

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan tentang Daun Cabe Jawa (*Piper retrofractum* Vahl)



Gambar 2.1 (a) Buah dan (b) Daun Cabe Jawa (*Piper retrofractum* Vahl) (Herlydf, 2014)

Cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl) merupakan tumbuhan asli Indonesia, ditanam di pekarangan, ladang, atau tumbuh liar di tempat-tempat yang tanahnya tidak lembap dan berpasir seperti di dekat pantai atau di hutan sampai ketinggian 600 mdpl. Nama umum pada berbagai daerah seperti : Cabean, cabe alas, cabe areuy, cabe jawa, cabe sula (jawa), cabhi jhamo, cabe ongghu, cabe solah (Madura), lada panjang, cabai jawa, cabai panjang (Sumatera), cabia (Makasar), *long papper* (Inggris) (Utami, 2008). Tumbuhan cabe jawa termasuk dalam tumbuhan menahun, batang dengan percabangan liat, tumbuh memanjat, melilit, atau melata dengan akar lekatnya atau disebut sulurnya, panjangnya dapat mencapai 10 m. Percabangan dimulai dari pangkalnya yang keras dan menyerupai kayu.

Daunnya merupakan daun tunggal, berwarna hijau, bertangkai, bentuknya bulat telur sampai lonjong, pangkal membulat, ujung runcing, tepi rata, pertulangan menyirip, permukaan atas, licin, permukaan bawah berbintik-bintik, panjang 8,5-30 cm, bunga berkelamin tunggal, tersusun dalam bulir yang tumbuh tegak atau sedikit merunduk, bulir jantan lebih panjang dari bulir betina. Buah

majemuk berupa bulir, bentuk bulat, panjang sampai silindris, bagian ujung agak mengecil, permukaan tidak rata, bertonjolan teratur, panjang 2-7 cm, garis tengah 4-8 mm, bertangkai panjang, masih muda berwarna hijau, keras dan pedas, kemudian warna berturut-turut menjadi kuning gading dan akhirnya menjadi merah, lunak dan manis. Biji bulat pipih, keras, cokelat kehitaman (Cronquist, 1981).

Taksonomi pada cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl) menurut Cronquist, 1981 adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Maknoliopsida
Ordo : Piperales
Famili : Piperaceae
Genus : Piper
Spesies : *Piper retrofractum* Vahl

Buah, daun dan batang cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl) memiliki kandungan asam amino bebas, damar, minyak atsiri, beberapa jenis alkaloid seperti piperine, piperidin, piperatin, piperlonguminine, β -sitosterol, sylvatine, guineensine, piperlongumine, filifiline, sitosterol, methyl piperate, noktanol, linalool, terpinil asetat, sitronelil asetat, sitral, saponin, polifenol, dan resin (kavisin) (Zuhri, 2008) dan (Kemenkes, 2011).

2.2 Manfaat Daun Cabe Jawa

Antara lain sebagai analgesik, diaforetik, karminatif, stimulan, afrodisiak, antiinflamasi, antipiretik dan antioksidan. Bagian tanaman yang sering digunakan adalah buah yang sudah tua, akar dan daun yang dikeringkan (Ruhnayat, 2011).

2.3 Tinjauan Tentang Ekstrak

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan menggunakan suatu pelarut tertentu (Ditjen POM, 2000). Ekstaksi adalah penyarian zat-zat berkhasiat atau zat-zat aktif dari bagian tanaman obat, hewan dan beberapa jenis ikan termasuk biota laut. Zat-zat aktif terdapat di dalam sel, namun sel tanaman dan hewan berbeda demikian pula kekebalannya sehingga diperlukan metode ekstraksi dengan pelarut tertentu dalam mengekstrasinya (Herbone,1987).

Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Ekstrak awal sulit dipisahkan melalui teknik pemisahan tunggal untuk mengisolasi senyawa tunggal. Oleh karena itu, ekstrak awal perlu dipisahkan ke dalam fraksi yang memiliki polaritas dan ukuran molekul yang sama (Mukhriani, 2014).

Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Cara ini sesuai baik untuk skala kecil maupun skala industri (Agoes, 2007). Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan besar kemungkinan beberapa senyawa hilang. Selain itu, beberapa

senyawa mungkin saja sulit diekstraksi pada suhu kamar. Namun di sisi lain, metode maserasi mempunyai kelebihan dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil, unit alat yang dipakai sederhana, hanya dibutuhkan bejana perendaman, biayanya relatif rendah, prosesnya relatif hemat penyari dan tanpa pemanasan (Agoes, 2007).

Menggunakan etanol 70% karena pelarut yang tidak toksik atau tidak beracun, selain itu mempunyai kemampuan dapat melarutkan hampir semua metabolit sekunder yang terkandung dalam simplisia sehingga didapat senyawa-senyawa yang dapat terekstrak dalam etanol (Depkes RI, 1986).

Menggunakan Dimethyl sulfoxide (DMSO) yang juga dikenal dengan nama methylsulfinylmethane atau sulfinyl-bis-methane tersusun dari atom sulfur pada pusatnya, sedangkan dua buah gugus metil, atom oksigen, dan sebuah pasangan elektron bebas terletak pada sudutnya. Konstanta dielektrik DMSO sangat tinggi, yaitu mencapai nilai 47, hal ini mengakibatkan DMSO menjadi pelarut universal yang unik (Jacob dan de la Torre, 2015). DMSO adalah salah satu pelarut organik paling kuat yang dapat melarutkan berbagai bahan organik dan polimer secara efektif (Gaylord Chemical Company, 2007). DMSO larut dalam air dan berbagai cairan organik lainnya, seperti alkohol, ester, keton, pelarut terklorinasi, dan hidrokarbon aromatic (Jacob dan de la Torre, 2015).

Berbeda dengan air, DMSO merupakan pelarut aprotik dipolar, yaitu pelarut yang bukan berperan sebagai pendonor proton melainkan lebih cenderung menerima proton. DMSO juga merupakan senyawa amfifilik, senyawa yang memiliki karakteristik baik hidrofilik maupun hidrofobik. Oleh karena itu, DMSO juga dikenal sebagai surfaktan (surface-active molecules) yang dapat berperan

sebagai interface antara air dan minyak. Namun, tidak seperti surfaktan lainnya, DMSO bersifat netral. DMSO tidak bersifat asam atau basa karena pelarut tersebut tergolong sebagai pelarut aprotik (Jacob dan de la Torre, 2015).



Gambar 2.2 Struktur DMSO (Jacob dan de la Torre, 2015)

Sebagai pelarut netral yang juga berperan sebagai surfaktan, DMSO banyak digunakan sebagai pelarut ekstrak pada berbagai penelitian terkait uji antimikrobia ekstrak tanaman,. Onyegbule dkk. (2011) telah menggunakan DMSO sebagai pelarut ekstrak etil asetat *Napoleoneae imperalis* dan sebagai kontrol negatif dalam prosedur uji luas zona hambatnya terhadap *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. DMSO juga telah digunakan sebagai pelarut ekstrak heksan, etil asetat dan metanol buah parijoto serta sebagai kontrol negatif dalam pengujian antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yang telah dilakukan oleh Niswah (2014).

2.4 Skrining Fitokimia

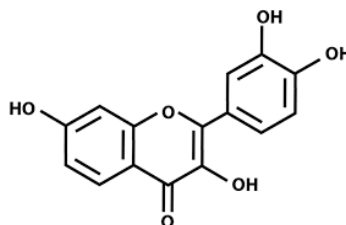
Fitokimia berasal dari kata *phytochemical*. *Phyto* berarti tumbuhan atau tanaman dan *chemical* sama dengan zat kimia berarti zat kimia yang terdapat pada tanaman. Setiap tumbuhan atau tanaman mengandung sejenis zat yang disebut fitokimia, merupakan zat kimia alami yang terdapat di dalam tumbuhan dan dapat memberikan rasa, aroma atau warna pada tumbuhan itu (Daris, 2010). Penapisan fitokimia atau skrining fitokimia adalah pemeriksaan kandungan kimia secara kualitatif untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam suatu tumbuhan-tumbuhan sebagai makhluk hidup akan menghasilkan senyawa

metabolit sekunder sebagai bentuk adaptasinya dengan lingkungan sekitar. Senyawa ini memiliki fungsi sebagai alat pertahanan diri dan reproduksi. Metabolit sekunder juga dikatakan memiliki sifat adaptif agar tumbuhan dapat bertahan hidup atau tidak musnah. Senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman di daerah yang satu dan daerah yang lainnya berbeda-beda walaupun dengan jenis tanaman yang sama. Penapisan fitokimia dilakukan untuk mengetahui komponen kimia pada tumbuhan secara kualitatif (Saleh 2007 dalam Budifaka, 2014:21) Senyawa-senyawa aktif biologis atau senyawa bermanfaat dalam pengobatan terdapat dalam simplisia nabati. Senyawa-senyawa tersebut adalah senyawa metabolit sekunder (Audia, 2016)

2.5 Senyawa Metabolit Sekunder

Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa kimia yang mempunyai kemampuan bioaktivitas dan berfungsi sebagai pelindung tumbuhan tersebut dari gangguan hama penyakit untuk tumbuhan itu sendiri dan lingkungannya. Senyawa metabolit sekunder terdapat pada semua bagian tanaman, namun penyebarannya tidak merata. Kandungan metabolit yang terdapat pada daun cabe jawa seperti :

2.5.1 Flavonoid



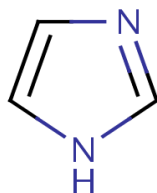
Gambar 2.3 Struktur Kimia Senyawa Flavonoid (Sri Wahyuni *et al*, 2018)

Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenol yang ditemukan di alam, flavonoid menggambarkan kumpulan senyawa yang mengandung rantai karbon

C6-C3-C6, yang disebut juga fenol benzapiran. Golongan terbesar flavonoid memiliki ciri khas terdiri atas dua gugus atomatik berupa cincin benzene yang mengapi 3 karbon rantai alipatik. Banyaknya senyawa flavonoid ini bukan disebabkan oleh berbagai tingkat hidrolisis, diogsilasi / glikolisis pada struktur tersebut. Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, biru, dan zat kuning yang terdapat pada tanaman sebagai pigmen bunga flavonoid berperan dalam menarik serangga untuk membantu proses penyerbukan atau dengan fungsi lain untuk zat pengatur proses fotosintesis zat anti mikroba, antivirus dan anti sektisida.

Turunan golongan flavonoid yang terdapat di dalam anti histamine, proantosianida, flavanol, flavon, glikoflavon, bfalvon II, khakoh, aurotiflavon serta isoflavon. Flavonoid merupakan senyawa yang tidak tahan panas, cahaya dan bahan kimia tertentu, akan tetapi flavonoid tidak mengalami kerusakan sampai pada suhu 90°C (Sri Wahyuni *et al*, 2018). Senyawa flavonoid memiliki sifat-sifat kimia mirip fenol karena merupakan senyawa flavonoid senyawa polihidroksi maka flavonoid bersifat polar, sehingga dapat larut dalam pelarut polar seperti methanol, etanol, aseron, dan air, adanya gugus glukosida yang terikat pada flavonoid yang menyebabkan mudah larut dalam air kerangka dasar karbon flavonoid 15 atom C, susunan yang dihasilkan ada 3 jenis struktur, yaitu 1.3 dietillpropan atau flavonoid 1.2 dietilelprofan atau isoplavonoid. 1.1 dietilpropan/ ncoflavonoid.

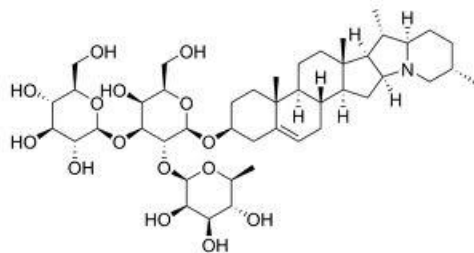
2.5.2 Alkaloid



Gambar 2.4 Struktur Kimia Senyawa Alkaloid (Aulya, 2012)

Alkaloid merupakan golongan senyawa yang sangat heterogen apabila dipandang secara kimia, senyawa alkaloid mengandung unsur nitrogen (N) sering dalam bentuk cincin heterosiklik tetapi tidak semua demikian nama alkaloid bermakna alkali (basa) karena alkaloid mempunyai sifat alkali/ basa. Alkaloid yang terdapat dalam bentuk elektron tersendiri dari atom nitrogen yang digunakan untuk membentuk ikatan dengan gugus lain (misalnya metal) sehingga muatan positif pada nitrogen menjadikan kelompok senyawa bersifat netral alkaloid yang terbentuk dalam sebagai garam yang merupakan hasil ekstraksi antara basa dan asam (Aulya, 2012).

2.5.3 Saponin



Gambar 2.5 Struktur Kimia Senyawa Saponin (Septiana & Asnani, 2016)

Saponin adalah glikosida triterpena dan sterol yang telah terdeteksi dalam lebih dari 90 genus pada tumbuhan. Glikosida adalah suatu kompleks antara gula pereduksi (glikon) dan bukan gula (aglikon). Banyak saponin yang mempunyai satuan gula sampai 5 dan komponen yang umum ialah asam glukuronat. Adanya saponin dalam tumbuhan ditunjukkan dengan pembentukan busa yang mantap sewaktu mengekstraksi tumbuhan atau memekatkan ekstrak (Putranti, 2014).

Saponin merupakan glikosida yang memiliki aglikon berupa steroid dan triterpenoid. Saponin memiliki berbagai kelompok glikosil yang terikat pada posisi C3, tetapi beberapa saponin memiliki dua rantai gula yang menempel pada posisi C3 dan C17. Struktur saponin tersebut menyebabkan saponin bersifat seperti sabun atau deterjen sehingga saponin disebut sebagai surfaktan alami.

2.6 Tinjauan tentang *Escherichia coli*

Escherichia coli adalah bakteri yang merupakan bagian dari mikroflora yang secara normal ada dalam saluran pencernaan manusia. *Escherichia coli* menjadi patogen jika jumlah bakteri ini dalam saluran pencernaan meningkat atau berada di luar usus, masuknya bakteri *Escherichia coli* ke dalam saluran pencernaan melalui makanan dan minuman yang dikonsumsi sehingga menjadikan jumlah bakteri ini meningkat pada saluran pencernaan dan menjadi penyebab yang paling sering menimbulkan penyakit diare (Kusuma, 2010).

Taksonomi Pada *Escherichia coli* menurut Tenailon *et al.*, 2010 adalah sebagai berikut :

Kingdom : *Bacteria*
Divisio : *Proteobacteria*
Kelas : *Gamma Proteobacteria*
Ordo : *Enterobacteriales*
Famili : *Enterobacteriaceae*
Genus : *Esherichia*
Spesies : *Esherichia coli*



Gambar 2.6 Morfologi *Escherichia coli* (Todar, 2008)

Bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri yang hidup di saluran pencernaan manusia maupun hewan, *Escherichia coli* merupakan bakteri anaerobik fakultatif yang dapat tumbuh pada keadaan aerob maupun anaerob, bakteri yang tergolong dalam anaerob fakultatif merupakan bakteri patogen yang sering dijumpai. *Escherichia coli* memiliki bentuk batang pendek (*coccobasil*) dengan ukuran 0,4 - 0,7 μm x 1,4 μm , bersifat motil (dapat bergerak), tidak memiliki nukleus, organel eksternal maupun sitoskeleton tetapi memiliki organel eksternal yakni vili yang merupakan filamen tipis dan lebih panjang (Jawetz, 2009) dan (Hendrayati, 2012).

Bakteri *Escherichia coli* dapat tumbuh berlebihan jika mengonsumsi makanan yang terkontaminasi oleh bakteri seperti daging mentah, daging yang tidak sempurna dalam proses pengolahan, susu, ataupun feses yang tercemar dalam pangan atau air, bakteri *Escherichia coli* dapat menjadi patogen jika terkandung dalam jumlah yang banyak. Bakteri *Escherichia coli* yang patogen dapat tumbuh pada suhu rendah yaitu sekitar 44°C dan juga suhu tinggi yaitu sekitar 70°C tetapi pertumbuhan *Escherichia coli* lebih optimal pada suhu antara 35°C - 37°C, pH optimum 7 - 7,5. Selain itu, bakteri *Escherichia coli* dapat hidup ditempat lembab, relatif sensitif terhadap panas, dan akan mati dengan pasteurisasi atau proses pemasakan makanan dengan suhu yang relatif tinggi (Sofiana, 2012).

Bakteri *Escherichia coli* dapat tumbuh di media *Eosin Methylen Blue Agar* (EMBA), bakteri ini mempunyai strain yang bersifat mikroaerofilik yaitu sangat membutuhkan oksigen untuk hidup tetapi dengan tanpa oksigen *Escherichia coli* masih dapat hidup. Selain memiliki strain yang bersifat aerofilik juga memiliki strain yang bersifat hemolisis sehingga pada agar darah akan terlihat hemolisis β (hemolisis total). Pada media koloni yang terlihat berwarna kilap logam (Jawetz, 2009 dan Mahon, 2015).



Gambar 2.7 *Escherichia coli* pada media EMBA (*Eosin Methylen Blue Agar*) (Juwita, Usna, Jose, Christine, 2014)

Patogenesis bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri *coliform* dan hidup dalam saluran pencernaan manusia sehingga bakteri *Escherichia coli* termasuk dalam flora normal usus. Tetapi jika bakteri *Escherichia coli* ini ditemukan pada makanan dan minuman dapat dikatakan bahwa pengolahan makanan tersebut sudah tercemar atau berkontak dengan feses manusia dikarenakan kondisi tersebut dapat menyebabkan gangguan saluran pencernaan. Pada kondisi yang telah menimbulkan gejala seperti diare dapat dipengaruhi oleh jumlah koloni pada saluran pencernaan dan karakteristik virulensinya.

2.6.1 Berdasarkan sifat virulensinya bakteri *Escherichia coli* digolongkan menjadi beberapa golongan menurut Kusuma (2010) :

2.6.1.1 *Enterotoxigenic Escherichia coli* (ETEC)

Golongan ETEC merupakan penyebab diare yang sering pada bayi di negara berkembang, hal tersebut diakibatkan virulensi yang dihasilkan oleh ETEC yaitu

enterotoksin dan antigen vili (*fimbrae*), enterotoksin ETEC berupa toksin tidak tahan panas (*heat labile toxins*) dan toksin tahan panas (*heat stabile toxins*). Mekanisme infeksi ETEC di dalam tubuh yaitu ETEC menempel pada sel enterosit dengan vili kemudian berproliferasi dan berkolonisasi di mukosa usus sehingga menyebabkan peningkatan jumlah ETEC di dalam saluran pencernaan. Toksin yang dihasilkan oleh ETEC baik *heat labile toxins* atau *heat stabile toxins* akan berikatan dengan reseptor dan masuk ke dalam sel, toksin mengaktifasi guanilat siklase sehingga menyebabkan akumulasi cairan dan elektrolit di dalam lumen usus serta menghambat absorpsi (Sari, 2015).

Toksin labil akan mengikat Ribose Adenosin Difosfat (ADP) sehingga menghambat kegiatan GTPase (pemecah protein G). Akibatnya, protein G ini meningkat dan merangsang adenilil siklase epitel yang berkepanjangan sehingga menyebabkan peningkatan jumlah Adenosin Monofosfat (AMP). Peningkatan AMP akan menyebabkan peningkatan sekresi pada sel-sel kelenjar di dalam usus yaitu dengan merangsang sekresi Cl^- (hipersekresi) dengan membuka saluran klorida pada sel kriptas dan menghambat absorpsi Na^+ dari lumen ke dalam sel epitel usus. Peningkatan kadar elektrolit dan air di dalam lumen usus dapat menyebabkan diare (Hilfa, 2015).

2.6.1.2 *Escherichia coli* enteropatogenik (EPEC)

EPEC merupakan strain pertama diantara strain *Escherichia coli* yang berhasil diidentifikasi sebagai penyebab diare pada pasien bayi dan anak-anak di Eropa. Oleh karena itu, EPEC merupakan penyebab diare cair yang sering terjadi pada bayi di negara berkembang tetapi dapat sembuh sendiri. EPEC akan menempel pada sel mukosa usus halus atau masuk kedalam mukosa yang dapat

menyebabkan hilangnya mikrovili sehingga proses penyerapan terganggu dan terjadi diare (Juwita, 2014).

2.6.1.3 *Escherichia coli enteroinvasive* (EIEC)

EIEC mempunyai beberapa persamaan dengan *Shigella* yaitu dalam hal reaksi biokimia, serologi, dan sifat patogenitasnya. EIEC melakukan penetrasi di mukosa usus dan akan multiplikasi pada sel-sel epitel colon (usus besar). Kerusakan yang terjadi pada mukosa usus dapat menyebabkan diare berdarah. Gejala yang ditimbulkan mirip dengan disentri yang disebabkan oleh *Shigella* (Sari, 2015) dan (Mahon, 2015).

2.6.1.4 *Enterohaemorrhagic Escherichia coli* (EHEC)

EHEC merupakan penyebab diare ringan dan *hemorrhage colitis* (radang usus besar). Transmisi EHEC dapat melalui makanan yang dihidangkan tidak higienis dan penularan secara spontan atau secara kontak langsung (*person to person*), EHEC memproduksi sitotoksin yang dapat menyebabkan terjadinya peradangan dan perdarahan yang meluas di usus besar yang dapat menyebabkan *haemolytic uraemic syndrome* terutama pada anak-anak. Gejala yang timbul ditandai dengan diare akut, kejang, demam, dan perlahan-lahan diare menjadi berdarah (Sari, 2015) dan (Hilfa, 2015).

2.6.1.5 *Escherichia coli enteroaggregative* (EAEC)

EAEC merupakan penyebab diare akut dan kronik dalam jangka waktu lebih dari 14 hari pada orang-orang di negara berkembang, EAEC memproduksi hemolisin dan *heat stabil toxin*, enterotoksin seperti yang dikeluarkan oleh ETEC. Toksin yang dihasilkan oleh EAEC dapat melekat pada bagian mukosa lumen usus yang dapat menyebabkan diare pada anak-anak (Mahon, 2015).

2.7 Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Mikroorganisme

Menurut Waluyo (2004) ada beberapa faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme diantaranya yaitu :

2.7.1 Nutrisi

Nutrisi merupakan hal penting bagi bakteri untuk membentuk energi dan menyusun komponen bakteri. Beberapa nutrisi yang dibutuhkan yaitu sumber karbon, sumber nitrogen, sumber energi dan faktor pertumbuhan yakni mineral dan vitamin.

2.7.2 Ketersediaan air

Air merupakan kebutuhan utama oleh semua makhluk hidup untuk bertahan hidup dan berkembangbiak. Air merupakan komponen terbesar dalam sel bakteri yaitu sebesar 70-80%. Selain itu air juga digunakan sebagai reaktan dalam berbagai reaksi biokimia. Adapun air yang tidak dapat digunakan oleh bakteri yaitu adanya ion yang dapat mengikat air dalam larutan (garam dan gula), koloid hidrofilik akan menghambat pertumbuhan bakteri di medianya dan air dalam bentuk kristal.

2.7.3 pH

Pada umumnya bakteri dapat tumbuh pada kisaran pH 3-6. Beberapa bakteri mempunyai pH optimum untuk menunjukkan pertumbuhan optimum bakteri yaitu sekitar 6,5-7,5. Bakteri tidak dapat tumbuh dengan baik pada pH <5 dan >8,5 kecuali bakteri asam asetat (*Acetobacter suboxydans*)

2.7.4 Suhu

Setiap bakteri mempunyai suhu optimum, minimum, dan maksimum untuk menunjang pertumbuhannya. Apabila suhu terlalu rendah atau terlalu tinggi, maka aktivitas enzim bakteri akan berhenti atau bahkan terjadi denaturasi enzim.

2.7.5 Ketersediaan oksigen

Konsentrasi oksigen di lingkungan mempengaruhi jenis bakteri yang dapat tumbuh.

2.8 Media Pertumbuhan Mikroba

2.8.1 Pengertian Media

Media adalah suatu bahan yang terdiri dari campuran zat-zat hara (*nutrient*) yang berguna untuk membiakkan mikroba. Dengan mempergunakan bermacam-macam media dapat dilakukan isolasi, perbanyakan, pengujian sifat-sifat biologis dan perhitungan jumlah mikroba (Sutedjo dalam Khotimah, 2018).

2.8.2 Persyaratan Media

Persyaratan yang harus dipenuhi dalam penyiapan media menurut Anna (2012):

1. Mengandung semua nutrisi yang mudah digunakan oleh mikroba.
2. Mempunyai tekanan osmose, tegangan permukaan, dan pH yang sesuai.
3. Tidak mengandung zat-zat penghambat.
4. Steril.

Ketepatan komposisi medium tergantung pada kebutuhan spesies yang akan dikultivasi karena kebutuhan nutrisi sangat bervariasi. Pengetahuan tentang

habitat normal mikroorganisme sering berguna untuk menentukan medium yang cocok karena kebutuhan tergantung lingkungan alaminya. Meskipun persyaratan medium untuk menumbuhkan mikroorganisme sangat beragam, namun sebagai organisme hidup mempunyai kebutuhan dasar yang sama yaitu memerlukan sumber karbon, energi, air, nitrogen, fosfat, dan mineral (Anna, 2012).

2.8.3 Klasifikasi Media

Klasifikasi media menurut Balai Penelitian Utama (2000) dapat dilihat dalam tabel dibawah ini.

Tabel 2.1 Klasifikasi Media Pertumbuhan Mikroorganisme

Dasar Klasifikasi	Sifat Media	Contoh
Sumber nutrisi	Alamiah buatan	Susu, telur, kentang. <i>Nutrien agar, Tryptic Soy agar, Heart infursion agar</i>
Bentuk fisik	- Cair - Setengah Padat - Padat	<i>Nutrien broth, triptosa broth, Amiex Transport Medium, Stuart Transport Medium. Nutrien agar, Triptosa Agar</i>
Komposisi kimia	Komplek sintetik	<i>Mueler Hintin Agar, Nutrien Agar. Dorset Henley.</i>
Perbedaan pertumbuhan	Membedakan (<i>diferensial</i>)	<i>Eosin Methilene Blue Agar, Mac Conkey Agar.</i>
Seleksi	Memilih (<i>selective</i>)	<i>Briliant Green Agar, Salmonella Shigella Agar, Bismuth Sulfur Agar.</i>
Rewel (<i>fastidious</i>)	Diperkaya	<i>Blood Agar, Serum Agar.</i>

Sumber : Kultur Media Bakteri oleh Balai Penelitian Utama (2000)

2.9 Tinjauan tentang Media *Eosin Methylen Blue Agar (EMBA)*

EMB Agar mengandung laktosa, sukrosa, pepton, eosin Y, dan *methylen blue*. EMB Agar disebut sebagai media diferensial karena kandungan *methylen blue* pada media bisa menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif. Gula yang

terdapat dalam media, yaitu sukrosa dan laktosa merupakan substrat yang bisa difermentasi oleh sebagian besar bakteri Gram negatif, terutama bakteri *coliform*. Adanya sukrosa dan laktosa juga bertujuan untuk membedakan antara bakteri *coliform* yang mampu memfermentasi sukrosa lebih cepat daripada laktosa dan yang tidak dapat memfermentasi sukrosa. Bakteri *coliform* umumnya mampu memfermentasi laktosa dan menghasilkan asam. Kondisi ini membuat media menjadi asam sehingga indikator Eosin Y berubah warna dari bening menjadi ungu gelap yang biasanya disertai kilap logam. Koloni yang tumbuh berinti gelap disertai kilap logam pada permukaan EMBA merupakan ciri koloni *Escherichia coli*. Bakteri gram negatif lain yang mampu memfermentasi laktosa dengan lambat akan ditunjukkan dengan warna coklat merah muda, dan bakteri yang tidak mampu memfermentasi laktosa akan terlihat merah muda pudar (Lal dan Cheepthman dkk., 2007; Merck, 1996).

Kandungan dari media EMBA per liter yaitu : Pepton 10 gram, Laktosa 5 gram, Sukrosa 5 gram, Dipotassium fosfat 2 gram, Eosin Y 0,4 gram, Methylene blue 0,065 gram, Agar 13,5 gram, pH akhir pada media EMB Agar yaitu $7,2 \pm 0,2$ pada suhu 25°C .

Fungsi bahan pada komposisi bahan media EMBA yaitu:

1. Pepton: untuk menyediakan nitrogen, vitamin, mineral dan asam amino esensial untuk pertumbuhan bakteri.
2. Laktosa: untuk menyediakan sumber karbohidrat untuk difermentasi bakteri sehingga dapat membedakan koloni bakteri yang bisa memfermentasi laktosa dengan koloni bakteri yang tidak memfermentasi laktosa.

3. Sukrosa: untuk menyediakan sumber karbohidrat untuk difermentasi bakteri sehingga dapat membedakan koloni bakteri *coliform* dengan koloni bakteri *coliform* lainnya.
4. Dipotassium fosfat (K_2HPO_4): untuk menyediakan elektrolit dan keseimbangan osmotik.
5. Eosin Y: sebagai indikator pH serta menghambat pertumbuhan bakteri gram positif.
6. Methylene blue: sebagai indikator pH serta menghambat pertumbuhan bakteri gram positif.
7. Agar: untuk memadatkan media.

2.10 Pengukuran Suspensi Bakteri dengan Standar Transmittan

Kerapatan inokulum bakteri diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 580 nm untuk bakteri *Escherichia coli* sampai diperoleh transmittan 25% (Hidayah dkk, 2014). Nilai transmittan 25% merupakan kepadatan sel yang optimal untuk pengujian aktivitas antibakteri. Pengukuran suspensi bakteri ini bertujuan untuk mencegah terjadinya kepadatan sel bakteri yang berlebihan pada saat pengujian aktivitas antibakteri (Wardani dkk, 2011)

2.11 Pewarnaan Bakteri

Bakteri adalah organisme berukuran kecil dan terkadang berkelompok, untuk memudahkan pengamatan di bawah mikroskop diperlukan pewarnaan mikroorganisme menggunakan zat pewarna. Pewarnaan yang sering digunakan adalah pewarnaan Gram, yaitu pewarnaan diferensial yang menggunakan lebih dari satu zat pewarna dan memiliki reaksi yang berbeda untuk setiap bakteri,

sehingga digunakan untuk membedakan jenis bakteri. Pewarnaan gram ini mampu membedakan dua kelompok besar bakteri, yaitu Gram positif dan Gram negatif (Pratiwi, 2008). Perbedaan warna antara bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif disebabkan oleh adanya perbedaan struktur pada dinding selnya. Dinding sel bakteri Gram positif dan Gram negatif banyak mengandung peptidoglikan, sedangkan dinding bakteri Gram negatif banyak mengandung lipopolisakarida (Pratiwi, 2008).

Tabel 2.2 Perbedaan bakteri Gram positif dan Gram negatif

Gram Positif	Gram Negatif
Dinding sel peptidoglikan berlapis-lapis (dan biasanya tebal), beranyam rapat yang mengurung kompleks besar Kristal ungu-iodium)	Selubung sel memiliki lapisan peptidoglikan tipis (1-3 lapis) yang terhubung dengan suatu membran luar, peptidoglikan ini tidak teranyam rapat, sehingga mudah kehilangan kompleks ungu kristal-iodium pada saat proses pelunturan dengan alkohol
Bakteri Gram positif tidak memiliki membran luar maka tidak memiliki penghalang (<i>barrier</i>) hidrofobik untuk membatasi jalan masuk untuk antibiotika besar.	Membran luarnya memiliki lipopolisakarida, yang paling sering dikeluarkan pada saat kematian sel dan memiliki komponen toksik

(Johnson dll, 2011)

2.12 Tinjauan tentang Diare

Diare merupakan gangguan pencernaan yang ditandai dengan keluarnya feses yang sangat encer dan disertai rasa mulas. Hilangnya cairan yang terlalu banyak pada orang yang terkena diare dapat menyebabkan penderita menjadi lemas sehingga dapat membahayakan jiwa penderita. Gejala diare adalah tinja yang encer dengan frekuensi tiga kali atau lebih dalam sehari, yang kadang disertai

muntah, badan lesu atau lemas, panas, tidak nafsu makan, darah dan lendir dalam kotoran. Rasa mual dan muntah dapat mendahului diare yang disebabkan oleh infeksi virus. Diare bukanlah penyakit yang datang dengan sendirinya.

Biasanya ada yang menjadi pemicu terjadinya diare. Secara umum, penyebab diare diantaranya infeksi oleh bakteri, virus atau parasit, alergi terhadap makanan atau obat tertentu. Gangguan bakteri dan parasit kadang-kadang menyebabkan demam tinggi dan tinja mengandung darah. Diare bisa menyebabkan kehilangan cairan dan elektrolit (misalnya natrium dan kalium), diare sering kali disertai oleh dehidrasi (kekurangan cairan).

Dehidrasi ringan hanya menyebabkan bibir kering. Dehidrasi sedang menyebabkan kulit keriput, mata dan ubun-ubun menjadi cekung. Sedangkan dehidrasi berat bisa berakibat fatal, biasanya menyebabkan syok. Ciri khas dari dehidrasi berat yaitu berak-berak air, berbusa, tidak ada darah atau lendir dan berbau asam (Juansa, 2013).

Klasifikasi Diare secara umum dapat dibedakan menjadi 2, yaitu:

1. Diare akut

Diare akut adalah diare yang terjadinya mendadak dan berlangsung kurang dari dua minggu. Gejalanya antara lain: tinja cair, biasanya mendadak, disertai lemah dan kadang-kadang demam atau muntah. Biasanya berhenti atau berakhir dalam beberapa jam sampai beberapa hari. Diare akut dapat terjadi akibat infeksi virus, infeksi bakteri akibat makanan (Anonim, 2007).

2. Diare kronis

Diare kronis adalah diare yang melebihi jangka waktu 15 hari sejak awal diare. Batasan waktu 15 hari tersebut semata-mata suatu kesepakatan, karena

banyaknya usul untuk menentukan batasan waktu diare kronis. Berdasarkan ada tidaknya infeksi, diare dibagi menjadi 2 yaitu diare spesifik dan diare non spesifik. Diare spesifik adalah diare yang disebabkan oleh infeksi virus, bakteri, atau parasit. Diare non spesifik adalah diare yang disebabkan oleh makanan (Wijaya, 2010).

Penyakit diare dapat disebabkan oleh 3 jenis, yaitu:

1. Diare akibat virus

Dapat melekat pada sel-sel mukosa yang menyebabkan kerusakan, sehingga kapasitas resorpsi menurun, tetapi sekresi air dan elektrolit bertambah. Diare ini terjadi beberapa hari hingga virusnya bertambah dan dapat lenyap dengan sendirinya dan biasanya terjadi selama 6 hari (Tjay dan Rahardja, 2007).

2. Diare akibat enterotoksin

Penyebabnya adalah bakteri yang membentuk enterotoksin yang terpenting adalah *E. coli* dan lebih jarang *Shigella*, *Salmonella*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Campylobacter jejuni*, dan *Entamoeba histolytica*. Sel-selnya melekat pada sel mukosa dan merusaknya. Diare ini bersifat *self limiting* yang dapat sembuh dengan sendirinya tanpa pengobatan kurang lebih 5 hari, dan setelah itu sel-sel yang rusak diganti dengan sel-sel yang baru (Tjay dan Rahardja, 2007).

3. Diare akibat bakteri/diare invansif

Bakteri-bakteri tertentu memperbanyak diri dan membentuk toksin yang mana dapat diresorpsi ke dalam darah dan menimbulkan gejala-gejala hebat seperti demam tinggi, nyeri kepala dan kejang, disamping itu mencret berdarah dan lendir, disebabkan oleh jenis *Salmonella*, *Shigella*, jenis *E. coli* tertentu dan basil *Campylobacter jejuni* (Tjay dan Rahardja, 2007).

Mekanisme terjadinya diare dapat dibagi menjadi 4 kelompok yaitu :

1. Diare osmotik terjadi bila ada bahan yang tidak dapat diserap meningkatkan osmolaritas dalam lumen yang menarik air dari plasma sehingga terjadi diare.
2. Diare sekretorik bisa terjadi karena gangguan pengangkutan (transport) elektrolit baik absorpsi yang berkurang ataupun sekresi yang meningkat. Hal ini dapat terjadi akibat toksin yang dikeluarkan bakteri misalnya toksin kolera atau pengaruh garam empedu, asam lemak rantai pendek, atau laksatif non osmotik.
3. Diare eksudatif, inflamasi akan mengakibatkan kerusakan mukosa baik usus halus maupun usus besar. Inflamasi dan eksudasi dapat terjadi akibat infeksi bakteri atau bersifat non infeksi.
4. Kelompok lain adalah akibat gangguan motilitas yang mengakibatkan waktu transit usus menjadi lebih cepat, sehingga menyebabkan diare (Wijaya, 2010).

2.13 Tinjauan tentang 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 dan antibakteri yang dapat membunuh bakteri (bakteriosid) (Talaro, 2008). 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 (Talaro, 2008). Antibakteri yang biasa digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri adalah antibiotik.

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antibakteri dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu :

1. Antibakteri yang menghambat metabolisme sel bakteri

Antibakteri yang termasuk dalam kelompok ini adalah sulfonamide, trimetoprim, asam p-aminosalisilat (PAS) dan sulfon. Dengan mekanisme kerja ini diperoleh efek bakteristatik. Bakteri membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya. Berbeda dengan mamalia yang mendapatkan asam folat dari luar, bakteri harus mensintesis sendiri *Asam Para Amino Benzoate* (PABA) untuk kebutuhan hidupnya (Setiabudy, 2007).

2. Antibakteri yang menghambat sintesis dinding sel bakteri

Antibakteri yang termasuk dalam kelompok ini adalah penisilin, sefalosporin, bastitrasin, vankomisin, ristosetin dan sikloserin. Dinding sel bakteri secara kimia adalah polipeptidoglikan yaitu suatu kompleks polimer mukopeptida (Glikopeptida), antibakteri menghambat reaksi proses sintesa dinding sel, karena tekanan osmotik dalam sel bakteri lebih tinggi daripada diluar sel maka kerusakan dinding sel bakteri akan menyebabkan terjadinya lisis, yang merupakan dasar efek bakterisidal pada kuman yang peka (Ganiswarna, 1995).

3. Antibakteri yang mengganggu keutuhan membran sel bakteri.

Antibakteri yang termasuk kelompok ini adalah polimiksin dan golongan polien serta berbagai golongan antibakteri kemoterapeutik. Antibakteri yang dapat mengubah tegangan permukaan (*surface active agents*) dapat merusak permeabilitas atau ketuhan selektif dari membran sel bakteri. Kerusakan membran sel menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel mikroba yaitu protein, asam nukleat, dan nukleotida (Setiabudy, 2007).

4. Antibakteri yang menghambat sintesis protein sel bakteri.

Antibakteri yang termasuk dalam kelompok ini adalah aminoglikosid, makrolid, linkomisin, tetrasiklin dan kloramfenikol. Untuk kehidupannya, sel bakteri 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 berfungsi sebagai sintesis, kedua komponen ini akan bersatu pada pangkal rantai mRNA menjadi ribosom 70S (Setiabudy, 2007).

5. Antibakteri yang menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri

Antibakteri yang termasuk dalam kelompok ini adalah rifampisin dan golongan kuinolon. Antibakteri yang memiliki mekanisme kerja ini pada umumnya kurang mempunyai sifat toksisitas selektif karena bersifat sitotoksik terhadap sel tubuh hospes. Karena itu hanya yang sifat sitotoksiknya masih dapat diterima yang bermanfaat sebagai anti bakteri (Setiabudy, 2007)

2.14 Tinjauan tentang Pengujian Antibakteri

Pengujian mikrobiologi memanfaatkan mikroorganisme sebagai penentu konsentrasi komponen tertentu pada campuran kompleks kimia, untuk mendiagnosis penyakit tertentu serta untuk menguji bahan kimia guna

menentukan potensi mutagenik atau karsinogenik suatu bahan. Pada uji ini diukur pertumbuhan mikroorganisme terhadap agen antimikroba. Kegunaan uji antimikroba adalah diperolehnya suatu sistem pengobatan yang efektif dan efisien. Pada metode pengujian anti bakteri ini penentuan aktivitas didasarkan pada kemampuan difusi dari antibakteri dalam lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan mikroba uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa ada atau tidaknya zona hambatan yang akan terbentuk disekeliling zat antimikroba pada waktu tertentu masa inkubasi (Prayoga, 2013).

Pada penelitian ini menggunakan metode difusi sumuran berdiameter ± 8 mm, cara ini merupakan yang paling sering digunakan untuk menentukan kepekaan bakteri terhadap berbagai macam obat. Pada lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji dibuat suatu lubang yang selanjutnya diisi dengan zat antimikroba uji. Setelah diinkubasi pada waktu tertentu dengan suhu tertentu yang sesuai dengan kondisi optimum dari mikroba uji. Pada umumnya hasil yang didapatkan bisa diamati setelah inkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37⁰C. Hasil pengamatan yang diperoleh ada atau tidaknya daerah bening yang berbentuk disekeliling lubang sumuran yang menunjukkan zona hambat pada pertumbuhan bakteri.

Metode sumuran memiliki kelebihan dan kekurangan. Kelebihannya adalah mudah dilakukan tidak memerlukan peralatan khusus dan relatif murah, sedangkan kelemahannya adalah ukuran zona bening yang terbentuk tergantung oleh kondisi inkubasi, ketebalan media. (Prayoga, 2013). Penggunaan metode sumuran dalam penelitian ini berdasarkan bakteri yang digunakan merupakan *E. coli* yang bersifat anaerob fakultatif atau bakteri yang dapat bertahan hidup

dengan menggunakan oksigen tetapi juga dapat hidup tanpa oksigen sehingga bakteri tersebut dapat tumbuh di permukaan maupun di dalam media sehingga penggunaan metode sumuran tidak hanya menghambat di permukaan media saja tetapi sampai ke dalam media agar juga.

Kekuatan suatu zat antimikroba bisa diklasifikasikan pada label seperti berikut:

Tabel 2.3 Frekuensi Diameter Zona Bening

Kekuatan daya antibakteri	Zona hambat
> 20 mm	Sangat Kuat
10 - 20 mm	Kuat
5 - 10mm	Sedang
< 5mm	Lemah

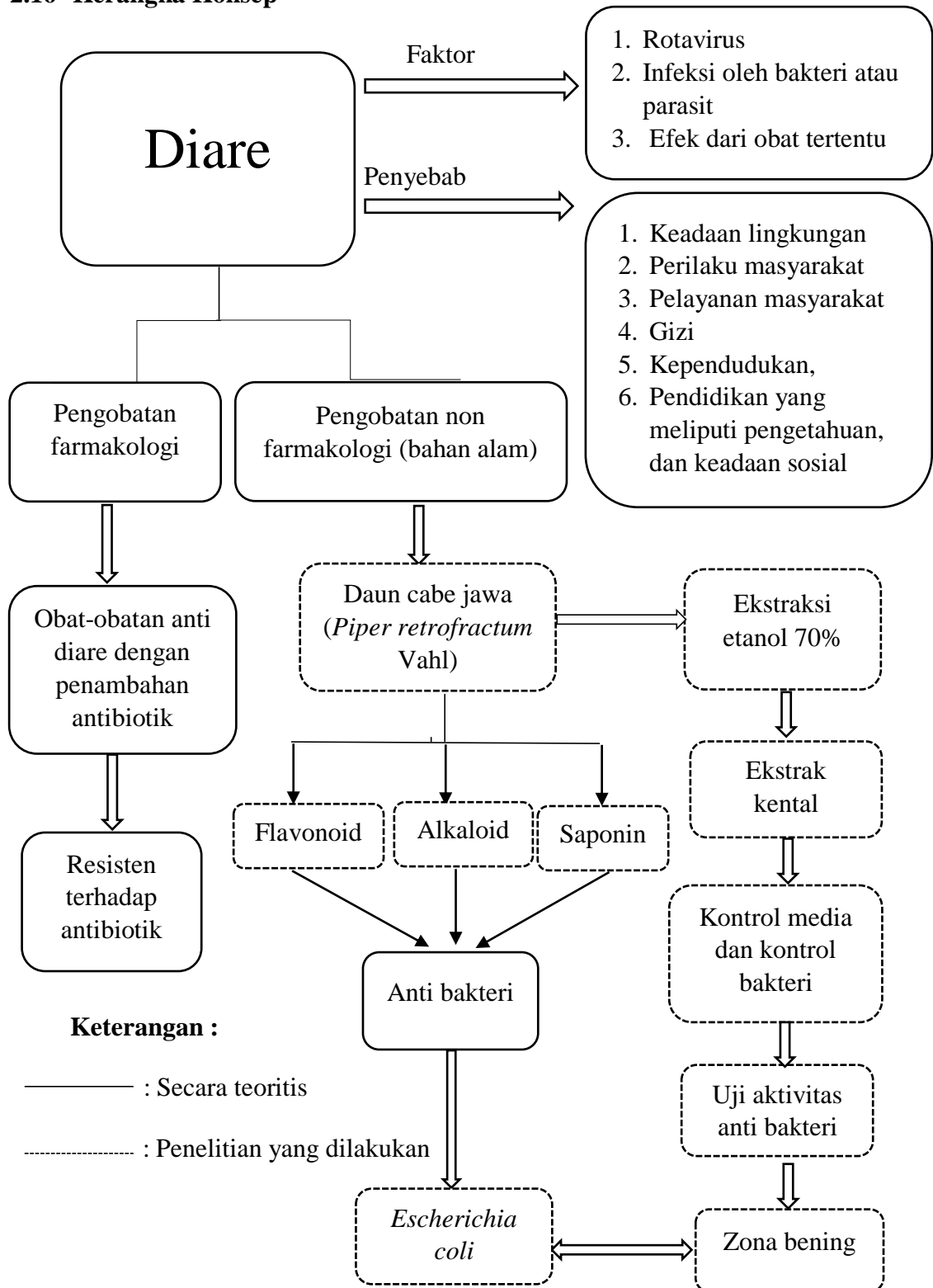
(Moerfiah, 2011)

2.15 Kerangka Teori

Diare merupakan penyakit pada saluran pencernaan yang disebabkan oleh keadaan lingkungan, perilaku masyarakat, keadaan sosial ekonomi. Adapun faktor yang mempengaruhi sebagian besar karena bakteri. Dari beberapa faktor dan penyebab tersebut maka terdapat pengobatan secara farmakologi dengan obat-obatan diare dan penambahan antibiotik. Penggunaan antibiotik yang kurang dosis, pilihan antibiotik yang tidak mencapai tempat infeksi, dosis atau rute pemberian yang salah, pasien yang tidak mematuhi pengobatan sehingga terapi tidak berhasil dan menyebabkan bakteri resisten terhadap antibiotik. Sehingga pengobatan non farmakologi yaitu dengan memanfaatkan bahan alam, daun cabe jawa yang mempunyai kandungan flavonoid, alkaloid dan saponin yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* penyebab diare dengan proses mulai dari ekstraksi etanol 70% daun cabe jawa sehingga mendapatkan ekstrak kental

dilanjutkan dengan pembuatan kontrol media dan kontrol bakteri dan diuji daya anti bakterinya dengan melihat zona beningnya.

2.16 Kerangka Konsep



Gambar 2.8 Bagan Kerangka Konsep

2.17 Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah :

H₀ : Tidak adanya zona bening pada aktivitas anti bakteri ekstrak etanol daun cabe jawa dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100% terhadap *Escherichia coli*.

H₁ : Adanya zona bening pada aktivitas anti bakteri ekstrak etanol daun cabe jawa dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100% terhadap *Escherichia coli*.