

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tentang Buah Sirsak Gunung (*Annona montana* Macf.)

Sirsak (*Annona montana* Macf.) berasal dari wilayah Amerika yang beriklim tropis, terutama Amerika Tengah dan Selatan. Tanaman ini menyebar luas ke Asia di antaranya Thailand, Malaysia, dan Indonesia. Pada abad ke-19, tanaman sirsak mulai dibudidayakan di Malaysia dan Indonesia. Awalnya tanaman sirsak merupakan tanaman yang tumbuh liar, kemudian dikembangkan menjadi tanaman pekarangan (Verheij dan Coronel, 1997 dalam Boro, 2016).

Sirsak gunung (*Annona montana* Macf.) termasuk dalam satu famili dengan tanaman sirsak, yaitu *Annonaceae*. Sirsak gunung mempunyai buah hampir bulat lonjong, kulit buah waktu muda berwarna hijau tua dan saat masak/tua kuning, dan buah berduri pendek lunak. Daging buah berwarna kuning dan tidak enak dimakan, tetapi aromanya harum yang khas dan mempunyai biji bernas berwarna coklat muda (Morton, 1987 dalam Boro, 2016).

Buah sirsak berbentuk oval atau seperti jantung, kadang tidak teratur, berlekuk dan lonjong. Buah sirsak yang berukuran besar mempunyai biji sampai 200 biji/buah bahkan lebih. Ukuran biji sirsak beragam, panjangnya antara 1-2 cm, berat 0,33-0,59 gram, warna hitam saat panen, kemudian menjadi coklat tua (Pinto 'et al', 2005 dalam Boro, 2016).

2.1.1 Klasifikasi *Annona montana* Macf.

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Clasis	: <i>Dicotyledonae</i>
Ordo	: <i>Polycarpiceae</i>
Familia	: <i>Annonaceae</i>
Genus	: <i>Annona</i>
Spesies	: <i>Annona montana</i> Macf.



Gambar 2.1 Sirsak gunung (*Annona montana* Macf.) (a), dan (b) sirsak lokal (*Annona muricana*) (Boro, 2016)

2.2 Tinjauan Probiotik

Istilah probiotik berasal dari bahasa Yunani yang berarti ‘untuk hidup’. Istilah ini digunakan pertama kali oleh Lilley dan Stillwell pada tahun (1965) yang diartikan sebagai substansi yang dihasilkan oleh satu mikrobia yang dapat menstimulasi pertumbuhan mikroba lain. Selanjutnya digunakan oleh Parker (1974) untuk menjelaskan organisme atau substansi yang memiliki kontribusi terhadap keseimbangan mikrobia intestin. Definisi probiotik selanjutnya di perbaiki oleh Fuller (1989) yang berarti suplemen makanan berupa mikrobia hidup yang memiliki efek menguntungkan bagi inang yang mengkonsumsi melalui

keseimbangan mikrobial intestinum. Syarat utama strain yang dapat digunakan sebagai agen probiotik adalah memiliki resistensi terhadap asam dan empedu sehingga dapat mencapai intestinum dan memiliki kemampuan menempel pada mukosa intestinum (Allen *et al*, 2011).

Syarat lain yang perlu dimiliki oleh bakteri probiotik adalah kemampuannya menghasilkan substansi antimikrobia sehingga mampu menekan pertumbuhan bakteri patogen enterik. Berbagai jenis substansi antimikrobia yang dihasilkan oleh bakteri probiotik adalah asam organik, hidrogen peroksida, diasetil dan diperkirakan juga bakteriosin yaitu protein atau polipeptida yang memiliki sifat antibakteri (Ahmed *et al* 2010). Syarat lain mikrobial probiotik adalah tumbuh baik secara *in vitro*, memiliki stabilitas dan viabilitas yang tinggi dan aman bagi manusia. Dari berbagai persyaratan yang diperlukan *Lactobacillus* dan *Bifidobacteria* yang merupakan penghuni alami jalur intestinum merupakan bakteri yang banyak digunakan sebagai agen probiotik. Bakteri ini ditemukan pada membran mukosa. Dari uji secara *in vitro* diketahui bahwa *Lactobacillus* mampu menghambat berbagai jenis bakteri patogen seperti *Salmonella*, *Vibrio*, *Listeria*, *Shigella* dan *Staphylococcus*. Kecuali asam laktat yang memiliki sifat antagonis, sejumlah *Lactobacillus* mampu menghasilkan komponen antimikrobia yang disebut bakteriosin misalnya asidolin, asidofilin maupun laktosidin yang diperkirakan memiliki spektrum luas baik terhadap bakteri gram positif maupun negatif (Ahmed *et al*, 2010).

Genus *Lactobacillus* mempunyai beberapa kelebihan yang berpotensi untuk digunakan sebagai agen probiotik, diantaranya adalah mampu bertahan pada pH rendah, tahan terhadap garam empedu, memproduksi antimikrobia dan daya

antagonistik terhadap patogen enterik, mampu mengasimilasi serum kolesterol dan mendekongugasi garam empedu serta dapat tumbuh baik pada medium sederhana (Rahayu, 2001).

Beberapa penelitian telah berhasil mendapatkan beberapa strain *Lactobacillus* dari berbagai bahan minuman fermentasi misalnya yoghurt, makanan fermentasi tradisional seperti tape, growol dan gatot (Ngatirah 'et al', 2000). Berdasarkan produk fermentasinya *Lactobacillus* dibagi menjadi dua yaitu homofermentatif jika memfermentasikan gula menjadi asam laktat sebagai produk utama dan sebagian kecil asam asetat serta karbondioksida, dan heterofermentatif jika produk fermentasinya berupa alkohol dan asam laktat (Frazier, 1981). Bakteri asam laktat homofermentatif meliputi beberapa spesies yang dapat tumbuh pada suhu optimal 37°C atau di atasnya yaitu *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus thermophilus* dan *Lactobacillus delbrueckii*. Sedangkan *Lactobacillus* heterofermentatif yang bersifat termofilik yaitu *Lactobacillus fermentum*. *Lactobacillus* homofermentatif yang tumbuh pada suhu bawah suhu optimal adalah *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus leichmanii*. Sedangkan *Lactobacillus* heterofermentatif meliputi *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus pastorianus* (Frazier, 1981). Karakteristik *Lactobacillus* yang sangat penting untuk makanan yaitu kemampuannya dalam mengkonversi gula menjadi beberapa produk termasuk asam laktat yang berguna pada pembuatan industri makanan. *Lactobacillus* ditemukan pada substrat yang kaya akan karbohidrat dengan berbagai habitat, seperti membran mukosa manusia dan binatang (rongga

mulut, intestin, vagina) atau makanan hasil fermentasi dan makanan yang membusuk (Sunaryanto 'dkk', 2014).

2.2.1 Senyawa Metabolit Probiotik

1. Asam Organik

Ketika proses fermentasi glukosa, *Lactobacillus* mampu memproduksi asam laktat secara homofermentasi atau sebanding dengan jumlah asam laktat, asam asetat, etanol dan karbondioksida secara heterofermentatif. Apabila proses tersebut diamati selama seminggu, asam organik yang dihasilkan *Lactobacillus* memiliki suatu aktivitas antimikroba yang lebih besar pada pH rendah dibandingkan dengan pH netral. Mengenai kedua asam yang terbentuk, asam asetat memiliki aktivitas penghambat yang paling kuat dan mempunyai suatu cakupan lebih luas dalam hal aktivitas menghambat pertumbuhan khamir, kapang dan bakteri sedangkan asam propionat memiliki efek antimikroba yang kuat khususnya untuk khamir dan kapang (Viogenta, 2010).

Aktivitas antimikroba asam asetat dan asam propionat lebih kuat dibandingkan dengan aktivitas antimikroba dari asam laktat. Hal ini dapat dijelaskan dari tingginya nilai pKa asam asetat (pKa = 4,87) dan asam propionat (pKa = 4, 75) dibandingkan dengan nilai pKa asam laktat (pKa = 3,08). Sebagai contoh, pada pH 4, hanya 11 % dari asam laktat yang tidak terdisosiasi sedangkan 85 % asam asetat dan 92 % asam propionat tidak terdisosiasi. Namun, ketika terbentuk campuran asam-asam organik, terjadi kerja sama dalam meningkatkan aktivitas menghambat. Sebagian besar asam laktat menyebabkan pH menurun disaat asam asetat dan asam propionat yang tidak terdisosiasi menjadi agen antimikroba. Gabungan dari asam laktat dan asam asetat mampu mengurangi laju

pertumbuhan *Salmonella enteric ser var Typhimurium* lebih baik daripada aktivitas masing-masing dari asam laktat atau asam asetat sendiri (Viogenta, 2010).

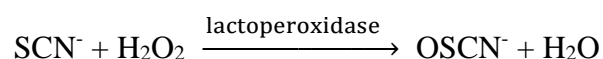
Asam laktat selain menurunkan pH juga dapat mengganggu permeabilitas membran, dengan demikian dapat meningkatkan aktivitas dari substansi antimikroba lainnya. Mekanisme antimikroba asam laktat berdasarkan teori "*chemiosmotic*" dan pH homeostasis. Ketika asam laktat yang diproduksi disekresikan ke lingkungan, beberapa molekul terdisosiasi menjadi H^+ dan anion, sementara yang lain tidak terdisosiasi. Salah satu faktor yang berperan terhadap terdisosiasi atau tidaknya suatu molekul adalah pH lingkungan dan pK (tetapan keseimbangan). Hal ini menyebabkan peningkatan proton transmembran yang pada akhirnya menyebabkan gradient proton. Perbedaan ini menyebabkan proton lebih cepat masuk ke dalam sel sehingga meningkatkan kebutuhan energi untuk mempertahankan pH alkali dalam sel (Viogenta, 2010).

2. Hidrogen peroksida

Dalam kondisi adanya oksigen, bakteri asam laktat menghasilkan hydrogen peroksida melalui oksidasi molekul yang mengandung flavoprotein, oksidasi NADH, dan superoxide dismutase. Bakteri asam laktat tidak menghasilkan katalase yang berfungsi mengurai hydrogen peroksida. Pada sistem lainnya bahwa penguraian hydrogen peroksida tidak seaktif dibandingkan dengan produksi hydrogen peroksida itu sendiri sehingga terjadi akumulasi hydrogen peroksida. Hydrogen peroksida tidak akan terakumulasi sebab hydrogen proksida diuraikan oleh peroksidase, flavoprotein, dan pseudcatalase. Pengaruh bakterisidal dari hydrogen peroksida dihubungkan dengan efek oksidasi yang kuat di dalam sel bakteri seperti kelompok sulfidril dari protein sel dan lipid membran dapat

dioksidasi. Untuk menghasilkan hidrogen peroksida dibutuhkan oksigen sehingga menyebabkan lingkungan menjadi anaerobik. Hal ini tidak baik untuk organisme yang bersifat aerobik (Viogenta, 2010).

Di dalam kondisi normal, pengaruh antimikroba dari hidrogen peroksida kemungkinan ditingkatkan karena adanya lactoperoxidase dan thiocyanate (SCN^-).



OSCN^- menyebabkan kerusakan struktural dan perubahan pada membran sel bakteri. Namun yang menjadi faktor utama hidrogen peroksida menjadi senyawa antimikroba yaitu menghambat proses glikolisis. Hidrogen peroksida menghambat pengangkutan glukosa, aktivitas heksokinase, dan aktivitas glyceraldehyde-3-phosphat dehidrogenase dengan cara mengoksidasi sulfhydryl yang terdapat didalam enzim tersebut (Viogenta, 2010).

3. Bakteriosin

Bakteriosin merupakan antimikrobia yang berupa protein dan disintesis secara ribosomal. Bakteriosin memiliki pengaruh bakterisidal dan bakteriostatik terhadap bakteri yang mempunyai hubungan dekat dengan bakteri penghasilnya. Bakteri target memiliki sifat pengikatan spesifik (*specific binding site*) (Viogenta, 2010).

Bakteriosin biasanya tahan terhadap panas, dan aktivitasnya masih tetap ada dalam lingkungan asam misalnya pada suhu 100°C atau 121°C selama 15 menit, demikian pula suhu yang sangat rendah dalam penyimpanan tidak mempengaruhi aktivitas bakteriosin. Umumnya, bakteriosin memiliki sifat mudah didegradasi enzim proteolitik seperti protease (Viogenta, 2010).

Bakteriosin dihasilkan baik oleh bakteri gram positif maupun bakteri gram negatif. Bakteriosin gram positif mengandung 30 sampai 60 asam amino dengan aktivitas yang bervariasi dari spektrum sempit sampai luas dalam melawan bakteri gram positif lainnya. Bakteriosin disintesis selama fase eksponensial pertumbuhan sel mengikuti pola sintesis protein. Sistem ini diatur oleh plasmid DNA. Pada umumnya, bakteriosin non lantibiotik disintesis melalui jalur ribosomal, sedangkan kelompok lantibiotik disintesis secara ribosomal sebagai prepeptida kemudian mengalami modifikasi. Sekresi prepeptida dilakukan pada fase eksponensial dan diproduksi secara maksimal pada fase stasioner. Prinsip regulasi sintesis bakteriosin diatur oleh adanya gen pengkode produksi dan pengkode immunitas (Viogenta, 2010).

Aktivitas produksi bakteriosin oleh bakteri asam laktat dipengaruhi oleh faktor pH, suhu, sumber karbon, serta fase pertumbuhan. Jenis sumber karbon maupun sumber nitrogen yang digunakan dalam medium produksi mempengaruhi laju pertumbuhan sel bakteri asam laktat, selanjutnya berpengaruh terhadap metabolisme produksi bakteriosin. Selain itu, tingkat salinitas medium produksi seperti kandungan garam dari media turut mempengaruhi metabolisme produksi bakteriosin. Secara umum kondisi optimum produksi bakteriosin selain dipengaruhi oleh fase pertumbuhan, pH media, suhu inkubasi, jenis sumber karbon dan sumber nitrogen juga konsentrasi NaCl (Viogenta, 2010).

Viogenta (2010), menyebutkan bahwa target utama bakteriosin adalah membran sitoplasma sel bakteri karena reaksi awal bakteriosin adalah merusak permeabilitas membran dengan membentuk pori pada membrane sel dan menghilangkan gaya gerak proton (*Proton Motive Force*) (PMF). Gaya gerak

proton merupakan gradien elektrokimia membran sitoplasma yang mengatur sintesis dan penimbunan ATP. Kegagalan gaya gerak proton menyebabkan kematian sel melalui penghentian semua reaksi yang membutuhkan energi, biosintesis protein atau asam nukleat.

2.3 Tinjauan Uji Aktivitas Antibakteri

Terdapat dua cara yang umum di gunakan dalam uji potensi secara mikrobiologi yaitu:

2.3.1 Metode Difusi

Difusi adalah proses perpindahan molekul secara acak dari satu posisi ke posisi lain. Ada beberapa metode difusi yang digunakan dalam penetapan potensi, antara lain:

1. Metode lempeng bujur sangkar

Dalam metode ini digunakan lempeng yang terbuka dengan pemasangan penyaring udara (Laminar Air Flow) yang berfungsi untuk menghindari kontaminasi dari bakteri di sekitarnya terhadap inokulum dalam lempeng. Udara disterilkan dan dialirkan secara horizontal atau vertikal. Pada lempeng bujur sangkar, ketebalan medium lebih homogen dan kondisi lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme yang digunakan pada penetapan potensi akan sama, sehingga efek yang diamati hanya semata-mata yang disebabkan oleh jumlah dosis antibiotika yang diuji. Kerugian dari metode ini yaitu dengan menggunakan lempeng yang besar, maka kemungkinan kontaminasi terhadap inokulum oleh bakteri di sekitarnya lebih besar.

2. Metode lempeng pada cawan petri

Keuntungan dari metode ini adalah dengan menggunakan beberapa cawan petri untuk menempatkan inokulum, maka kemungkinan kontaminasi akan lebih kecil dibandingkan dengan menggunakan lempeng bujur sangkar. Disamping itu juga ada kerugian yaitu dengan adanya variasi inokulum dalam beberapa cawan petri, maka kondisi tiap cawan petri akan berlainan. Kondisi tersebut akan mempengaruhi difusi antibiotika yang diuji dari pencadang ke medium agar sekitarnya.

3. Pencadang atau reservoir

Sebagai pencadang pada lempeng digunakan silinder dari kaca, logam tahan karat, silinder kapiler, marjan tulang ikan, cetak lubang (*punch hole*), cakram kertas (*paper disc*), yang masing-masing mempunyai keuntungan dan kerugian. Pencadang tersebut mempunyai ukuran diameter luar 8 mm, diameter dalam 6 mm dan tinggi 10 mm. Penggunaan silinder gelas dan logam tahan karat sebagai pencadang mempunyai keuntungan yaitu jumlah larutan uji di dalam silinder dapat diperbanyak untuk menjamin ketersediaannya. Jumlah larutan antibiotika yang digunakan biasanya diatur sesuai kapasitas (Djide, 2005).

2.3.2 Metode Tabung (Turbidimetri)

Pada metode ini media yang digunakan adalah media cair yang diinokulasikan dengan mikroorganisme uji yang sensitive dalam tabungreaksi steril. Selanjutnya dipipet senyawa antibiotik yang diuji dan kemudian diinkubasikan. Pertumbuhan mikroorganisme di tandai dengan terjadinya kekeruhan dalam tabung sesuai dengan tingkat pengenceran dari senyawa yang di uji dan antibiotik baku. Prinsip pengujian potensi antibiotika dengan metode ini adalah membandingkan derajat hambatan pertumbuhan mikroorganisme uji oleh dosis antibiotika yang diuji

terhadap hambatan yang sama oleh dosis antibiotika baku pembanding dalam media cair. Dalam metode ini, koefisien difusi antibiotika tidak lagi berperan dalam hambatan pertumbuhan mikroorganisme uji yang digunakan. Yang mempengaruhi keberhasilan uji potensi dengan metode ini adalah lama waktu inkubasi dan keseragaman suhu selama waktu inkubasi.

Metode dilusi dibedakan menjadi dua yaitu dilusi cair (*broth dilution*) dan dilusi padat (*solid dilution*).

1. Metode dilusi cair / *broth dilution test (serial dilution)*

Metode ini mengukur MIC (*Minimum Inhibitory Concentration* atau kadar hambat minimum, KHM) dan MBC (*Minimum Bactericidal Concentration* atau kadar bunuh minimum, KBM). Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Larutan uji agen antimikroba pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM. Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan mikroba uji ataupun agen antimikroba, dan diinkubasi selama 18 -24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai KBM.

2. Metode dilusi padat / *solid dilution test*

Metode ini serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat (*solid*). Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Nurhayati, 2011). Menurut David and Stout, (1971), efektivitas suatu zat antimikroba bisa di klasifikasi pada tabel berikut :

Tabel 2.1 Frekuensi Diameter Zona Terang

Diameter zona terang	Respon hambatan pertumbuhan
> 20 mm	Sangat Kuat
11 - 20 mm	Kuat
5 - 10 mm	Sedang
0 - 4 mm	Lemah

2.4 Tinjauan *Salmonella sp.*

Salmonella merupakan bakteri batang lurus, Gram negatif, tidak berspora, bergerak dengan flagel peritrik, berukuran 2-5 μm x 0.5-1.5 μm (Andino dan Hanning, 2015). Menurut Jawetz 'et al' (2005), klasifikasi *Salmonella sp* sebagai berikut:

Kingdom : *Bacteria*
 Filum : *Proteobacteria*
 Ordo : *Gamma Proteobacteria*
 Kelas : *Enterobacteriales*
 Famili : *Enterobacteriaceae*
 Genus : *Salmonella*
 Spesies : *Salmonella sp.*



Gambar 2.2 Bakteri *Salmonella sp* Pada Pewarnaan Gram (Romadhon, 2016).

Salmonella sp dapat tumbuh cepat dalam media yang sederhana (Jawetz 'et al', 2005), hampir tidak pernah memfermentasi laktosa dan sukrosa, membentuk asam dan kadang gas dari glukosa dan maltosa, biasanya memproduksi hidrogen sulfide atau H₂S. Pada biakan agar, *Salmonella sp* membentuk koloni besar, bergaris tengah 2-8 mm, bulat agak cembung, jernih, dan *smooth*. Pada media *Blood Agar Plate* (BAP), *Salmonella sp* tidak menyebabkan hemolisis, sedangkan pada media *Mac Conkey* koloni *Salmonella* tidak memfermentasi laktosa dan konsistensinya *smooth* (WHO, 2003).

Sistem nomenklatur yang digunakan dalam *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) untuk genus *Salmonella sp* didasarkan pada rekomendasi dari Pusat Kerjasama WHO. Menurut CDC, genus *Salmonella* mengandung dua spesies, *Salmonella enterica* dan *Salmonella bongori*. Pada tanggal 18 Maret 2005, sebuah spesies baru, "*Salmonella subterranean*" telah disetujui secara sah oleh Komisi Yudisial (Shelobolina, 2004). Menurut Popoff (2001), *Salmonella enterica* terdiri dari enam subspecies: *Salmonella enterica subsp Enterica* (I), *Salmonella enterica subsp Salamae* (II), *Salmonella enterica subsp Arizonae* (IIIa), *Salmonella enterica subsp Diarizonae* (IIIb), *Salmonella enterica subsp Houtenae* (IV) dan *Salmonella Enterica subsp Indica* (IV). *Salmonellosis* merupakan istilah yang

menunjukkan adanya infeksi *Salmonella sp* Manifestasi klinik *salmonellosis* pada manusia dan hewan salah satunya adalah gastroenteritis. Gastroenteritis atau keracunan makanan merupakan infeksi usus dan tidak ditemukan toksin (Budiyanto, 2017).

2.4.1 Identifikasi Bakteri *Salmonella sp*

Untuk mendeteksi dan isolasi *Salmonella sp* dari bahan makanan dapat menggunakan beberapa metode rujukan yaitu berdasarkan *U.S Food and Drug Administration's (FDA'S)*, *Bacteriological Analytical Manual (BAM)*, dan *International Organization for Standarization (ISO)* untuk mengidentifikasi *Salmonella sp* terdapat 4 tahapan yaitu pra-pengkayaan nonselektif, tahap pengkayaan selektif, penanaman pada media selektif, dan konfirmasi berdasarkan uji biokimia atau uji serologis (Romadhon, 2016).

2.4.2 Media Pertumbuhan *Salmonella sp*.

Bakteri *Salmonella sp* dapat tumbuh pada berbagai macam media differensial dan selektif, media differensial berisi laktosa dengan indikator pH tetapi tidak mengandung *inhibitor non Salmonella*, contoh media differensial adalah EMB (*Eosin Methylene Blue*) dan *MacConkey agar*. Sedangkan media selektif adalah media yang mengandung *inhibitor Salmonella* seperti SSA (*Salmonella Shigella Agar*), XLD (*Xylose Lisine Deoxycholate*), dan *Hektoen Enteric Agar*. Pada media SSA koloni bakteri *Salmonella sp* akan tampak berwarna putih berbintik hitam



Gambar 2.3 *Salmonella sp* pada media SSA (*Salmonella Shigella Agar*)
(Romadhon, 2016)

2.4.3 Patogenesis *Salmonella sp*

Bakteri *Salmonella sp* sangat infeksiif bagi manusia, transmisi bakteri ini biasanya melalui *fecal-oral* dan ditularkan kepada manusia dengan cara mengonsumsi makanan dan air yang tercemar oleh bakteri tersebut, bakteri ini dapat menimbulkan penyakit pada tubuh manusia yang disebut dengan *salmonellosis*. *Salmonellosis* merupakan penyakit menular yang dapat menyerang manusia dan hewan akibat pencemaran dari bakteri *Salmonella sp*, *salmonellosis* ditandai dengan gejala seperti diare, mual muntah, nyeri abdomen, dan demam yang timbul secara akut (Romadhon, 2016).

2.5 Tinjauan Penyakit Thypus

Demam tifoid adalah penyakit infeksi akut usus halus yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella typhi* atau *Salmonella paratyphi* A, B, dan C. Penularan demam tifoid melalui fecal dan oral yang masuk ke dalam tubuh manusia melalui makanan dan minuman yang terkontaminasi (Widoyono, 2011). Demam tifoid merupakan penyakit yang rawan terjadi di Indonesia, karena karakteristik iklim yang sangat rawan dengan penyakit yang berhubungan dengan musim. Terjadinya penyakit

yang berkaitan dengan musim yang ada di Indonesia dapat dilihat meningkatnya kejadian penyakit pada musim hujan. Penyakit yang harus diwaspadai pada saat musim hujan adalah ISPA, leptosiposis, penyakit kulit, diare, demam berdarah dan demam tifoid (Kementerian Kesehatan RI, 2012).

Penularan demam tifoid selain didapatkan dari menelan makanan atau minuman yang terkontaminasi dapat juga dengan kontak langsung jari tangan yang terkontaminasi tinja, urin, secret saluran nafas atau dengan pus penderita yang terinfeksi (Dian, 2007). Proses makanan atau minuman terkontaminasi didukung oleh faktor lain yakni manusia yang terlibat langsung dengan pengolahan bahan makanan serta perilaku kebersihan diri perorangan yang baik karena bakteri sering ditemukan pada tangan (Rahayu, 2000). Penularan demam tifoid dapat terjadi melalui berbagai cara, yaitu dikenal dengan 5F yaitu (food, finger, fomitus, fly, feses) Feses dan muntahan dari penderita demam tifoid dapat menularkan bakteri *Salmonella typhi* kepada orang lain. Kuman tersebut ditularkan melalui makanan atau minuman yang terkontaminasi dan melalui perantara lalat, di mana lalat tersebut akan hinggap di makanan yang akan dikonsumsi oleh orang sehat. Apabila orang tersebut kurang memperhatikan kebersihan dirinya seperti mencuci tangan dan makanan yang tercemar oleh bakteri *Salmonella typhi* masuk ke tubuh orang yang sehat melalui mulut selanjutnya orang sehat tersebut akan menjadi sakit (Zulkoni, 2010).

2.6 Tinjauan Antibakteri

Antibakteri adalah zat yang membunuh atau menekan pertumbuhan atau reproduksi bakteri. Suatu zat antibakteri yang ideal harus memiliki sifat toksisitas selektif, artinya bahwa suatu obat berbahaya terhadap parasit tetapi tidak

membahayakan tuan rumah (*hopses*). Zat antibakteri dibagi menjadi dua kelompok, yaitu antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik) dan antibakteri yang dapat membunuh bakteri (bakteriosid). Berdasarkan daya menghambat atau membunuhnya, antibakteri dibedakan menjadi dua kelompok, yaitu berspektrum sempit (*narrow spectrum*) dan berspektrum luas (*broad spectrum*). Antibakteri yang berspektrum sempit yaitu antibakteri yang hanya dapat bekerja terhadap bakteri tertentu saja, misalnya hanya terhadap bakteri gram positif saja atau gram negatif saja. Antibakteri yang berspektrum luas dapat bekerja baik pada bakteri gram negatif maupun bakteri gram positif (Tristiyanto, 2009).

2.6.1 Bakteriostatik

Bakteriostatika, yaitu zat atau bahan yang dapat menghambat atau menghentikan pertumbuhan bakteri tetapi tidak menyebabkan kematian seluruh bakteri (Nurhayati, 2011).

2.6.2 Bakterisida

Bakteriosida, yaitu zat atau bahan yang dapat membunuh mikroorganisme (bakteri) tetapi tidak menyebabkan lisis atau pecahnya sel bakteri (Nurhayati, 2011).

2.6.3 Mekanisme Kerja Antibakteri

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antibakteri dapat dibagi menjadi empat cara, yaitu :

1. Penghambatan terhadap sintesis dinding sel

Bakteri mempunyai lapisan luar yang kaku yaitu dinding sel yang mengelilingi secara lengkap sitoplasma membran sel. Dinding sel berisi polimer mucopeptida kompleks (peptidoglikan) yang secara kimia berisi polisakarida dan

campuran rantai polipeptida yang tinggi, polisakarida ini berisi gula amino *N-acetylglucosamine* dan asam *acetylmuramic* (hanya ditemui pada bakteri) (Jawetz *et al*', 2005). Dinding ini mempertahankan bentuk mikroorganisme dan pelindung sel bakteri dari perbedaan tekanan osmotik di dalam dan di luar sel yang tinggi. Dinding sel bakteri terdiri dari peptidoglikan dan komponen yang lain. Sel yang aktif secara kontinyu mensintesis peptidoglikan yang baru dan menempatkannya pada posisi yang tepat pada amplop sel. Antibakteri bereaksi dengan satu atau banyak enzim yang dibutuhkan pada proses sintesis, sehingga menyebabkan pembentukan dinding sel yang lemah dan menyebabkan pemecahan osmotik (Tristiyanto, 2009).

2. Penghambatan terhadap fungsi membran sel

Sitoplasma semua sel hidup dibatasi oleh membran sitoplasma, yang berperan sebagai barrier permeabilitas selektif, memiliki fungsi transport aktif, dan kemudian mengontrol komposisi internal sel. Jika fungsi integritas dari membran sitoplasma dirusak akan menyebabkan keluarnya makromolekul dan ion dari sel, kemudian sel rusak atau terjadi kematian (Jawetz *et al*', 2005). Sitoplasma semua sel hidup dibatasi oleh membran sitoplasma yang berperan sebagai barrier permeabilitas selektif dan mengontrol komposisi internal sel. Antibakteri (*polymyxins*) berikatan dengan membran fosfolipid yang menyebabkan pemecahan protein dan basa nitrogen sehingga membran bakteri pecah yang menyebabkan kematian bakteri (Tristiyanto, 2009)

3. Penghambatan terhadap sintesis protein (penghambatan translasi dan transkripsi material genetik)

DNA, RNA dan protein memegang peranan sangat penting di dalam proses kehidupan normal sel. Hal ini berarti bahwa gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel (Pelczar *'et al'*, 1986). Kebanyakan obat menghambat translasi atau sintesis protein, bereaksi dengan ribosom RNA. Mekanisme kerjanya antara lain dengan menghalangi terikatnya RNA pada tempat spesifik ribosom, selama pemanjangan rantai peptida (Pelczar *'et al'*, 1986). Ribosom eukariotik berbeda dalam ukuran dan struktur dari prokariotik, sehingga menyebabkan aksi yang selektif terhadap bakteri. Bakteri mempunyai 70S ribosom, sedangkan sel mamalia mempunyai 80S ribosom. Subunit masing-masing tipe ribosom, komposisi kimia dan spesifikasi fungsinya berbeda. Perbedaan tersebut dapat untuk menerangkan mengapa antibakteri dapat menghambat sintesis protein dalam ribosom bakteri tanpa berpengaruh pada ribosom mamalia (Tristiyanto, 2009).

4. Penghambatan terhadap sintesis asam nukleat

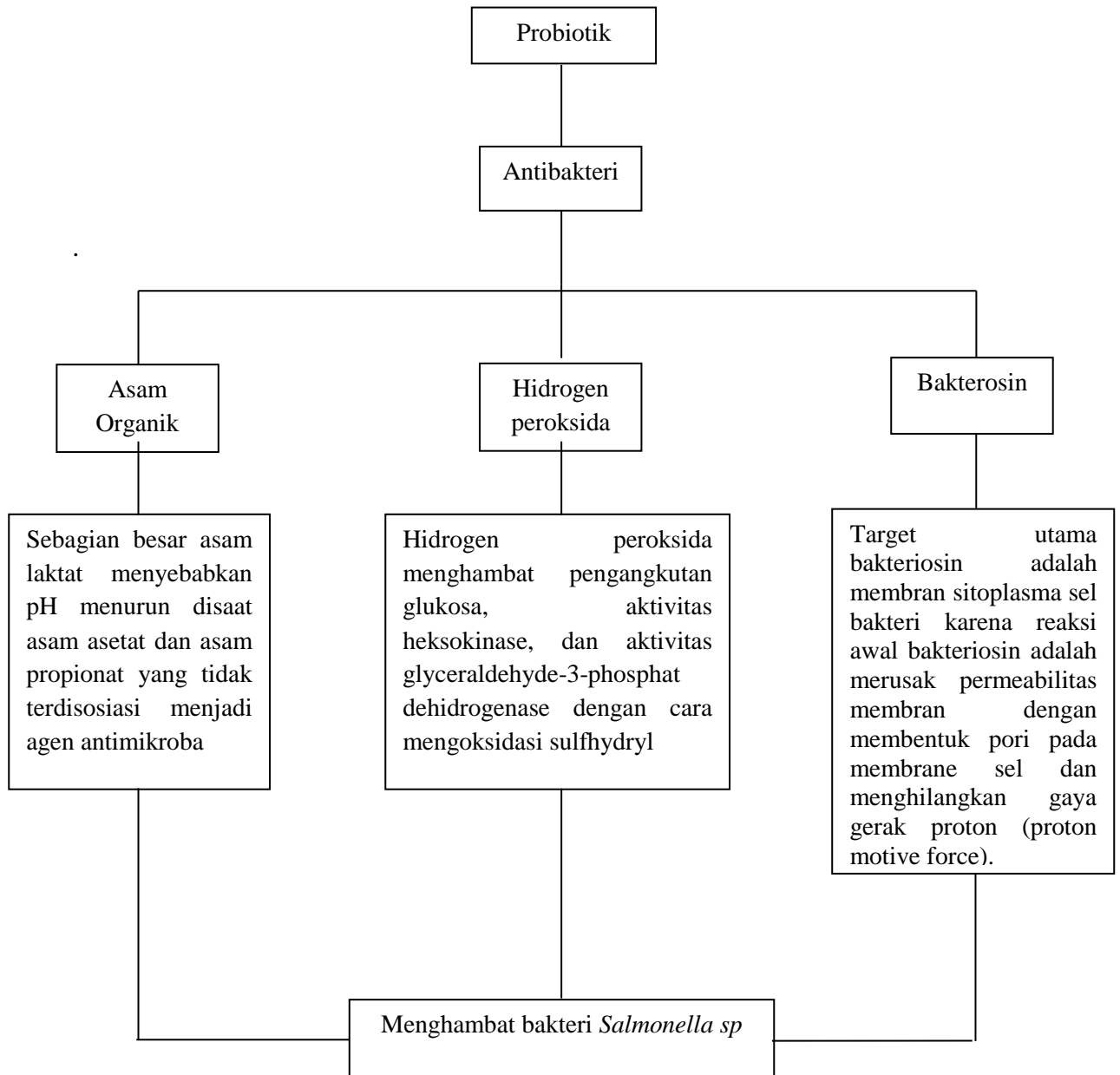
Pembentukan DNA dan RNA bakteri merupakan perjalanan yang panjang dan membutuhkan enzim di beberapa proses. Pembentukan DNA dan RNA sangat penting dan berefek dalam metabolisme protein. Antibakteri menginterferensi sintesis asam nukleat dengan menghambat sintesis nukleotida, menghambat replikasi, atau menghentikan transkripsi. Obat berikatan sangat kuat pada enzim *DNA Dependent RNA Polymerase* bakteri, sehingga menghambat sintesis RNA bakteri. Resistensi pada obat-obat ini terjadi akibat perubahan pada RNA *polymerase* akibat mutasi kromosom yang sangat sering terjadi (Tristiyanto, 2009).

2.7 Tinjauan Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram atau metode gram adalah suatu metode empiris untuk membedakan spesies bakteri menjadi dua kelompok besar, yaitu gram positif dan gram negative, berdasarkan sifat kimia dan fisik dinding sel mereka. Tujuan dari pewarnaan Gram adalah untuk mengidentifikasi mikroba. Prinsip pewarnaan Gram adalah dinding sel bakteri gram positif terdiri atas lapisan peptidoglikan yang tebal menjadikan afinitasnya tinggi terhadap kristal violet dan iod membentuk senyawa sukar larut dalam alkohol, sehingga tetap memegang kuat zat utama (berwarna ungu). Metode tersebut diberi nama berdasarkan penemunya ilmuwan Denmark, Hans Christian Gram (1853 - 1938) yang mengembangkan teknik tersebut pada tahun 1884 untuk membedakan antara *Pneumococcus* dan bakteri *Klebsiella pneumonia* (Karmana, 2008).

Metode pewarnaan Gram yaitu pemberian larutan Kristal violet, safranin, iodine, alkohol, dan aquades. Pemberian larutan Kristal violet untuk memberikan warna ungu pada mikroba sebagai pewarna primer. Pemberian larutan safranin untuk memberikan warna merah pada mikroba sebagai pewarna sekunder. Pemberian larutan iodine untuk memperkuat pengikatan warna oleh bakteri. Pemberian larutan alkohol untuk membilas larutan zat pewarna primer. Pemberian larutan aquades untuk membilas kristal violet, iodin dan safranin (Waluyo, 2005).

2.8 Kerangka Konsep



Gambar 2.4 Kerangka konsep

2.9 Kerangka Teori

Buah sirsak gunung (*Annona montana*) merupakan buah yang khasiatnya masih belum diketahui. Sirsak gunung dapat digunakan sebagai obat untuk kesehatan salah satunya dengan memanfaatkan sirsak gunung sebagai minuman probiotik.

Minuman probiotik dapat berkhasiat sebagai antibakteri. Probiotik dapat menghasilkan senyawa antibakteri seperti asam organik, hidrogen peroksida, dan bakteriosin. Senyawa-senyawa tersebut dapat berfungsi sebagai antibakteri dengan mekanisme kerjanya salah satunya adalah dengan menghambat translasi dan transkripsi material genetik.

Hal tersebut diharapkan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella sp.* Pada pengujian minuman probiotik sirsak gunung zona bening yang terbentuk dipengaruhi oleh jumlah dan kinerja bakteri probiotik yaitu dengan menekan pertumbuhan mikroorganisme patogen melalui produksi substansi antibakteri seperti asam laktat, asam asetat, asetaldehida, hidrogen peroksida dan bakteriosin. Semakin banyak BAL yang tumbuh di dalam substrat, tentunya akan semakin banyak produksi asam laktat yang dihasilkan. Jika total asam semakin meningkat, maka bakteri patogen akan semakin terhambat pertumbuhannya, akibatnya luas zona bening yang terbentuk juga semakin besar. Asam laktat merupakan hasil metabolit utama fermentasi oleh BAL. Pada pH rendah, sejumlah asam laktat berada dalam bentuk tidak terdisosiasi. Pada pH intraseluler yang tinggi, asam laktat akan berdisosiasi dan menghasilkan ion H^+ . Proton yang berlebihan dapat mengganggu fungsi metabolik yang penting. Selain menghasilkan metabolit berupa asam – asam organik, bakteri probiotik *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus casei* juga menghasilkan senyawa bakteriosin yang dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan dari bakteri lain.