, petunidin-3-gentiobiosida, sianidin diglikosida (Ramya *et al.*, 2012). Penelitian lain (Paul *et al.*, 2004) juga menunjukkan bahwa daging buah duwet mengandung banyak nutrisi dan mineral seperti sodium, potassium, kalsium, fosfor, besi and zink. Vitamin larut air seperti asam askorbat, tiamin and niasin. Karbohidrat seperti glukosa, manosa, sukrosa, maltosa, fruktosa, galaktosa dan manosa. Asam amino bebas seperti alanin, asparagin, tirosin, glutamin dan sistein. Juga terdapat chrysanthem, 43 cinnamaldehyde (cis/trans), cinnamyl aasetat (cis/trans), cinnamyl alcohol (cis/trans), sitronelol, geraniol, herol oksida, hotrienol, linalool, linalool oksida, nerol, fenilethanol β , fenilpropanal 3, fenilpropanol 3 (Ramya *et al.*, 2012).

6. Biji

Biji adalah bagian tumbuhan yang paling banyak dipelajari dan dilaporkan mengandung jambosin, lemak, resin, albumen, tanin, corilagin, eicosane, heptacosane, 1-chlorooctadecan, octacosane, tetratetracontane, octadecane, asam difenat, asam elagat, taksifolin, asam gallat, coniferyl alkohol, pinoresinol-O- β glukosida, syringaresinol-O- β -glukosida, asam elaeostearat. Asam laurat, oleat, asam linoleat, asam malvalat, asam myristat, asam palmitat, asam stearat, asam stercolat, asam vernolat, dan ferulat serta derivatnya, guaicol, resorcinol dimetil eter. β pinene seperti monoterpenoid, -terpinen, terpinolen, borbeneol, β -phellandrene, α -terpineol dan eugenol. Biji cukup kaya akan protein dan kalsium (Ramya *et al.*, 2012).

2.1.4.1 Flavonoid

Flavonoid adalah subgrup besar dari metabolit sekunder yang dikategorikan sebagai senyawa fenolik, secara luas ditemukan pada berbagai tumbuhan dan prokariot. Lebih dari 6500 flavonoid telah diidentifikasi. Flavonoid melindungi tumbuhan terhadap berbagai tekanan biotik maupun abiotik dan menunjukkan aneka spektrum dari fungsi biologis serta berperan penting dalam interaksi antara tumbuhan dan lingkungannya. Flavonoid menyerap radiasi UV berbahaya yang menginduksi kerusakan sel. Flavonoid tidak terlalu penting untuk kelangsungan hidup tumbuhan, namun flavonoid bersifat bioaktif dan mempengaruhi transportasi hormon tumbuhan yaitu auksin. Selain itu flavonoid juga bertanggung jawab untuk memberi warna pada bunga, melindungi tanaman dari mikroba dan serangga (Samanta *et al.*, 2011).

Zat aktif disebut sebagai flavonoid bila mengandung kerangka karbon C₆-C₃-C₆. Berdasarkan posisi ikatan cincin aromatik ke bagian benzopyran (chromano), golongan produk natural ini dapat dibagi menjadi tiga kelas yaitu Flavonoid (2-phenylbenzopyran), Isoflavonoid (3-benzopyran) dan Neoflavonoid (4-benzopyran) (Samanta *et al.*, 2011).

Sifat kelarutan flavonoid tergantung pada jenisnya. Isoflavon, flavanon, dan flavonol merupakan flavonoid dengan polaritas rendah sehingga lebih larut bila di ekstraksi dengan kloroform, diklorometan, dietil eter, atau etil asetat. Sedangkan glikosida flavonoid lebih larut bila di ekstraksi dengan alkohol atau campuran alkohol dan air (Andersen *et al.*, 2006). Penelitian lain menunjukkan ekstraksi dengan pelarut etanol 80% menghasilkan flavonoid dengan jumlah lebih tinggi dan kemampuan antioksidan lebih baik daripada ekstraksi dengan pelarut metanol 80% (Anwar *et al.*, 2012).

Penelitian epidemiologis menyebutkan bahwa konsumsi teratur flavonoid dapat melindungi manusia terhadap penyakit yang berhubungan dengan stres oksidatif seperti penyakit Alzheimer, dan penuaan. Flavonoid telah dipercaya melindungi terhadap kerusakan oleh radikal bebas dan berperan sebagai antioksidan. Efek biologis lain termasuk peningkatan aliran darah, dan menghambat radiasi ultraviolet B (Sisa *et al.*, 2010). Selain itu diketahui bahwa flavonoid juga memiliki banyak sifat berguna lainnya seperti anti-inflamasi, aktivitas esterogenik, inhibisi enzim, antibakteri, anti alergi, aktivitas vaskular dan aktivitas antitumor sitotoksik. Aktivitas antibakteri dari flavonoid berdasarkan berbagai mekanisme, yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sitoplasmik, menghambat beberapa enzim dan menghambat metabolisme energi. Flavonoid sering ditemukan pada buah, sayuran, kacang, biji, batang, bunga, teh, anggur, propolis dan madu (Cushnie *et al.*, 2005).

2.1.4.2 Alkaloid

Definisi yang tepat dari alkaloid sulit untuk dijelaskan, karena tidak ada batas yang jelas antara alkaloid dengan kompleks amin yang terbentuk secara natural. Isolasi pertama kali alkaloid adalah saat abad ke-19 oleh apoteker Perancis Derosne yang mengisolasi alkaloid yang kemudian diketahui sebagai narcotine pada tahun 1803. Pada pertengahan tahun 1940 telah ditemukan 800 jenis alkaloid, dan karena perkembangan teknologi pada 50 tahun berikutnya jumlah alkaloid yang ditemukan mencapai 10000 (Evans, 2009).

Kebanyakan alkaloid adalah substansi kristalin yang bersatu dengan asam untuk membentuk garam. Pada tumbuhan, alkaloid bisa muncul dalam bentuk bebas, sebagai garam atau sebagai N-oksida. Dengan tambahan elemen karbon, hidrogen dan nitrogen, kebanyakan alkaloid mengandung oksigen.

Beberapa senyawa seperti nikotin dari tembakau, bebas dari oksigen dan berbentuk cairan (Evans, 2009).

Alkaloid dibagi menjadi dua divisi luas yaitu alkaloid atipikal atau non-heterosiklik, biasa disebut 'proto-alkaloid' atau *biological amines* dan heterosiklik atau alkaloid tipikal, yang dibagi menjadi 14 grup tergantung pada struktur cincinnya (Evans, 2009). Alkaloid larut dengan baik pada etanol murni, etanol 95% dan etanol 80%, sedangkan kelarutan di etanol 60% rendah dan sangat buruk di air (Ding *et al.*, 2010).

Dalam sejarah, alkaloid dari ekstrak tumbuhan digunakan sebagai cairan pengobatan dan sebagai racun. Berbagai macam alkaloid telah dimanfaatkan dalam dunia pengobatan seperti morfin, kodein, atropin, kafein dan kina (Aharoni, 2007). Alkaloid memiliki efek farmakologis seperti antiprotozoa, sitotoksik dan antiinflamasi. Selain itu alkaloid juga memiliki efek antibakteri. Mekanisme antibakteri dari alkaloid diduga melalui DNA interkalator dan inhibitor sintesis DNA melalui inhibisi topoisomerase (Karou *et al.*, 2005).

2.1.4.3 Tanin

Tanin adalah kelompok besar dan beragam dari senyawa polifenol yang ditemukan pada banyak spesies tumbuhan. Tanin mempunyai fungsi protektif pada kulit akar dan batang serta lapisan luar lain dari tumbuhan. Tanin bersifat astringen atau sepat karena tingginya kadar polifenol yang dimiliki. Sifat ini menyebabkan tanin mampu membentuk kompleks kuat dengan protein, pati dan makromolekul lain (Clinton, 2009). Berat molekul tanin beragam dari 500 hingga 3000 Da. Tanin ditemukan sebagai massa tak berbentuk yang terlihat seperti serpihan atau bubuk berwarna kekuningan atau coklat muda (Ashok *et al.*, 2012).

Terdapat dua kategori dari tanin yaitu *condensed tannin* dan *hydrolyzed tannin*. *Condensed tannin* disebut juga proantosianidin merupakan polimer dari 2 hingga 50 (atau lebih) unit flavonoid yang bergabung oleh ikatan karbon-karbon. Beberapa tanin tipe *condensed* tidak dapat larut dalam air, namun *hydrolyzed tannin* dan kebanyakan *condensed tannin* larut dalam air dan pelarut polar organik lain (Ashok *et al.*, 2012).

Tanin memiliki efek antidiare, hemostatik dan antihemoroid. Efek anti inflamasi tanin dapat membantu mengontrol gastritis, esofagitis, enteritis dan gangguan iritasi usus. Tanin tidak hanya mengobati luka bakar dan menghentikan pendarahan, tetapi juga dapat menghentikan infeksi. Selain itu tanin dapat menyebabkan regresi tumor yang muncul dalam jaringan, namun bila digunakan secara berlebihan atau dalam jangka panjang, dapat menimbulkan kemunculan tumor. Tanin telah dilaporkan mempunyai efek antivirus, antibakteri dan antiparasitik (Ashok *et al.*, 2012). Toksisitas tanin terhadap mikroba berhubungan dengan aksinya terhadap membran sel mikroorganismenya. Pada beberapa jenis tanin diketahui memiliki kemampuan yang kuat untuk berikatan dengan zat besi yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri, karena kurangnya zat besi pada bakteri menimbulkan reduksi perkursor DNA, formasi heme dan mengganggu kebutuhan esensial lainnya (Akiyama *et al.*, 2001).

2.1.4.4 Saponin

Saponin secara umum diidentifikasi dari rasanya yang pahit, membentuk sabun dalam larutan, dan kemampuannya melisis eritrosit (Hassan, 2008). Saponin adalah metabolit sekunder yang dapat ditemukan pada berbagai spesies tumbuhan. Disimpan dalam sel tumbuhan sebagai perkursor inaktif tetapi siap untuk dikonversikan menjadi antibiotik yang aktif secara biologis

oleh enzim sebagai respon terhadap serangan patogen. Peran saponin dalam tumbuhan adalah sebagai proteksi dari serangan patogen dan hama tumbuhan. Molekul ini juga memiliki nilai komersial dan diproses menjadi obat, sabun, pemanis, pemodifikasi rasa dan kosmetik (Mert, 2005).

Saponin merupakan senyawa terglisosilasi yang dapat dibagi menjadi tiga kelompok yaitu triterpenoid, steroid netral dan steroid alkaloid (Hassan, 2008). Banyak aktifitas farmakologis saponin telah dilaporkan seperti antibakteri, antifungal, antiviral, hepatoprotektif, antiinflamasi dan anti-ulkus (Soetan *et al.*, 2006). Kemungkinan efek antibakteri dari saponin dikarenakan interaksinya dengan membran sel bakteri. Saponin dapat terlarut pada pelarut organik seperti metanol murni, air dan etanol (Hassan, 2008).

2.2. Antibakteri

2.2.1 Definisi

Antibakteri adalah obat pembasmi bakteri, sedangkan antimikroba ialah obat pembasmi mikroba, khususnya mikroba yang merugikan manusia. Antibiotik adalah zat yang dihasilkan oleh suatu mikroba, terutama fungi, yang dapat menghambat atau dapat membasmi mikroba jenis lain. Obat yang digunakan untuk membasmi mikroba, penyebab infeksi pada manusia, ditentukan harus memiliki sifat toksisitas selektif setinggi mungkin. Artinya, obat tersebut haruslah bersifat sangat toksik untuk mikroba, tetapi relatif tidak toksik untuk hospes. Sifat toksisitas selektif yang absolut belum atau mungkin tidak akan diperoleh (Gunawan *et al.*, 2009).

2.2.2 Aktivitas dan Spektrum

Berdasarkan sifat toksisitas selektif, ada antimikroba atau antibakteri yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri, dikenal sebagai aktivitas

bakteriostatik dan ada yang bersifat membunuh bakteri, dikenal sebagai aktivitas bakterisid. Kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri atau membunuhnya, masing-masing dikenal sebagai kadar hambat minimal (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM). Antimikroba tertentu aktivitasnya dapat meningkat dari bakteriostatik menjadi bakterisid bila kadar antimikrobanya ditingkatkan melebihi KHM (Gunawan *et al.*, 2009).

Berdasarkan kemampuannya mempengaruhi banyaknya jenis mikroba, dikenal antimikroba berspektrum sempit dan berspektrum luas. Antimikroba yang berspektrum sempit hanya mempengaruhi beberapa jenis mikroba, misalnya penisilin G hanya efektif terhadap bakteri Gram positif. Antimikroba berspektrum luas mempengaruhi bakteri Gram positif dan Gram negatif serta beberapa mikroba lainnya, misalnya kloramfenikol, ampisilin, tetrasiklin, dan sulfonamid (Dzen *et al.*, 2003).

2.2.3 Mekanisme Kerja

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antimikroba dibagi dalam lima kelompok sebagai berikut :

1. Antimikroba yang menghambat metabolisme sel mikroba. Aktivitas enzim seringkali dihambat oleh senyawa yang mempunyai struktur mirip dengan substrat asalnya. Senyawa penghambat ini bergabung dengan enzim sedemikian rupa sehingga dapat mencegah reaksi enzim dengan substrat dan reaksi-reaksi katalitik. Kebanyakan senyawa penghambat tersebut bersifat analog dengan faktor-faktor pertumbuhan bakteri, misalnya vitamin, asam amino, purin dan pirimidin. Senyawa penghambat seperti ini disebut senyawa anti metabolit, atau senyawa yang mampu

menghambat metabolisme sel. Antimikroba yang termasuk golongan ini adalah sulfonamid, trimetoprim dan pirimetamin (Dzen *et al.*, 2003).

2. Antimikroba yang menghambat sintesis dinding sel mikroba. Obat yang termasuk dalam kelompok ini adalah penisilin, sefalosporin, basitrasin, vankomisin, dan sikloserin. Dinding sel bakteri terdiri dari peptidoglikan, yaitu suatu kompleks polimer mukopeptida (glikopeptida). Sikloserin menghambat reaksi yang paling dini dalam proses sintesis dinding sel, diikuti berturut-turut oleh basitrasin, vankomisin, dan diakhiri oleh penisilin dan sefalosporin, yang menghambat reaksi terakhir (transpeptidasi) dalam rangkaian reaksi tersebut. Oleh karena tekanan osmotik dalam sel bakteri lebih tinggi daripada di luar sel maka kerusakan dinding sel bakteri akan menyebabkan terjadinya lisis, yang merupakan dasar efek bakterisidal pada bakteri yang peka (Gunawan *et al.*, 2009).
3. Antimikroba yang mengganggu keutuhan membran sel mikroba. Obat yang termasuk dalam kelompok ini ialah polimiksin, golongan poliene, golongan azol. Membran sel menjaga komposisi internal dari sel dengan cara berfungsi di dalam permeabilitas selektif dan proses transport aktif. Rusaknya membran sel dapat menyebabkan metabolit penting didalam sel lolos keluar sel dengan akibat kematian sel (Dzen *et al.*, 2003).
4. Antimikroba yang menghambat sintesis protein sel mikroba. Obat yang termasuk dalam kelompok ini adalah golongan aminoglikosid, makrolid, linkomisin, tetrasiklin, dan kloramfenikol. Untuk kehidupannya sel mikroba perlu mensintesis berbagai protein. Sintesis protein berlangsung di ribosom, dengan bantuan mRNA dan tRNA. Pada bakteri, ribosom terdiri atas dua sub unit, yang berdasarkan konstanta sedimentasi dinyatakan

sebagai ribosom 30S dan 50S. Untuk berfungsi pada sintesis protein, kedua komponen ini akan bersatu pada pangkal rantai mRNA menjadi ribosom 70S. Penghambatan sintesis protein terjadi dengan berbagai cara. Seperti pada streptomisin yang mengikat komponen ribosom 30S dan menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca oleh tRNA pada waktu sintesis protein, sehingga protein yang terbentuk abnormal dan nonfungsional bagi sel mikroba (Gunawan *et al.*, 2009).

5. Antimikroba yang menghambat sintesis asam nukleat sel mikroba. Antimikroba yang termasuk dalam kelompok ini adalah rifampisin, dan golongan kuinolon. Pada rifampisin, salah satu derivat rifamisin, berikatan dengan enzim polimerase-RNA sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA oleh enzim tersebut. Golongan kuinolon menghambat enzim DNA girase pada bakteri yang fungsinya menata kromosom yang sangat panjang menjadi bentuk spiral hingga bisa muat dalam sel bakteri yang kecil (Gunawan *et al.*, 2009).

2.2.4 Resistensi Bakteri terhadap Antibiotik

Munculnya resistensi patogen bakterial terhadap antibiotik merupakan perkembangan serius yang mengancam berakhirnya era antibiotik. Di Amerika Serikat, lebih dari 70% bakteri yang berhubungan dengan infeksi yang didapat dirumahsakit resisten pada satu atau lebih obat yang sebelumnya digunakan untuk mengobati infeksi bakteri tersebut. Pusat kontrol penyakit dan pencegahan (*Centers for Disease Control, CDC*) telah menguraikan serangkaian langkah-langkah untuk mengurangi resistensi antibiotik, termasuk penggunaan vaksinasi yang tepat, penggunaan kateter yang tepat dan bijaksana, penanganan penyakit menular dengan segera oleh para ahli, dan seleksi antibiotik berdasarkan pada

pola kerentanan lokal. Selain itu juga diperlukan teknik antiseptik yang benar untuk mencegah kontaminasi, penggunaan profilaksis antibiotik yang sesuai untuk prosedur bedah, prosedur kontrol infeksi untuk mengisolasi patogen, dan kepatuhan untuk menjaga kebersihan tangan (Brunton *et al.*, 2008).

Secara garis besar, bakteri dapat menjadi resisten terhadap suatu antimikroba melalui tiga mekanisme, yaitu obat tidak mencapai tempat kerjanya didalam sel mikroba, inaktivasi obat, dan mikroba mengubah tempat ikatan (*binding site*) antimikroba. Penyebaran resistensi pada mikroba dapat terjadi secara vertikal (diturunkan ke generasi berikutnya) atau yang lebih sering terjadi ialah secara horizontal dari suatu sel donor (Gunawan *et al.*, 2009).

Dilihat dari segi bagaimana resistensi dipindahkan maka dapat dibedakan 4 cara yaitu mutasi yang terjadi secara spontan, acak dan tidak tergantung dari ada atau tidaknya paparan dari antimikroba, transduksi yaitu kejadian dimana suatu mikroba menjadi resisten karena mendapat DNA dari bakteriofag, transformasi yang terjadi karena mikroba mengambil DNA bebas yang membawa sifat resisten dari sekitarnya, dan konjugasi dimana transfer resisten terjadi langsung antara dua mikroba dengan suatu jembatan yang disebut pilus seks (Gunawan *et al.*, 2009).

Terjadinya resistensi bakteri terhadap obat-obatan dapat diinduksi oleh beberapa hal praktis, seperti *overused* dan *misused* antimikroba oleh para dokter, penggunaan bebas antimikroba oleh masyarakat untuk pengobatan demam ringan (*common cold*), penggunaan antimikroba pada penderita immunosupresi untuk mencegah infeksi, kegagalan penderita untuk menyelesaikan regimen pengobatan dengan antimikroba, penggunaan yang lama dengan dosis rendah pada pengobatan jerawat, penggunaan antimikroba di dalam bidang

peternakan, serta perpindahan bakteri yang resisten kedalam area lokasi yang baru (Dzen *et al.*, 2003).

2.2.5 Uji Sensitivitas Bakteri terhadap Antimikroba *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 *et al.*, 2003).

2.2.5.1 Metode Dilusi

Metode dilusi digunakan untuk menentukan KHM (kadar hambat minimal) dan KBM (kadar bunuh minimal) dari obat antimikroba. Ada dua macam tes yang dapat digunakan yaitu metode dilusi tabung dan metode dilusi agar (Cavalieri, 2005).

Metode dilusi tabung (*broth dilution test*) disebut juga *tube-dilution method* atau *macrobroth diution method*. Prosedur ini menggunakan antibiotik yang di encerkan dua kali (misalnya konsentrasi 1, 2, 4, 8, 16 mg/mL) dalam medium cairan pertumbuhan pada tabung. Tabung yang mengandung antibiotik di inokulasikan dengan suspensi bakteri standar $1-5 \times 10^6$ CFU/mL. Dilanjutkan dengan inkubasi selama satu malam dalam suhu 35°C, lalu amati pertumbuhan bakteri yang terlihat pada adanya kekeruhan dalam tabung. Konsentrasi terendah dari antibiotik yang mencegah pertumbuhan menunjukkan nilai KHM. Keuntungan teknik ini adalah hasil yang kuantitatif. Kerugian teknik dilusi tabung adalah pekerjaan yang menjemukan karena harus dilakukan secara manual mempersiapkan larutan-larutan bakteri untuk tiap tes, kemungkinan eror dalam

persiapan larutan antibiotik, dan jumlah yang relatif besar untuk reagen dan ruang yang dibutuhkan bagi tiap tes (Jorgensen *et al.*, 2009).

Metode dilusi agar (*agar dilution method*), pada metode ini agen antimikrobal digabungkan pada medium agar dengan tiap cawan petri mengandung konsentrasi antimikroba yang berbeda. Jadi larutan antimikroba yang sudah diencerkan secara serial dicampurkan kedalam medium agar yang masih cair (tetapi tidak terlalu panas) kemudian agar dibiarkan memadat, dan selanjutnya diinokulasi dengan bakteri. Konsentrasi bakterinya yaitu $1-2 \times 10^4$ CFU/0.1ml tetesan, yang diperoleh dari pengenceran $1-2 \times 10^8$ CFU/ml bakteri. Konsentrasi terendah dari antibiotik yang dapat membunuh bakteri menunjukkan nilai KHM. Keuntungan dari teknik ini adalah pertumbuhan yang memuaskan dari kebanyakan organisme. Kerugiannya adalah tenaga kerja yang dibutuhkan untuk mempersiapkan medium agar dan hanya dapat disimpan dalam jangka yang cukup pendek. Metode dilusi agar umumnya tidak dikerjakan secara rutin pada laboratorium klinik tetapi ideal untuk laboratorium rujukan atau laboratorium penelitian yang harus menguji sejumlah besar isolat (Cavalieri, 2005).

2.2.5.2 Metode Difusi

Teknik metode difusi cakram (*Disk diffusion testing*) adalah obat diletakkan kedalam kertas saring (cakram kertas). Konsentrasi bakteri uji yang digunakan sesuai dengan standart McFarland 0.5 atau setara dengan 1.5×10^8 CFU/ml. Cakram kertas yang mengandung obat tertentu ditanam pada media perbenihan agar padat yang telah dicampur dengan mikroba yang di uji, kemudian diinkubasikan 37°C selama 18-24 jam. Selanjutnya diamati adanya area (zona) jernih disekitar cakram kertas yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan mikroba (Cavalieri, 2005).

Evaluasi hasil uji kepekaan (apakah isolat mikroba sensitif atau resisten terhadap obat), dapat dilakukan dengan dua cara yaitu cara Kirby Bauer dimana area jernih (zona hambatan) disekitar cakram dibandingkan dengan tabel standar yang dibuat oleh NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standard*), dan cara Joan-Stokes dengan membandingkan radius zona hambatan yang terjadi antara bakteri kontrol yang sudah diketahui kepekaannya terhadap obat tersebut dengan isolat bakteri yang diuji (Dzen *et al.*, 2003).

2.3 *Escherichia coli*

2.3.1 Taksonomi

Bakteri *E. 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. Klasifikasi bakteri *E. coli* adalah sebagai berikut :

Family : *Enterobacteriaceae*

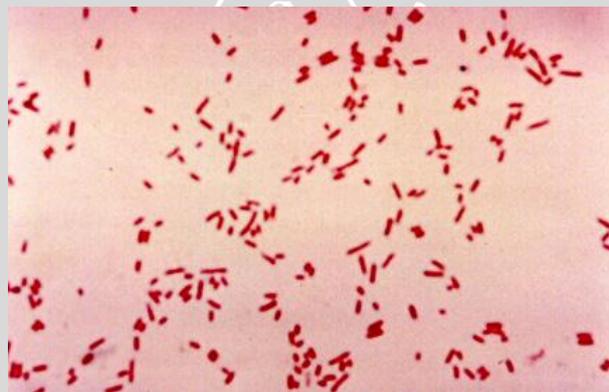
Genus : *Escherichia*

Species : *Escherichia coli*

Studi homologi DNA menunjukkan bahwa *Shigella* termasuk dalam *Escherichia*, namun karena kepentingan klinis dari disentri basiler, *Shigella* dipertimbangkan untuk tetap dipisahkan. Maka, diluar *Shigella*, dalam genus *Escherichia* terdapat enam spesies, lima diantaranya berhubungan dengan penyakit pada manusia. *E. coli* bertanggung jawab pada hampir semua infeksi klinis yang disebabkan oleh genus *Escherichia*, sementara spesies yang lain kurang dari 1% (Dzen *et al.*, 2003).

2.3.2 Morfologi

E. coli 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. Struktur sel *E. coli* dikelilingi oleh membran sel, terdiri dari sitoplasma yang mengandung nukleoprotein. Membran sel *E. coli* ditutupi oleh dinding sel berlapis kapsul. Flagela dan pili *E. coli* menjulur dari permukaan sel. Tiga struktur antigen utama permukaan yang digunakan untuk membedakan serotipe golongan *E. coli* adalah dinding sel, kapsul dan flagela (Anggraeni, 2010).



Gambar 2.2 *E. coli* pada pewarnaan Gram; berbentuk batang, Gram negatif, pembesaran 1000x (Madappa et al., 2012)

Dinding sel *E. coli* berupa lipopolisakarida yang bersifat pirogen dan menghasilkan endotoksin serta diklasifikasikan sebagai antigen O. Kapsul *E. coli* berupa polisakarida yang dapat melindungi membran luar bakteri dari fagosit dan sistem komplemen, diklasifikasikan sebagai antigen K. Flagela *E. coli* terdiri dari protein yang bersifat antigenik dan dikenal sebagai antigen H. Faktor virulensi *E. coli* juga disebabkan oleh enterotoksin, hemolisin, kolisin, 6 siderophor, dan molekul pengikat besi (aerobaktin dan entrobaktin) (Anggraeni, 2010).

2.3.3 Media Selektif

E. coli dapat tumbuh dengan baik pada media yang lazim digunakan dalam pembenihan bakteri. *E. coli* pada medium diferensial memfermentasi laktosa, terlihat mengilap seperti logam, motil, koloni rata dan tidak lengket. Menunjukkan hasil positif pada tes indol, lisin dekarboksilase, dan fermentasi manitol, serta menghasilkan gas dari glukosa. Pada isolat dari urin dapat segera diidentifikasi sebagai *E. coli* dengan melihat hemolisisnya pada agar darah, morfologi koloni yang khas dengan warna kilatan logam (*metallic sheen*) pada medium diferensial seperti agar EMB, dan tes bercak indol yang positif (Jawetz *et al.*, 2007). Lebih dari 90% isolat *E. coli* positif terhadap β -gukoronidase dengan menggunakan substrat *4-methyl-umbelliferyl- β -glucuronide* (MUG). Isolat dari tempat lain selain urine, dengan sifat yang khas seperti di atas dan uji oksidase negatif umumnya dipastikan sebagai *E. coli* dengan tes MUG positif (Dzen *et al.*, 2003).

2.3.4 Struktur Antigen

E. coli memiliki antigen-antigen yang terdapat pada permukaan sel *Enterobacteriaceae* yaitu (Jawetz *et al.*, 2007):

1. Antigen O, adalah bagian terluar dari lipopolisakarida dinding sel dan terdiri dari unit polisakarida yang berulang. Beberapa polisakarida O-spesifik mengandung gula yang unik. Antigen O resisten terhadap panas dan alkohol dan biasanya terdeteksi oleh agutinasi bakteri. Antibodi terhadap antigen O terutama adalah IgM. *E. coli* dapat bereaksi silang dengan beberapa spesies providensia, klebsiela, dan salmonela. Kadang-kadang, antigen O berkaitan dengan penyakit yang spesifik pada

manusia, misalnya *E. coli* tipe O spesifik ditemukan pada diare dan infeksi saluran kemih.

2. Antigen K, pada *E. coli* antigen K merupakan polisakarida. Antigen K dapat mengganggu aglutinasi dengan antiserum O dan dapat berhubungan dengan virulensi.
3. Antigen H, terdapat di flagela dan dedenaturasi atau dirusak oleh panas atau alkohol. Antigen ini dipertahankan dengan memberikan formalin pada varian bakteri yang motil. Antigen H seperti ini beraglutinasi dengan antibodi anti-H, terutama IgG. Penentu dalam antigen H adalah fungsi sekuens asam amino pada protein flagel (flagelin). Antigen H pada permukaan bakteri dapat mengganggu aglutinasi dengan antibodi anti-O.

2.3.5 Penentu Patogenesitas

2.3.5.1 Faktor Permukaan

Antigen tipe K1 merupakan kapsul asam polisialat yang ditemukan pada 80% penderita meningitis yang disebabkan oleh *E. coli*. Kapsul ini tahan terhadap proses pembunuhan baik oleh neutrofil maupun serum normal manusia. Kapsul K1 juga bisa membantu kelangsungan hidup mikroorganisme dalam darah dan cairan spinal neonatus karena kemiripannya dengan bentuk embrionik asam polisialat dari *Neural Cell Adhesion Molecules* (NCAM). Namun demikian, keberadaan antigen K1 ini tidak cukup untuk menjelaskan semua virulensi *E. coli* pada penyakit neonatal (Dzen *et al.*, 2003).

Tipe antigen O pada mikroorganisme ini tampaknya juga penting, seperti halnya produksi *S fimbriae* yang memiliki predileksi ikatan pada reseptor yang terdapat pada endothelium vaskuler dan lapisan epitel pada otak anak menci (Dzen *et al.*, 2003).

Di samping fimbria tipe S, *E. coli* juga memproduksi berbagai macam fimbria yang mampu melekatkan organisme tersebut ke berbagai jaringan hospes. Fimbria-fimbria ini dibagi dalam dua kelompok besar yaitu *mannose resistant fimbriae* dan *mannose sensitive fimbriae* (Dzen *et al.*, 2003).

2.3.5.2 Enterotoksin

Enterotoksin merupakan protein atau peptida yang diproduksi oleh mikroorganisme patogenik. Enterotoksin bakteri adalah molekul poten yang mampu mengganggu hemostasis normal dalam usus pada konsentrasi nanomolar. Secara umum, beberapa molekul cukup untuk intoksikasi dan membunuh sel target. Molekul-molekul ini disekresi ke dalam lumen usus setelah bakteri melekat pada epitelium. Hasilnya adalah aktivasi sekresi ion-ion Cl^- dan inhibisi adsorpsi ion-ion Na^+ oleh enterosit dengan osmosis yang menyebabkan pelepasan air. Sekresi air menyebabkan diare, dan pada beberapa kondisi dapat menjadi fatal (Dubreuil, 2012).

Kemampuan *E. coli* untuk memproduksi enterotoksin terutama tergantung oleh adanya plasmid yang menyandi produksi toksin. Galur *E. coli* yang memiliki plasmid tertentu akan memproduksi *heat-labile enterotoxin* (LT) yang mirip enterotoksin dari *Vibrio cholerae* (Dzen *et al.*, 2003).

LT memiliki dua subtipe, yaitu LT-I dan LT-II. LT-I dan LT-II dapat disubdivisikan lebih lanjut berdasarkan pada variasi strukturnya (variasi antigenik), host, dan peran molekul sebagai reseptor, begitu juga dengan faktor penentu ikatan. LT merupakan toksin dengan berat molekuler tinggi (85,000 Da). LT termasuk dalam famili toksin AB₅ dimana molekul 5B terlibat dalam ikatan reseptor LT yang tampak pada permukaan enterosit dan satu subunit A dimana merupakan bagian aktif secara enzimatis dari toksin (Dubreuil, 2012).

Disamping LT, *E. coli* juga memproduksi dua enterotoksin yang tahan panas (*heat-stable toxin*), yaitu STa (ST-I) dan STb (ST-II). ST adalah polipeptida dengan berat molekul 1500-2000 Da yang larut dalam metanol. ST memiliki struktur sekunder *tightly coiled* yang tampaknya dibutuhkan untuk aktivitas sebagaimana terbukti melalui kandungan sistein yang tinggi, inaktivasinya oleh bahan pereduksi dan pHnya yang alkalis (Dzen *et al.*, 2003).

2.3.5.3 Verotoksin (*Shigalike Toxins*)

Galur *E. coli* yang memproduksi shigatoksin, mampu memproduksi toksin yang sangat mirip dengan toksin yang diproduksi oleh *Shigella dysenteriae* tipe 1. Dua tipe toksin telah dideskripsikan yaitu shigatoksin 1 (Stx1), yang dibedakan dengan shigatoksin yang sebenarnya dengan satu hingga tujuh perbedaan asam amino, dan shiga toksin 2 (Stx2), yang memiliki kesamaan 60% dengan Stx1. Stx, Stx1 dan Stx2 dianggap masuk dalam famili shigatoksin. Inilah yang menyebabkan bakteri ini disebut sebagai *Shiga Toxin Producing E.coli* (STEC). Secara fungsional shigatoksin aktif dideteksi dengan menggunakan tes toksisitas sel Vero, sehingga bakteri ini dapat juga disebut sebagai *Verocytotoxin Producing E.coli* (VTEC) (ECDC, 2011).

Verotoksin (shigatoksin) diproduksi oleh *E. coli* yang diinfeksi bakteriofaga. Disebut verotoksin karena efek sitotoksiknya yang menetap pada kultur sel dari jaringan Vero, yaitu suatu lapisan sel yang berasal dari sel ginjal kera (Dzen *et al.*, 2003). Shigatoksin yang diproduksi oleh *E.coli* dapat menyebabkan diare, kolitis hemoragik yang dapat memburuk dan menjadi *Hemolytic Uremic Syndrome* (HUS), yang terdiri dari mikro-angiopatik hemolitik anemia, trombositopenia dan gagal ginjal akut yang berat dan membutuhkan penanganan intensif (ECDC, 2011).

2.3.6 Manifestasi Klinik

2.3.6.1 Infeksi Saluran Kemih

E. coli adalah penyebab utama infeksi saluran kemih (ISK) dan diperkirakan 90% ISK pada wanita muda disebabkan oleh *E. coli*. Gejala dan tanda-tandanya antara lain sering berkemih, disuria, hematuria, dan piuria. Nyeri pinggang ditimbulkan oleh infeksi saluran kemih bagian atas. Tidak ada satu pun tanda dan gejala tersebut, yang khas untuk infeksi *E. coli*. Infeksi saluran kemih dapat mengakibatkan bakteremia dengan tanda-tanda klinis sepsis (Jawetz *et al.*, 2007). Wanita lebih sering terkena ISK karena perbedaan struktur anatomisnya, kematangan seksual, perubahan traktus urogenitalitas selama kehamilan dan kelahiran, serta karena adanya tumor (Dzen *et al.*, 2003). Serotipe O:K:H dan faktor virulensi tertentu terjadi lebih sering pada saluran kemih daripada di isolat feses, diperkirakan *Uropathogenic E. coli* (UPEC) berbeda dari flora usus (Xie *et al.*, 2006).

2.3.6.2 Diare

E. coli yang menyebabkan diare sangat banyak ditemukan di seluruh dunia. Galur *E. coli* yang menyebabkan diare pada manusia dibagi berdasar enam grup berdasarkan karakteristik sifat virulensinya, dan mekanisme timbulnya penyakit oleh masing-masing galur: Enterotoksigenik *E. coli* (ETEC), Enteropatogenik *E. coli* (EPEC), Enteroinvasif *E. coli* (EIEC), Enterohemoragik *E. coli* (EHEC), Enteroagregatif *E. coli* (EAEC), dan *Diffusely Adhering E. coli* (DAEC) (Servin, 2005).

2.3.6.3 Sepsis

Saat pertahanan pejamu yang normal tidak adekuat, *E. coli* dapat masuk ke peredaran darah dan menyebabkan sepsis. Neonatus mungkin sangat rentan

terhadap sepsis *E. coli* karena sedikitnya kadar antibodi IgM. Sepsis dapat terjadi karena infeksi saluran kemih (Jawetz *et al.*, 2007).

2.3.6.4 Meningitis

E. coli dan streptokokus grup B merupakan penyebab utama meningitis pada bayi. Kira-kira 75% *E. coli* dari kasus meningitis mempunyai antigen K1. Antigen ini bereaksi silang dengan polisakarida kapsular grup B dari *Neisseria meningitidis*. Mekanisme virulensi yang berhubungan dengan antigen K1 belum dimengerti (Jawetz *et al.*, 2007).

2.3.7 Uji Laboratorium Diagnostik

Uji dilakukan pada spesimen urine, darah pus, cairan spinal, sputum, atau material lain sesuai yang ditunjukkan oleh lokasi proses penyakit (Jawetz *et al.*, 2007). *E. coli* tumbuh dengan baik pada medium yang lazim digunakan untuk *Enterobacteriaceae*, dan kebanyakan galur mudah diidentifikasi dengan metode yang umum digunakan dilaboratorium (Dzen *et al.*, 2003).

2.3.8 Pengobatan

Tidak ada pengobatan tunggal yang tersedia untuk infeksi *E. coli*. Sulfonamid, ampicilin, sefalosporin, florokuinolon, dan aminoglikosida memiliki efek antibakteri yang nyata melawan bakteri enterik, tetapi sensitivitasnya sangat bervariasi, dan pemeriksaan sensitivitas pada laboratorium sangat penting dilakukan. Resistensi terhadap banyak obat sering ditemukan dan resistensi ini berada dalam kendali plasmid yang dapat ditransmisikan (Jawetz *et al.*, 2007).

Pengobatan paling baik untuk diare adalah manajemen keseimbangan cairan dan elektrolit, meskipun untuk diare infantil dan disentri basiler perlu diberikan antibiotik. Pemberian profilaksis dengan trimetoprim-sulfametoksazol (ko-trimoksazol) dapat mengurangi insiden *traveller's diarrhea*, namun beberapa

klinisi meyakini bahwa profilaksis ini hanya akan menimbulkan organisme yang resisten dan potensial untuk terjadinya bentuk karier (Dzen *et al.*, 2003).

2.4 Metode Ekstraksi

2.4.1 Maserasi

Seluruh bubuk kasar simplisia dan pelarutnya ditempatkan pada wadah tertutup dan dibiarkan pada suhu ruangan selama minimal tiga hari dengan pengadukan berkala hingga seluruh simplisia terlarut. Campuran kemudian disaring, sisanya (bahan yang padat dan lembab) ditekan, lalu cairan dijernihkan dengan filtrasi atau dekantasi (Handa *et al.*, 2008).

2.4.2 Infus

Infus segar disiapkan dengan maserasi dari simplisia dalam waktu yang singkat dengan air dingin atau air mendidih. Akan terbentuk larutan cair dari simplisia yang memang memiliki unsur mudah larut (Handa *et al.*, 2008).

2.4.3 Digesti

Merupakan salah satu cara maserasi, dimana dalam proses ekstraksi menggunakan sedikit pemanasan. Metode ini digunakan bila pada peningkatan temperatur sedang, tidak akan mengganggu hasil ekstraksi. Efisiensi penggunaan pelarut lebih baik pada teknik ini (Handa *et al.*, 2008).

2.4.4 Dekok

Simplisia kasar dididihkan dengan volume air tertentu dan dalam waktu tertentu, kemudian didinginkan, disaring dan difiltrasi. Prosedur ini sesuai untuk mengekstraksi bahan yang larut air dan tahan panas (Handa *et al.*, 2008).

2.4.5 Perkolasi

Prosedur ini paling sering digunakan untuk mengekstraksi bahan aktif atau metabolit sekunder dari bahan alam. Pelarut organik dilalirkan pada sampel sehingga pelarut akan membawa senyawa organik bersama-sama pelarut. Namun demikian, efektivitas dari proses ini hanya akan lebih besar untuk senyawa organik yang sangat mudah larut dalam pelarut yang digunakan (Lenny, 2006).

2.4.6 Ekstraksi Panas (*Soxhlet*)

Menggunakan mesin *soxhlet* dengan pemanasan. Pelarut dapat dihemat karena terjadinya sirkulasi pelarut yang selalu membasahi sampel. Proses ini sangat baik untuk senyawa yang tidak terpengaruh oleh panas (Lenny, 2006).

2.4.7 Destilasi Uap

Proses destilasi lebih banyak digunakan untuk senyawa organik yang tahan pada suhu yang cukup tinggi, lebih tinggi dari titik didih pelarut yang digunakan. Pada umumnya lebih banyak digunakan untuk minyak atsiri (Lenny, 2006).