

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Escherichia coli*

2.1.1 Taksonomi

Dalam sebuah buku yang berjudul *Text Book of Microbiology*, *Escherichia coli* digolongkan dalam suatu taksonomi, yaitu:

Kingdom	: Bacteria
Divisi	: Proteobacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gammaproteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>Escherichia coli</i> (Trivedi et al, 2010)

Escherichia coli merupakan penghuni utama di usus besar dan juga merupakan isolat penyebab utama infeksi saluran kemih dan luka infeksi, pneumonia, meningitis serta septicemia. Penelitian-penelitian yang baru juga menunjukkan bahwa galur tertentu dari *Escherichia coli* juga merupakan pathogen intestinal dan menyebabkan berbagai penyakit gastrointestinal (Dzen dkk, 2003).

2.1.2 Epidemiologi

Escherichia coli dikenal sebagai bakteri pathogen penyebab infeksi nasokomial. Infeksi nasokomial adalah infeksi yang didapatkan ketika seseorang

dirawat di rumah sakit. Infeksi nosokomial yang paling umum adalah infeksi saluran kemih, pneumonia pernafasan, infeksi pada luka pembedahan, infeksi kulit dan infeksi saluran pencernaan. . *Escherichia coli* menempati urutan kedua tertinggi penyebab infeksi nosokomial setelah *Staphylococcus aureus*. Bakteri ini bertanggung jawab atas 12-50% kejadian infeksi nosokomial, 4% dari kasus diare karena infeksi, juga 90% dari kejadian infeksi nosokomial pada saluran kemih tanpa komplikasi . Selain itu *Escherichia coli* adalah penyebab dari hampir 80% kejadian meningitis di seluruh dunia (Madappa, 2011).

Escherichia coli adalah bakteri yang bertempat tinggal sebagai normal flora di usus besar manusia, hewan, dan insekta. Selain tentunya dapat dengan mudah dijumpai di tanah, air, sampah. Sehingga penyebaran dari bakteri ini sangat luas dan dapat dengan mudah sekali menular. *Escherichia coli* juga sering dimanfaatkan dalam bidang penelitian molekular sebagai vektor untuk menyisipkan gen-gen tertentu, terkait dengan pertumbuhan yang sangat cepat dan penanganannya yang relatif mudah (Dzen dkk, 2003).

2.1.3 Morfologi dan Identifikasi

Secara morfologi, *Escherichia coli* tampak sebagai batang (basil) berukuran kecil (0,5 x 2 – 5 mm), bersifat gram negatif dan tidak membentuk spora. Bersifat motil karena memiliki flagella yang peritrikus (terletak di seluruh permukaan tubuh), hal ini akan membedakan bakteri ini dengan bakteri dari keluarga *Pseudomonadaceae* dan *Vibrionaceae* yang memiliki flagella polar. Berdasarkan

sifat-sifatnya bakteri *Escherichia coli* ini termasuk dalam keluarga Enterobacteriaceae (Dzen dkk, 2003).

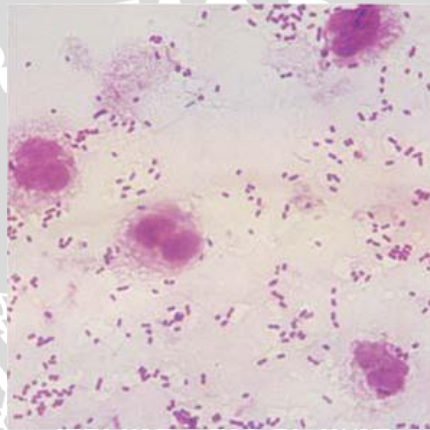
Selnya bisa terdapat tunggal, berpasangan, dan dalam rantai pendek, biasanya tidak berkapsul. Bakteri ini bersifat aerobik dan dapat juga aerobik fakultatif dalam keadaan tertentu. *Escherichia coli* merupakan flora normal usus, seringkali menyebabkan infeksi dalam kondisi yang abnormal atau saat status imun dari induknya sedang lemah. Kapsula atau mikrokapsula terbuat dari asam – asam polisakarida. Mukoid kadang–kadang memproduksi pembuangan ekstraselular yang tidak lain adalah sebuah polisakarida dari speksitifitas antigen K tertentu atau terdapat pada asam polisakarida yang dibentuk oleh banyak *Escherichia coli* seperti pada Enterobacteriaceae. Selanjutnya digambarkan sebagai antigen M dan dikomposisikan oleh asam kolanik (Farmasi USD, 2008).

Escherichia coli memfermentasikan laktosa dan memproduksi indol yang dapat digunakan sebagai acuan untuk mengidentifikasi bakteri pada makanan dan air. Koloni dari bakteri *Escherichia coli* berbentuk besar (2-3 mm), circular, konveks dan tidak berpigmen pada nutrient dan media darah (Nuraeni, Wibisono, Indrial. 2000).

Untuk mengidentifikasi bakteri *Escherichia coli* ini, selain dengan melihat morfologinya dengan metode pewarnaan Gram dan reaksi biokimia, identifikasi bakteri juga dapat dilakukan dengan menggunakan media-media pertumbuhan, misalnya pada media Kliger Iron Agar (KIA), Semi solid Sucrose medium (SSS), Lysine Iron Agar (LIA), Motility Indol Ornithine (MIO). Bakteri *Escherichia coli*

memiliki ciri pertumbuhan yang khas pada masing-masing media pertumbuhan (Raharni dkk, 2000).

Salah satu uji identifikasi lainnya adalah medium triple sugar iron (TSI) yang seringkali digunakan untuk membedakan *Salmonella* dan *Shigella* dari bakteri enteric batang gram negatif lain yang terdapat dalam biakan tinja (Dzen dkk, 2003).



Gambar 2.1 *Escherichia coli* Pewarnaan Gram (Kayser et. Al, 2005)

2.1.4 Ciri-Ciri Pertumbuhan

Escherichia coli mudah tumbuh pada media sederhana yang digunakan sehari-hari. Umumnya, *lactose fermented* menguraikan glukosa menjadi asam dan gas (aerogenik) dan ada yang dapat memproduksi *hydrogen sulfide* (Soemarno, 2000).

Escherichia coli merupakan bakteri fakultatif anaerob, kemoorganotropik, mempunyai tipe metabolisme fermentasi dan respirasi tetapi pertumbuhannya paling banyak di bawah keadaan anaerob, pertumbuhan yang baik pada suhu optimal 37°C pada media yang mengandung 1% peptone sebagai sumber karbon dan nitrogen (Suwandi, 1999).

a. Media Eosin Methylene Blue (EMB)

Media ini mempunyai keistimewaan mengandung laktosa dan berfungsi untuk memilah bakteri yang memfermentasi laktosa seperti *Escherichia coli* dengan bakteri yang tidak memfermentasikan laktosa seperti *S. aureus*, *P. aeruginosa* dan *Salmonella*. Bakteri yang memfermentasi laktosa menghasilkan koloni dengan inti berwarna gelap dengan kilap logam (*metallic sheen*), sedangkan bakteri lain yang dapat tumbuh koloninya tidak berwarna. Adanya Eosin dan Methylene blue membantu mempertajam perbedaan tersebut. Namun demikian jika media ini digunakan pada tahap awal, karena kuman lain juga tumbuh terutama *P.aeruginosa* dan *Salmonella sp* dapat menimbulkan keraguan. Bagaimanapun media ini sangat baik untuk mengkonfirmasi bahwa kontaminan tersebut adalah *Escherichia coli* (Dzen dkk, 2003).

b. Media MacConkey Agar

Media ini mempunyai keistimewaan memilah bakteri enterik gram negatif yang memfermentasi laktosa, karena media ini mengandung laktosa, *crystal violet* dan *neutral red bile salt*. Kemampuan *Escherichia coli* memfermentasi laktosa menyebabkan penurunan pH, sehingga mempermudah absorpsi *neutral red* untuk mengubah koloni menjadi merah bata dan *bile*/ empedu diendapkan. Koloni lain (*S. aureus*, *P.aeruginosa* dan *Salmonella*), bila tumbuh tidak akan berwarna karena tidak mampu memfermentasi laktosa. Bakteri lain yang dapat tumbuh pada media ini antara lain *Enterobacter*; *Proteus*; *Salmonella*; *Shigella*, *Aerobacter*; *Enterococcus* (Dzen dkk, 2003).

c. Media MacConkey Broth

Media ini bermanfaat sekali dalam memilah *Escherichia coli* dari bakteri lain terutama *S. aureus*, *P. aeruginosa* dan *Salmonella*. Adanya Oxgall dalam media berperan dalam menghambat bakteri gram positif lain seperti *S. aureus*. Kandungan laktosa sangat penting untuk memilah *Escherichia coli* dari bakteri lain yang tidak memfermentasi laktosa, terutama *P. aeruginosa* dan *Salmonella*. Fermentasi laktosa oleh *Escherichia coli* menyebabkan pH turun. Kondisi asam akan menyebabkan *bromo cresol purple* (media berwarna ungu) berubah menjadi kuning (media berwarna kuning) dan adanya pembentukan gas yang dapat diamati pada tabung Durham. Sedangkan *Salmonella* dan *P. aeruginosa* tidak dapat mengubah warna media karena tidak memfermentasi laktosa, sedangkan bakteri lain yang mampu memfermentasi laktosa dan mempunyai ekspresi pada media seperti *Escherichia coli* adalah *Enterobacter aerogenes*. Adapun cara memilah *E. aerogenes* antara lain dengan reaksi indole. *Escherichia coli* mempunyai reaksi positif, sedang *E. aerogenes* bereaksi negatif. Dengan sifat tersebut media ini sangat baik untuk memilah *E. coli* dari bakteri lain pada tahap awal terutama *P. aeruginosa*; *S. aureus* dan *Salmonella* (Suwandi, 1999).

Selain itu, isolat dari urin dapat dengan cepat diidentifikasi sebagai *Escherichia coli* karena kemampuannya memberikan hemolisis tipe beta pada agar darah, morfologi koloni yang seperti kilatan logam (*metallic sheen*) pada media diferensi EMB dan tes spot indole yang positif. Lebih dari 90% isolate *Escherichia coli* memberikan hasil positif untuk β -glukoronidase menggunakan substrat 4-methylumbelliferyl- β -glucuronide (MUG). Isolat dari tempat selain urin dapat dikonfirmasi sebagai *Escherichia coli* dengan tes MUG positif (Dzen dkk, 2003).

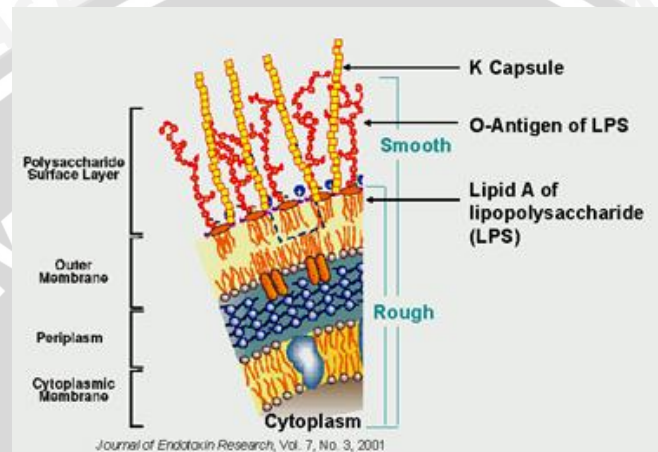
2.1.5 Klasifikasi Serologis

Pembagian *Escherichia coli* berdasarkan reaksi serologis ditentukan atas tipe antigen O, tipe antigen H dan tipe antigen K. Terdapat lebih dari 164 antigen O, 100 antigen K, dan 50 antigen H untuk bakteri *Escherichia coli*. Antigen H selanjutnya dibagi lagi menjadi subgroup L, A, dan B. Penentuan profil antigen dari beberapa galur berguna untuk penelitian epidemiologi dan beberapa penelitian yang berhubungan dengan jenis penyakit diare. Contohnya serotype O157:H7 memproduksi Shigelike toxin yang bertanggung jawab pada colitis hemoragik sedangkan serotype O78:H11 dan O78:H12 hampir semuanya adalah enterotosigenik (Dzen dkk, 2003)

Antigen K dikenal juga dengan nama antigen kapsuler yang berasal dari bahasa Jerman “kapsel” dan digunakan untuk menjelaskan antigen kapsul polisakarida dari bakteri enteric. Penelitian yang baru menunjukkan bahwa antigen K tertentu dari *Escherichia coli* berupa senyawa protein (bukan polisakarida) dan membentuk suatu fimbria (Dzen dkk, 2003).

Antigen H dikenal juga dengan nama antigen flagella, berasal dari bahasa Jerman “hauch” yang artinya nafas adalah protein yang dapat didenaturasi atau dihilangkan dengan pemanasan atau dengan alkohol. Antigen H ini dapat juga diaglutinasikan oleh anti-H antibodies terutama IgG (Dzen dkk, 2003).

Antigen O dikenal juga dengan nama antigen somatic (berasal dari bahasa Jerman "ohne" yang artinya badan) tersusun atas senyawa lipopolisakarida (LPS) yang terdiri dari tiga regions (Dzen dkk, 2003).



Gambar 2.2 struktur antigen *Escherichia coli*
(Journal of Endocrin Research, 2001)

2.1.6 Penentu Patogenisitas

Escherichia coli terdiri atas beragam grup mikroorganisme yang dapat menginfeksi berbagai sistem hospes dan memproduksi sejumlah besar faktor virulensi mulai bentuk struktural sampai toksin yang disekresikan. Kepentingan relative dari factor-faktor ini tidak hanya pada genetik galur tertentu tetapi juga pada tempat infeksi dan kondisi hospesnya.

1. Faktor Permukaan

Escherichia coli memiliki antigen tipe K1 yang memiliki keunikan diantara antigen kapsular *Escherichia coli* yang lain karena kapsul ini tahan terhadap proses pembunuhan baik oleh neutrophil maupun serum normal manusia. Tipe antigen O

pada *Escherichia coli* juga penting karena antigen ini memiliki predileksi ikatan pada reseptor yang terdapat pada endothelium vaskuler dan lapisan epitel pada *plexus choroidalis* dan *ventriculus* dalam otak anak menciit.

Fimbria dari bakteri *Escherichia coli* dibagi menjadi 2 kelompok besar, mannose resistant fimbriae dan mannose sensitive fimbriae, fimbria yang sensitive terhadap manosa disebut fimbria tipe 1 (Dzen dkk, 2003).

2. Enterotoksin

Escherichia coli memproduksi beberapa enterotoksin yang bertanggung jawab terhadap sebagian besar kasus diare karena infeksi. Produksi dari enterotoksin ini sangat bergantung dari adanya plasmid yang menyandi produksi toksin. Galur *Escherichia coli* yang memiliki plasmid tertentu akan memproduksi heat-labile enterotoksin (LT) yang mirip enterotoksin pada *Vibrio cholera*. LT akan merangsang aktivitas adenisiklase dalam sel epitel mukosa usus halus, yang kemudian akan meningkatkan permeabilitas permukaan intestinal, yang menyebabkan pengeluaran cairan dan elektrolit. Selain LT, *Escherichia coli* juga memproduksi dua enterotoksin yang tahan panas, heat-stable enterotoksin (ST) yaitu STa (ST-I) dan STb (ST-II).

3. Verotoksin (shigalike toxin)

Escherichia coli yang diinfeksi oleh bakteriofaga dapat memproduksi sitotoksin yang disebut verotoksin. Disebut verotoksin karena efek sitotoksinnya yang menetap pada kultur sel dari jaringan Vero, yaitu suatu lapisan sel yang berasal dari sel ginjal kera. Ada 2 jenis verotoksin yaitu VT-1 dan VT-2. Keduanya menghambat sintesis protein pada sel eukariotik. Toksin ini berhubungan dengan

tiga sindroma pada manusia yaitu diare, kolitis hemoragik, dan *hemolytic uremic syndrome* (HUS) (Dzen dkk, 2003).

2.1.7 Manifestasi Klinis

Bakteri *Escherichia coli* yang telah menginfeksi manusia dapat menimbulkan bermacam-macam gejala dan keluhan. Adapun penyakit-penyakit yang dapat ditimbulkan oleh *Escherichia coli* sebagai berikut :

1) Infeksi Saluran Kemih

Infeksi saluran kemih (ISK) adalah infeksi akibat berkembangbiaknya mikroorganisme didalam saluran kemih yang di dalam keadaan normal air kemih tidak mengandung bakteri. ISK paling banyak disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* dengan angka kejadian hampir 39,4% (Dzen dkk, 2003)

Escherichia coli penyebab utama infeksi saluran kemih (ISK). Wanita lebih sering terkena ISK karena perbedaan struktur anatomisnya, kematangan seksual, perubahan traktus urogenitalis selama kehamilan dan kelahiran, serta adanya tumor. Kira-kira 90% terjadi pada wanita muda. Gejala ISK antara lain poliurea, dysuria, hematuria, dan piuria serta nyeri panggul berhubungan dengan infeksi saluran kemih bagian atas yang terjadi akibat sumbatan saluran kemih karena adanya pembesaran prostat, batu dan kehamilan. (Dzen dkk, 2003)

2) Sepsis

Jika pertahanan hospes tidak kuat, maka *Escherichia coli* dapat memasuki aliran darah dan dapat menyebabkan sepsis yang terjadi karena infeksi saluran kemih. Bayi yang baru lahir dapat sangat rentan terhadap sepsis *Escherichia coli*

karena tidak ada antibody Ig M. Sepsis juga bisa terjadi sebagai efek sekunder dari ISK.

3) Meningitis

Escherichia coli merupakan penyebab pada sekitar 40% kasus meningitis neonatal dan kira-kira 75% *Escherichia coli* dari kasus meningitis ini mempunyai Antigen K. Antigen K ini bereaksi silang dengan polisakarida kapsuler group B dari *Neisseria meningitides*.

4) Diare

Escherichia coli pada umumnya menyebabkan diare, diseluruh dunia. *Escherichia coli* ini dikasifikasikan berdasarkan sifat karakteristiknya dari virulensinya dan tiap kelompok menyebabkan penyakit dengan yang berbeda, yaitu sebagai berikut (FKUI,2001).

- **EPEC (*Entero Patogenik Escherichia coli*)**

Penyebab penting diare pada bayi, khususnya di negara berkembang. EPEC melekat pada sel mukosa yang kecil. Faktor yang diperantarai secara kromosom menimbulkan perlekatan yang kuat. Akibat dari infeksi EPEC adalah diare cair yang biasanya sembuh sendiri dapat juga menjadi kronik. Lamanya diare EPEC dapat diperpendek dengan pemberian antibiotik. Diare terjadi pada manusia, kelinci, anjing, kucing dan kuda. Seperti ETEC, EPEC juga menyebabkan diare tetapi mekanisme molekuler dan kolonisasi dan etiologi adalah berbeda. EPEC sedikit fimbria, ST dan LT toksin, tetapi EPEC menggunakan adhesin yang dikenal sebagai intimin untuk mengikat inang sel usus. Sel EPEC invasive (jika memasuki sel inang) dan menyebabkan radang (Zein, 2004).

- **ETEC (*Enterotoxygenik Escherichia coli*)**

ETEC merupakan penyebab diare wisatawan dan diare pada bayi di Negara berkembang. Gejala yang ditimbulkan mirip dengan gejala *Vibrio cholera*. Factor koloni ETEC yang spesifik untuk manusia menimbulkan perlekatan ETEC pada sel epitel usus kecil. Beberapa strain ETEC menghasilkan eksotoksin tidak tahan panas (LT) BM 80.000 yang berada dibawah kendali genetik GM dibrish subunit – B nya melekat pada gangliosida GM dibrish gordir sub unit A (BM 26.000) ke sel dimana terakhir mengaktifasi adenilin siklik. Hal ini secara nyata meningkatkan konsentrasi siklik adenosine monophospat (CAMP) setempat yang menimbulkan khlorida yang terus menerus dan lama disertai penghambatan reabsorpsi natrium lumen usus teregang oleh cairan dan mengakibatkan hipermotolitas serta diare yang berlangsung selama beberapa hari.

- **EHEC (*Entero Haemorrhagie Escherichia coli*)**

EHEC memproduksi verotoksin dan dinamakan bedasarkan efek sitotoksik pada sel Vero, merupakan biakan sel ginjal dari monyet hijau di afrika. Terdapat sedikitnya 2 bentuk antigenik dari toksin. EHEC banyak dihubungkan dengan haemorrhagik cholitis (bentuk diare yang parah) dengan sindroma uremia haemolin, yaitu suatu penyakit gagal ginjal akut. Anemia haemolitik mikroangiopati dan trombositopenia adalah serotype yang menghasilkan O.157.H7.

- **EIEC (*Entero Invasive Escherichia coli*)**

EIEC menimbulkan penyakit yang mirip dengan shigellosis, dimana penyakit terjadi paling sering pada anak-anak di Negara berkembang dan parisisatawan yang berkunjung ke daerah tersebut, bersifat non laktosa dan tidak bergerak. EIEC

dapat menimbulkan penyakit melalui invasi ke sel epitel mukosa usus. Diare ini hanya ditemukan di manusia.

- **EAEC (*Enteroagregatif Escherichia coli*)**

EAEC dapat menyebabkan diare akut dan kronik pada Negara berkembang yang ditandai dengan pola khas perletakkannya pada sel manusia. EAEC juga melekat pada mukosa intestinal dan menghasilkan enterotoksin dan sitotoksin sehingga dapat menyebabkan kerusakan mukosa dan terdinya diare (FKUI,2001).

- 5) Apendicitis
 - 6) Peritonitis
 - 7) Septikemi haemoragik (Winckel Disease) pada neonates
 - 8) Cholit, predisposisi terjadinya batu empedu
 - 9) Shock septic endotoksin pada anak atau orang dewasa
- (Jawetz, 2007)

2.2 Parijoto (*Medinilla speciosa* L)

2.2.1 Sejarah singkat

Parijoto adalah nama buah atau tanaman khas lereng gunung Muria yang memiliki khasiat sebagai obat sariawan dan obat diare, selain itu masyarakat di daerah lereng gunung Muria percaya bahwa apabila buah parijoto ini dikonsumsi oleh ibu hamil maka akan memiliki bayi yang sehat dan berparas rupawan. Parijoto adalah sebuah tumbuhan liar yang tumbuh di ketinggian 900 - 2300 meter dari permukaan laut dalam bahasa latinya dikenal dengan istilah *Medinilla speciosa* L. Buah parijoto berbentuk bulat dengan warna merah keungu-unguan dan bagian

ujung berbentuk benjol bekas pelekatan kelopak, tanaman pariijoto mulai berbuah sekitar bulan Maret sampai bulan Mei (Tiyang Magelang, 2013).



Gambar 2.3 Tanaman Pariijoto (Tiyang Magelang, 2013)

2.2.2 Taksonomi Tanaman Pariijoto

Taksonomi tanaman pariijoto adalah sebagai berikut :

- Kingdom : *Plantae*
Divisi : *Spermatophyta*
Sub – divisi : *Angiospermae*
Kelas : *Dicotyledoneae*
Ordo : *Myrtales*
Familia : *Melastomataceae*
Genus : *Medinilla*

Spesies : *Medinilla speciosa* L

2.2.3 Morfologi Tanaman Parijoto

Parijoto merupakan tanaman yang mempunyai akar serabut dan bewarna putih kotor. Batang tanaman parijoto berbatang kayu, bulat, dengan kulit memiliki lapisan gabus jika usia tanaman sudah tua, bergerigi, kasar, dan bewarna putih kecoklatan. Tanaman parijoto dapat tumbuh hingga setinggi 1-2 meter.

Daun-daun tanaman parijoto biasanya tunggal, bersilang berhadapan, bertangkai pendek, bulat, lunak, dan bewarna hijau. Helai daun berbentuk lonjong, pangkal dan ujung daun berbentuk runcing, dengan tepi rata, panjang sekitar 10-20 cm, dengan lebar 5-15 cm. Pertulangan daun melengkung, dengan permukaan atas licin, bewarna hijau, dan permukaan bawah kasar, warna hijau kelabu.

Tanaman parijoto memiliki bunga majemuk di ketiak daun, sempurna, dan berkelamin ganda. Kelopak bunga berjumlah 5 helai, ujungnya runcing, dengan pangkal berlekatan, memiliki panjang sekitar 3-8 mm. Bunga tanaman parijoto bewarna putih hingga merah muda. Memiliki benang sari 2 kali lipat dari jumlah mahkota, dan kepalasari berupa kuncup membengkok, dengan warna merah keunguan. Kepala putik duduk di atas bakal buah, dan berbentuk bulat, serta bewarna merah muda. Sedangkan mahkota lepas, terdiri dari 5 helai, berbentuk kuku, dengan panjang 5-8 mm, dan bewarna merah muda.

Buah parijoto berbentuk bulat sampai bundar dan bergelantungan dalam tandan. Buah parijoto muda bewarna putih kemerah-merahan, namun setelah tua

berubah menjadi merah keunguan. Diameter buah berukuran 5-8 mm, dengan ujung berbenjol yang merupakan bekas perlekatan dengan kelopak (Depkes, 2005).

2.2.4 Kandungan Tanaman Parijoto

Daun dan buah parijoto mengandung saponin dan kardenolin, di samping itu buahnya juga mengandung flavonoid dan daunnya mengandung tanin (Zuhud, 2013).

2.2.4.1 Flavonoid

Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol terbesar yang ditemukan di alam. Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu dan biru dan sebagai zat warna kuning yang ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan (Resi, 2009). Aktivitas flavonoid kemungkinan disebabkan oleh kemampuannya untuk membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut, dan dengan dinding sel. Flavonoid mempunyai sifat yang khas yaitu bau yang sangat tajam, sebagian besar merupakan pigmen warna kuning, larut air dan pelarut organik, mudah terurai pada temperatur tinggi (Melderer, 2002).

Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon, dimana dua cincin benzene (C₆) terikat pada suatu rantai propane (C₃) sehingga membentuk suatu susunan C₆-C₃-C₆. Susunan ini dapat menghasilkan tiga jenis struktur, yakni 1,3-diarilpropan atau flavonoid, 1,2-diarilpropan atau isoflavonoid, dan 1,1-diarilpropan atau neoflavonoid (Resi, 2009).

Flavonoid bisa diekstraksi dengan menggunakan pelarut air, methanol dan ethanol (Darusman, 2007). Flavonoid termasuk senyawa fenolik alam yang

potensial sebagai antioksidan dan mempunyai bioaktivitas sebagai obat. Senyawa-senyawa ini dapat ditemukan pada batang, daun, bunga dan buah. Flavonoid dalam tubuh manusia berfungsi sebagai antioksidan sehingga sangat baik untuk pencegahan kanker. Manfaat flavonoid antara lain adalah untuk melindungi struktur sel, meningkatkan efektivitas vitamin C, anti-inflamasi, mencegah keropos tulang dan sebagai antibiotik. (Resi, 2009)

Efek flavonoid sebagai anti mikroba diduga karena kemampuannya berikatan dengan protein ekstraseluler dan membrane sitoplasma dari kuman. Semakin lipofilik suatu flavonoid, maka semakin kuat daya rusak flavonoid tersebut terhadap membrane sitoplasma kuman (Tsuchiya et al, 1996).

2.2.4.2 Saponin

Saponin adalah senyawa yang bersifat larut air. Senyawa ini terdiri dari kombinasi antara hidrofobil triterpone dengan glukosa hidrofilik sehingga mempunyai kemampuan sebagai deterjen. Sifat ini dapat merusak membrane sel bakteri secara utuh (Tsuchiya et al, 1996)

Saponin berperan dalam proses perusakan membrane sel kuman dengan cara berikatan dengan kompleks polisakarida pada dinding sel (Tsuchiya et al, 1996).

Bedasarkan atas sifat kimiawinya, saponin dapat dibagi dalam dua kelompok:

- 1) Steroids dengan 27 atom C
- 2) Triterpenoids, dengan 30 atom C. Macam-macam saponin berbeda sekali komposisi kimiawinya, yaitu berbeda pada aglikon (sapogenin) dan juga

karbohidratnya, sehingga tumbuh-tumbuhan tertentu dapat mempunyai macam-macam saponin yang berlainan, seperti (Tsuchiya et al, 1996)

- Quillage saponin : campuran dari 3 atau 4 saponin
- Alfalfa saponin : campuran dari paling sedikit 5 saponin
- Soy bean saponin : terdiri dari 5 fraksi yang berbeda dalam saponin, atau karbohidratnya, atau dalam kedua-duanya.

Secara kimia, saponin bersifat basa (tergantung dari struktur molekul dan gugus fungsionalnya). Saponin mempunyai kerja merusak membrane plasma dari bakteri (Hopkins, 1995). Saponin juga bekerja dengan menghambat enzim DNA polymerase sehingga terjadi hambatan pada sintesa asam nukleat bakteri. Selain bakteri, saponin juga menghambat pertumbuhan jamur (Davidson, 2004).

2.2.4.3 Tanin

Tanin adalah senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada beberapa tanaman. Tanin mampu mengikat protein, sehingga protein pada tanaman dapat resisten terhadap degradasi oleh enzim protease di dalam silo ataupun rumen (Kondo et al, 2004). Tanin selain mengikat protein juga bersifat melindungi protein dari degradasi enzim mikroba maupun enzim protease pada tanaman (Oliviera et al, 2009), sehingga tanin sangat bermanfaat dalam menjaga kualitas silase.

Tanin merupakan salah satu senyawa kimiawi yang termasuk dalam golongan polifenol yang diduga dapat mengikat salah satu protein yang dimiliki oleh bakteri yaitu adhesin dan apabila hal ini terjadi maka dapat merusak ketersediaan reseptor pada permukaan sel bakteri. Tanin juga dibuktikan dapat membentuk kompleks senyawa yang irreversibel dengan prolin, suatu protein lengkap, yang

mana iktatan ini mempunyai efek penghambatan sintesis protein untuk pembentukan dinding sel (Agnol et.al, 2003).

Tanin umumnya banyak ditemukan pada tumbuh-tumbuhan (akar, daun, buah dan biji) dan tanaman berkayu dengan konsentrasi tinggi. Fungsi tanin adalah sebagai sistem pertahanan tumbuhan melawan serangan mikroba dan hewan-hewan melalui kemampuan mereka mengkonstriksikan jaringan lunak dan membentuk kompleks bersama protein dan polisakarida (Aguilera et al., 2007).

Tanin merupakan senyawa kimia yang tergolong dalam senyawa polifenol (Deaville et al, 2007). Tanin mempunyai kemampuan mengendapkan protein, karena tanin mengandung sejumlah kelompok ikatan fungsional yang kuat dengan molekul protein yang selanjutnya akan menghasilkan ikatan silang yang besar dan kompleks yaitu protein tanin. Tanin mempunyai berat molekul 0,5-3 KD (Ahadi, 2003).

Menurut Susanti (2000), sifat utama tanin pada tanaman tergantung pada gugus febolik-OH yang terkandung dalam tanin. Secara garis besar sifat tanin dapat digambar sebagai berikut :

- 1) Tanin secara umum memiliki gugus fenol dan bersifat koloid.
- 2) Semua jenis tannin dapat larut dalam air,
- 3) Reaksi warna terjadi bila disatukan dengan garam besi.
- 4) Tanin mulai terurai pada suhu 98,8⁰C
- 5) Tanin dapat dihidrolisis oleh asam, basa dan enzim.
- 6) Ikatan kimia yang terjadi antara tannin-protein atau polimer lainnya terdiri dari ikatan hydrogen, ikatan ionic dan ikatan kovalen.

- 7) Tanin mempunyai berat molekul tinggi dan cenderung mudah dioksidasi menjadi suatu polimer, sebagian tannin amorf (tidak berbentuk) dan tidak mempunyai titik leleh.
- 8) Warna tanin menjadi gelap apabila terkena cahaya atau dibiarkan di udara terbuka.
- 9) Tanin mempunyai sifat bakteristatik dan fungistatik.

Menurut Ajizah (2004), tanin diduga dapat mengkerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri. Akibat terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati. Masduki (1996) menyatakan bahwa tannin mempunyai daya antibakteri dengan cara mempresipitasi protein, karena diduga mempunyai efek yang sama dengan senyawa fenolik. Efek antibakteri tannin antara lain melalui; reaksi dengan membrane sel, inaktivasi enzim, dan destruksi atau inaktivasi fungsi materi genetik.

Tanin menyebabkan denaturasi protein dengan membentuk kompleks dengan protein melalui kekuatan nonspesifik seperti ikatan hydrogen dan efek hidrofobik, sebagaimana pembentukan ikatan kovalen, menginaktifkan adhesi bakteri (molekul untuk menempel pada sel inang), menstimulasi sel-sel fagosit yang berperan dalam respon imun seluler (Asti, 2009).

2.2.5 Kegunaan Tanaman Parijoto

Parijoto sudah lama digunakan sebagai tanaman obat terutama di daerah pegunungan di pulau Jawa. Penggunaan secara tradisional pari-joto terutama

dijumpai di daerah Kudus Jawa tengah, parijoto terkenal akan manfaatnya yang sangat beragam. Bagian yang sering digunakan adalah bagian buah dan daunnya. Buahnya dapat digunakan sebagai obat sariawan, sedangkan daunnya dapat digunakan untuk mengobati diare (Muria Studies, 2013). Hasil studi menemukan tanaman yang pada mulanya dibiarkan hidup liar di lereng-lereng gunung ini, mengandung saponin, kardenolin, di samping itu buahnya juga mengandung flavonoid dan daunnya mengandung tanin (Zuhud, 2013).

2.3 Cara kerja Antimikroba

Ada beberapa cara kerja zat antimikrobia, antara lain :

2.3.1 Menghambat sintesis Dinding sel

Dinding sel bakteri berfungsi sebagai pelindung osmotik protoplasma di bawahnya dari trauma baik osmotik maupun mekanik. Tekanan osmotik tinggi di dalam sel akan mendorong cairan dalam sel bakteri sehingga terjadi kebocoran dan kematian sel kuman. Hal ini menjadi dasar efek bakterisidal pada bakteri. Contoh antimikroba jenis ini adalah B-laktam (penisilin dan cephalosporin) (Cowman, 1999).

2.3.2 Menghambat Fungsi Membran Sel

Membran sel merupakan pembatas membrane bagi bebasnya difusi antara lingkungan dalam dan luar sel. Gangguan dalam keutuhan membrane sel tersebut dapat menyebabkan terjadinya kebocoran dan kematian sel, mempengaruhi konsentrasi metabolit dan bahan gizi dalam sel, menghambat proses pernapasan dan aktivitas biosinteti tertentu secara keseluruhan akan mempengaruhi kehidupan

bakteri itu sendiri. Contoh antimikroba jenis ini adalah polimiksin yang berikatan dengan fosfat dan fosfolipid membrane sel sehingga merusak struktur membrane sel tersebut (Cowman, 1999).

2.3.3 Menghambat Sintesa Protein

Sintesa protein merupakan hasil dari 2 proses utama yaitu transkripsi dan translasi. Sintesa ini terjadi di ribosom. Streptomisin dapat berikatan dengan ribosom 30S sehingga menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca oleh tRNA dan terbentuk protein abnormal dan non fungsional bagi sel bakteri (Cowman, 1999).

2.3.4 Menghambat Sintesa Asam Nukleat

Sintesa asam nukleat erat kaitannya dengan proses duplikasi dan transkripsi. Selain zat yang mengganggu sintesa ini akan mempengaruhi seluruh fase pertumbuhan dan metabolisme sel bakteri. Rifampin dapat berkaitan dengan enzim Polymerase-RNA sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA oleh enzim tersebut (Cowman, 1999).

2.3.5 Menghambat Metabolisme Sel Bakteri

Enzim-enzim yang berperan dalam proses metabolisme seringkali dihambat oleh senyawa-senyawa yang mempunyai struktur mirip dengan substrat asalnya. Senyawa ini bergabung dengan enzim tersebut sehingga mencegah kombinasi substrat enzim dan reaksi-reaksi katalitik (Cowman, 1999).

2.4 Uji kepekaan Antimikroba

Uji kepekaan bakteri terhadap antimikroba secara *in vitro* bertujuan untuk mengetahui apakah antimikroba yang diujikan dapat digunakan untuk mengatasi infeksi bakteri tersebut. Uji kepekaan tersebut pada dasarnya dapat dilakukan dengan metode dilusi atau metode difusi cakram.

2.4.1 Metode Dilusi

Metode ini digunakan untuk mengetahui kadar hambat minimal (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM) dari antimikroba. Metode dilusi dapat dilakukan dengan menggunakan media cair (*broth*) didalam tabung (*tube dilution test*) atau dapat juga dilakukan dengan menggunakan agar padat pada cawan petri (*agar dilution test*).

2.4.1.1 Tube dilution test

Cara ini digunakan untuk menentukan kadar hambat minimum (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM) dari obat antimikroba. Prinsip metode ini adalah menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi media cair dan sejumlah tertentu mikroba yang diuji. Kemudian masing-masing tabung diisi dengan obat yang telah diencerkan secara serial. Selanjutnya diinkubasi 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).

2.4.1.2 Agar dilution test

Metode dilusi agar merupakan metode alternatif untuk mengetahui kadar hambat minimal (KHM) dari suatu mikroba. Akan tetapi metode ini tidak dapat digunakan untuk menentukan kadar bunuh minimal (KBM) antimikroba (Bailey and Scott). Prinsip metode ini sama dengan metode dilusi tabung, pada metode dilusi agar dilakukan dengan mencampurkan larutan antimikroba yang sudah diencerkan secara serial ke dalam media agar yang masih cair kemudian agar dibiarkan memadat selanjutnya diinokulasikan dengan menggunakan strers-foltz replicator yang bila dikalibrasi, suspensi bakteri digunakan adalah 0,001 ml pada permukaan agar. Suspensi bakteri yang digunakan tersebut mengandung 1×10^8 CFU. Setelah diinkubasi bakteri akan tumbuh pada agar yang tidak mengandung antimikroba yang adekuat untuk menghambat pertumbuhan bakteri. KHM adalah konsentrasi terendah dari antimikroba yang ditandai dengan adanya kabut tipis pertumbuhan bakteri atau terdapat kurang dari 3 CFU bakteri (Baron et al, 1994).

2.4.2 Metode Difusi Cakram

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

Untuk mengevaluasi hasil uji kepekaan tersebut (apakah isolate mikroba sensitive atau resisten terhadap obat), dapat dilakukan dua cara seperti berikut ini.

- Cara Kirby Bauer, yaitu dengan cara membandingkan diameter dari area jernih (zona hambatan) disekitar cakram dengan *table* standar yang dibuat oleh NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Strandard*). Dengan *table* NCCLS ini dapat diketahui kriteria sensitif sensitive, sensitive intermediet dan resisten.
- Cara Joan-Stokes, yaitu dengan cara membandingkan radius zona hambatan yang terjadi antara bakteri kontrol yang sudah diketahui kepekaannya terhadap obat tersebut dengan isolate bakteri yang diuji.

Pada cara Joan-Stokes, prosedur uji kepekaan untuk bakteri kontrol dan bakteri uji dilakukan bersama-sama dalam satu piring agar (Dzen dkk, 2003).

