

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Wangon (*Olax scandens* Roxb.)

1. Sistematika tumbuhan

Menurut Malaysia Biodiversity Information System, taksonomi tanaman wangon adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Ordo	: Santalales
Family	: Olacaceae
Genus	: <i>Olax</i>
Spesies	: <i>Olax scandens</i>
Sinonim	: <i>Olax psittacorum</i> (Willd) Vahl. (<i>World Plants</i>)



Gambar 1. Daun wangon (Udayakumar & Parthasarathy 2010)

2. Nama lain & distribusi tanaman

Tanaman wangon (*Olax scandens* Roxb.) memiliki nama lain yaitu *Olax Psittacorum* (Wild.) Vahl. (*World Plants*). Di Indonesia sendiri tanaman wangon yang berada di Jawa biasa dikenal dengan nama wangon, sedangkan di Madura biasa disebut dengan nama puluur, di Malaysia dikenal dengan nama meribut dan kodak acing, di Thailand tanaman wangon dikenal dengan sebutan nama katokrok, phakrut dan nangchom, di Laos tanaman wangon dikenal dengan nama

'ii thòk, kh'ôôy sièk, di Vietnam tanaman wangon dikenal dengan namadurong dàu leo (*Plant Resources of South-East Asia*).

3. Morfologi tanaman

Tanaman wangon (*Olax scandens* Roxb.) berasal dari familia *Olacaceae* terdiri dari 250 spesies tanaman yang tersebar luas di daerah tropis dan subtropis. Tumbuhan wangon dapat ditemukan di India, Burma, Malaysia, Vietnam, China dan Indonesia. Tumbuhan wangon (*Olax scandens* Roxb.) pohonnya memiliki ketinggian hingga 15 meter. Tumbuhan wangon termasuk tumbuhan liana (Swamynathan *et al* 2011) merupakan tumbuhan yang berakar pada tanah, tetapi batangnya membutuhkan penopang dari tumbuhan lain agar dapat menjulang dan daunnya memperoleh cahaya matahari maksimum (Indriyanto 2008). Batangnya berbentuk silinder, halus dan tidak berbulu. Daunnya sederhana, tersusun spiral dan tanpa stipula. Tangkai daunnya memiliki panjang 6 mm, berkerut. Pelepah daun membentuk cekungan ke atas dan menonjol ke bawah menunjukkan 4-8 pasang saraf sekunder. Susunan bunganya majemuk juga biasa disebut dengan istilah perbungaan atau (*inflorescence*), perbungaan sederhana tak terbatas yang biasa disebut dengan *racemose*, dan terdapat pada ketiak daun. Bunga-bunga yang dimiliki bentuknya kecil, berbau harum, berwarna putih, dan panjangnya 6 mm. Buah yang dihasilkan berbentuk bundar, dan juga memiliki biji dengan diameter 8 mm yang berada di kelopak bunga (Wuart 2006).

4. Kandungan kimia

Berdasarkan penelitian yang telah ada tanaman wangon (*Olax scandens* Roxb.) memiliki sejumlah kandungan kimia yaitu fenolik, karbohidrat, flavonoid, glikosida, protein dan asam amino, saponin, steroid, terpenoid, dan tanin (Majumder *et al* 2015). Nilai gizi dari daun *Olax scandens* (Roxb.) memiliki sumber karbohidrat sebesar 62,73% b/b, protein sebesar 12,89% b/b, lemak 3,77% b/b untuk setiap 100 gram serbuk daun wangon (*Olax scandens* Roxb.). Daun wangon juga memiliki kandungan mineral diantaranya kalsium (2,52%), magnesium (0,77%), fosfor (0,15%) dan seng (27,14 mg/kg) (Naik *et al* 2015).

4.1 Flavonoid. Flavonoid diperkirakan 2% dari seluruh karbon yang difotosintesis oleh tumbuhan diubah menjadi flavonoid atau senyawa yang

berikatan erat dengannya seperti tanin dan antosianin. Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam terbesar. Flavonoid juga merupakan senyawa polar maka umumnya senyawa flavonoid larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, dan air (Voight 1995). Flavonoid yang terdapat dalam tumbuhan terikat pada gula sebagai glikosida dan aglikon. Senyawa dari golongan flavonoid dari golongan beberapa bahan alam dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri dengan mekanisme kerja mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel (Harborne 1987).

4.2 Saponin. Saponin merupakan glikosida yang banyak terdapat pada tanaman yang memiliki ciri yaitu rasa yang pahit, berbusa dan bersifat hemolisis terdapat pada sel darah merah. Senyawa saponin bekerja dengan mengganggu stabilitas membran sel bakteri sehingga menyebabkan sel bakterilisis, sehingga mekanisme kerja saponin termasuk dalam kelompok antibakteri yang mengganggu permeabilitas membran sel bakteri yang mengakibatkan kerusakan membran sel dan menyebabkan keluarnya berbagai komponen yang penting dari dalam sel bakteri yaitu protein, asam nukleat dan nukleotida (Ganiswara 1995).

4.3 Tanin. Tanin merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman dan disintesis oleh tanaman. Tanin tergolong senyawa polifenol yang karakteristiknya dapat membentuk senyawa kompleks. Tanin larut dalam pelarut organik polar namun tidak larut dalam pelarut organik nonpolar (Jayanegara & Sofyan 2008).

4.4 Steroid. Mekanisme kerja steroid sebagai antibakteri berhubungan dengan membran lipid dan sensitivitas terhadap komponen steroid yang dapat menyebabkan kebocoran pada liposom (Madduluri *et al* 2013). Steroid dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid sel yang bersifat permeabel terhadap senyawa-senyawa lipofilik sehingga menyebabkan integritas membran menurun serta morfologi membran sel berubah yang menyebabkan sel rapuh dan lisis (Ahmed 2005).

4.5 Fenolik. Mekanisme kerja senyawa fenolik dalam membunuh mikroorganisme adalah dengan cara mendenaturasi protein sel. Ikatan hidrogen yang terjadi antara fenol dengan protein dapat menyebabkan struktur protein

menjadi rusak. Hal ini disebabkan karena ikatan hidrogen tersebut yang akan mempengaruhi permeabilitas dinding sel dan sitoplasma dimana keduanya tersusun atas protein. Permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma terganggu, yang akan menyebabkan ketidakseimbangan makromolekul dan ion dalam sel tersebut sehingga selnya menjadi lisis (Pelczar *et al* 1988).

5. Khasiat tanaman

Tanaman wangon secara tradisional berkhasiat untuk pengobatan dan digunakan juga untuk sayur dalam mengobati sembelit (Sinha & Lakra 2005). Penelitian yang telah ada menunjukkan bahwa daun wangon berpotensi sebagai antioksidan (Naik *et al* 2015). Rebusan kulit batang tanaman wangon digunakan untuk menyembuhkan demam dan batuk (Duraipandiyan *et al* 2006). Akar tanaman wangon berpotensi sebagai antimikroba (Owk & Lagudu 2016). Kulit batang dari tanaman wangon memiliki khasiat sebagai antipiretik (Naik *et al* 2015). Sinonim dari tanaman wangon yaitu *Olax psittacorum* pada bagian daun dan batangnya memiliki aktivitas antioksidan dan antimikroba (Majumder *et al* 2015). Penelitian sebelumnya juga menyebutkan bahwa rebusan batang dari tanaman wangon digunakan untuk pengobatan penyakit ginjal (Swamynathan & Ramamoorthy 2011). Buah dari tanaman wangon menunjukkan bahwa konstitusi kimianya dapat menjadi sumber potensial obat dan baik untuk kesehatan vital (Prabhakar & Kamalakar 2014).

6. Perkembangan penelitian antibakteri

Tanaman wangon pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Duraipandiyan (2006), ekstrak daun wangon dengan menggunakan metode perkolasi dingin dengan pelarut *n*-heksana dan metanol menunjukkan adanya aktivitas antibakteri. Bakteri yang diuji pada pelarut *n*-heksana antara lain, *Enterococcus faecalis* pada konsentrasi 2,5 mg/disk daya hambatnya sebesar 10 mm, untuk konsentrasi 5 mg/disk daya hambatnya 13 mm, *Pseudomonas aeruginosa* pada konsentrasi 2,5 mg/disk daya hambatnya sebesar 9 mm, sedangkan pada konsentrasi 5 mg/disk daya hambatnya 12 mm, pada bakteri *Klebsiella pneumoniae* pada konsentrasi 5 mg/disk daya hambatnya 9 mm dan untuk bakteri *Bacillus subtilis* pada konsentrasi 5 mg/disk daya hambatnya 8 mm.

Penelitian yang dilakukan oleh Majumder (2015) yang menggunakan nama lain daun wangon yaitu *Olax psittacorum* dimana tanaman ini mempunyai aktivitas sebagai antioksidan dan antibakteri yang dipakai adalah bagian batang dan juga daunnya. Konsentrasi 25mg/ml bakteri *Bacillus strearothermophilus* (daun 5,33 mm, batang 8,33 mm), *Staphylococcus aureus* (daun 5,67 mm, batang 9 mm), *Klebsiella pneumoniae* (daun 7 mm, batang 11 mm), *Escherichia coli* (daun 3,67 mm, batang 0 mm), *Pseudomonas aeruginosa* (daun 6,33 mm, batang 11,33 mm).

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Menurut Departemen Kesehatan RI (2008) simplisia adalah bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan. Kecuali jika dinyatakan lain suhu pengeringan simplisia tidak lebih dari 60°C. Secara umum pembuatan simplisia melalui beberapa tahapan yaitu pengumpulan bahan baku, sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering, pengepakan, penyimpanan, dan pemeriksaan mutu (Depkes RI 1985).

2. Pengeringan simplisia

Pembuatan simplisia dengan cara ini pengeringannya dilakukan dengan cepat tetapi pada suhu yang tidak terlalu tinggi. Pengeringan yang dilakukan dengan waktu lama akan mengakibatkan simplisia yang diperoleh ditumbuhi oleh kapang. Pengeringan yang dilakukan pada suhu terlalu tinggi akan mengakibatkan perubahan kimia pada kandungan senyawa aktifnya. Mencegah terjadinya hal tersebut untuk bahan simplisia yang memerlukan perajangan perlu diatur waktu perajangannya, sehingga diperoleh tebal irisan yang pada pengeringan tidak mengalami kerusakan (Depkes RI 1985).

Tujuan pengeringan ialah untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Dengan mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik akan mencegah penurunan mutu atau perusakan simplisia. Air yang masih tersisa dalam simplisia pada kadar tertentu dapat menjadi media pertumbuhan kapang dan jasad renik

lainnya. Enzim tertentu di dalam sel masih dapat bekerja menguraikan senyawa aktif sesaat setelah sel mati dan selama bahan simplisia tersebut masih mengandung kadar air tertentu. Penundaan proses pengeringan untuk bahan simplisia ini akan menurunkan kadar senyawa aktif tersebut dan berarti menurunkan mutu simplisia. Bahan simplisia meskipun banyak yang masih dapat ditunda pengeringannya, akan tetapi prinsip pengeringan sebaiknya dilakukan segera setelah pengumpulan kecuali kalau dikehendaki lain seperti diperlukannya tahap fermentasi seperti di atas. Pengeringan simplisia dilakukan dengan menggunakan sinar matahari atau menggunakan suatu alat pengering. Hal-hal yang perlu diperhatikan selama proses pengeringan adalah suhu pengeringan, kelembaban udara, aliran udara, waktu pengeringan dan luas permukaan bahan. Suhu pengeringan tergantung kepada bahan simplisia dan cara pengeringannya. Bahan simplisia dapat dikeringkan pada suhu 30°C sampai 90°C, tetapi suhu yang terbaik adalah tidak melebihi 60°C. Bahan simplisia yang mengandung senyawa aktif yang tidak tahan panas atau mudah menguap harus dikeringkan pada suhu serendah mungkin, misalnya 30°C sampai 45°C atau dengan cara pengeringan vakum yaitu dengan mengurangi tekanan udara di dalam ruang atau lemari pengeringan, sehingga tekanan kira-kira 5 mmHg. Kelembaban juga tergantung pada bahan simplisia, cara pengeringan, dan tahap-tahap selama pengeringan. Kelembaban akan menurun selama berlangsungnya proses pengeringan. Berbagai cara pengeringan telah dikenal dan digunakan orang (Depkes RI 1985).

3. Pembuatan serbuk

Pembuatan serbuk simplisia ini bertujuan untuk meningkatkan luas permukaan dari bahan sehingga senyawa kimia yang ada didalam tanaman dapat ditarik secara optimal. Pembuatan serbuk simplisia dilakukan dengan cara mengumpulkan bahan baku dan menentukan kualitas bahan baku. Bahan baku yang dipilih adalah yang masih segar, lalu dicuci dengan air yang mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada bahan baku. Daun yang telah kering kemudian dihaluskan dengan menggunakan alat penggiling dan diayak. Pemilihan nomer ayakan tercantum dalam Kemenkes (2011) dimana untuk mendapatkan serbuk yang agak kasar biasanya menggunakan mess nomer 40, setelah diayak

serbuk kemudian ditimbang dan dilakukan perhitungan bobot terhadap bobot basah tanaman wangon.

C. Ekstraksi

1. Tinjauan ekstrak

Ekstrak adalah sediaan pekat atau cair yang diperoleh dengan cara mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani dengan menggunakan pelarut yang sesuai Kemenkes (2011), kemudian semua atau hampir seluruh pelarut diuapkan dan serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI 2000).

Ekstraksi adalah proses pemisahan zat dari campurannya atau penarikan kandungan kimia terlarut yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair (Depkes RI 2000). Tujuan utama dari ekstraksi adalah memisahkan dan mendapatkan sebanyak mungkin zat-zat yang memiliki khasiat pengobatan dari zat yang tidak berguna, agar lebih mudah disimpan dan dipergunakan dibandingkan simplisia asal dan tujuan pengobatan lebih terjamin (Syamsuni 2007).

2. Metode ekstraksi

Maserasi (*macerate*) artinya mengairi. Maserasi merupakan cara ekstraksi yang sederhana, bahan simplisia dapat habis sesuai dengan syarat Farmakope (biasanya terpotong atau bersifat serbuk kasar) yang disatukan dengan bahan pengestraksi. Mencegah reaksi katalis cahaya yang mengakibatkan perubahan warna maka campuran tersebut harus disimpan terlindungi dari cahaya matahari. Selama penyimpanan dapat dikocok kembali, waktu maserasi sekitar 4 sampai 5 hari. Proses maserasi selesai apabila terjadi keseimbangan antara bahan ekstraksi dalam sel dengan cairan pengestraksi tercapai (Ansel 1989). Hasil penyarian dengan maserasi perlu didiamkan selama waktu tertentu dengan tujuan untuk mengendapkan zat-zat yang tidak diperlukan tetapi ikut terlarut seperti malam (Depkes RI 1986).

Keuntungan maserasi adalah peralatan dan cara pengerjaan yang digunakan sederhana dan mudah, selain itu dapat digunakan untuk senyawa yang

tidak tahan panas, sedangkan kerugian maserasi adalah pengerjaannya yang tergolong lama dan penyariannya yang kurang sempurna (Depkes RI 1986).

3. Fraksinasi

Ekstrak awal merupakan campuran dari berbagai senyawa. Ekstrak awal sulit dipisahkan melalui teknik pemisahan tunggal untuk mengisolasi senyawa tunggal. Ekstrak awal perlu dipisahkan ke dalam fraksi yang memiliki polaritas dan ukuran molekul yang sama. Fraksinasi merupakan suatu proses penarikan senyawa tertentu dari campuran kompleks yang terdapat didalam suatu ekstrak dengan menggunakan beberapa pelarut yang tidak saling campur untuk menyederhanakan keanekaragaman senyawa. Pelarut yang umum digunakan untuk proses fraksinasi adalah *n*-heksana, etil asetat, dan air karena berbagai pelarut ini memiliki tingkat kepolaran yang berbeda-beda (Sarker *et al* 2006).

4. Pelarut

Pelarut adalah cairan yang digunakan untuk melarutkan zat lain. Pemilihan pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi sangat berpengaruh terhadap penentuan senyawa aktif dari tanaman obat. Sifat pelarut yang baik untuk ekstraksi adalah toksisitas dari pelarut yang rendah, mudah menguap pada suhu yang rendah, juga dapat mengekstraksi komponen senyawa dengan cepat, dapat mengawetkan dan tidak menyebabkan ekstrak terdisosiasi. Pemilihan pelarut juga tergantung dari senyawa yang ditargetkan. Dalam hal ekstrak total, maka cairan pelarut yang dipilih adalah pelarut yang dapat melarutkan hampir semua metabolit sekunder yang terkandung di dalam tumbuhan. Faktor utama untuk pertimbangan pada pemilihan pelarut adalah selektivitas, ekonomis, keamanan, dan ramah lingkungan (Depkes RI 2000). Pelarut yang digunakan untuk proses ekstraksi adalah

4.1 Etanol. Etanol dipilih sebagai pelarut karena etanol lebih selektif, dengan konsentrasi di atas 20% kuman sulit tumbuh dalam etanol, bersifat netral dan tidak toksik, absorbsinya yang baik dapat bercampur dengan air pada berbagai perbandingan. Etanol lebih mudah menembus membran sel dalam mengekstrak bahan intraseluler dari bahan tanaman (Tiwari *et al* 2011). Etanol 96% memiliki titik didih sebesar 78,5%. Etanol juga merupakan pelarut ideal yang sering

digunakan dan merupakan pelarut yang mengekstraksi senyawa yang memiliki berat molekul rendah seperti alkaloid, saponin, dan flavonoid (Arifianti *et al* 2014). Etanol digunakan sebagai pelarut karena dapat melarutkan alkaloid basa, antrakuinon, damar, flavonoid, glikosida, klorofil, kumarin, kurkumin, minyak menguap, dan steroid, sedangkan lemak, malam, saponin, dan tanin hanya sedikit larut. Etanol juga lebih selektif, kuman dan kapang sulit tumbuh pada etanol yang lebih dari 20%, netral, tidak beracun, absorpsinya baik, dapat bercampur dengan air dengan segala perbandingan, dan diperlukan panas untuk pemekatan lebih sedikit (Depkes RI 1986).

4.2 *n*-Heksana. *n*-heksana merupakan pelarut nonpolar berupa cairan yang jernih, tidak berwarna, dapat bercampur dengan etanol, mudah menguap, mudah terbakar, dan mempunyai bau seperti eter lemah atau bau seperti petroleum, praktis tidak larut dalam air, larut dalam etanol. *n*-heksana dapat melarutkan senyawa-senyawa nonpolar, misalnya golongan dengan kandungan kimia minyak atsiri, lemak, dan asam lemak tinggi, steroid dan triterpenoid dan karotenoid (Tiwari *et al* 2011).

4.3 Etil asetat. Etil asetat merupakan pelarut semi polar, mudah menguap, dan mudah terbakar, maka penyimpanannya dalam wadah yang tertutup dan terlindung dari panas. Etil asetat merupakan cairan yang jernih tidak berwarna dan memiliki bau khas yang seperti buah. Senyawa yang dapat larut dalam pelarut etil asetat adalah flavonoid, alkaloid, senyawa fenolik seperti fenol-fenol, fenol propanoid, asam fenolat, antrakuinon dan xanton (Harborne 1987).

4.4 Air. Air dipilih sebagai pelarut karena harganya yang murah, mudah didapat, stabil, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, tidak beracun dan alamiah. Air merupakan suatu pelarut universal yang dapat digunakan untuk ekstrak tanaman produk aktivitas antibakteri. Air juga bisa melarutkan gom, pati gula, protein, enzim, lendir, lilin, lemak, peptida, minyak menguap, garam alkaloid, asam organik, dan zat warna (Depkes RI 1986).

D. Diare

Diare menurut (WHO) diartikan sebagai kejadian buang air besar (BAB) dengan konsistensi lebih cair dari biasanya dengan frekuensi tiga kali atau lebih dari 1 hari. Diare merupakan salah satu dari penyebab terjadinya kematian karena penderita mengalami dehidrasi. Diare juga dapat disebabkan karena enterotoksin atau yang dihasilkan oleh bakteri *Escherichia coli* melalui bahan makanan dan minuman yang telah terinfeksi oleh banyak kuman, menjadi invasif, dan menyerbu ke dalam membran mukosa (Tjay & Rahardja 2007). Mekanisme yang mengganggu keseimbangan air dan elektrolit yang mengakibatkan diare terbagi atas 4 mekanisme yaitu perubahan transpor ion aktif yang disebabkan oleh penurunan absorpsi natrium atau peningkatan sekresi klorida, perubahan motilitas usus, peningkatan osmolaritas luminal, dan peningkatan tekanan hidrostatis jaringan (Sukandar *et al* 2013).

Diare dikelompokkan menjadi akut dan kronis. Diare akut adalah diare yang terjadi secara mendadak yang sebelumnya sehat dan berlangsung kurang dari 14 hari (Depkes 2011). Patogenesis diare akut oleh infeksi digambarkan dengan mikroorganisme ke dalam saluran pencernaan yang berkembangbiaknya setelah hasil dari melewati asam lambung. Terbentuknya toksin (endotoksin) oleh mikroorganisme dan adanya rangsangan pada mukosa usus menyebabkan terjadinya hiperperistaltik dan sekresi cairan usus yang mengakibatkan terjadinya diare (Suraatmaja 2007).

Diare kronik merupakan diare yang berlanjut hingga lebih dari 14 hari dengan kehilangan berat badan atau berat badan yang tidak bertambah selama masa diare (Depkes 2011). Patogenesis diare kronik lebih rumit karena terdapat beberapa faktor yang satu sama lain saling mempengaruhi antara lain: infeksi bakteri misalnya ETEC (Enterotoksigenik *Escherichia coli*) yang sudah resisten terhadap obat dan juga pertumbuhan bakteri berlipat ganda (*over growth*) dari bakteri nonpatogen seperti *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella sp*; infeksi parasit; kekurangan kalori protein (KKP) dan gangguan imunologik (Suraatmaja 2007).

Bakteri yang menyebabkan diare ada bermacam-macam diantaranya *Salmonella typhi*, *Campylobacter*, *Shigella*, *Escherichia coli*, virus *Rotavirus*, *Norovirus*, dan parasit *Cryptosporidium*, *Giardia*, racun bakteri dari *Staphylococcus*, dan beberapa senyawa seperti laksatif, antasida yang mengandung magnesium, antineoplastik, prostaglandin, dan obat antiinflamasi non steroid (Sukandar *et al* 2013). Infeksi oleh *Escherichia coli* dapat diobati dengan melihat acuan pada guideline *The Treatment of Diarrhoea: a Manual for Physicians and Other Senior Health Workers* yaitu dengan menggunakan kotrimoksazol sebagai lini pertama dan ciprofloxacin sebagai lini kedua (WHO 2005).

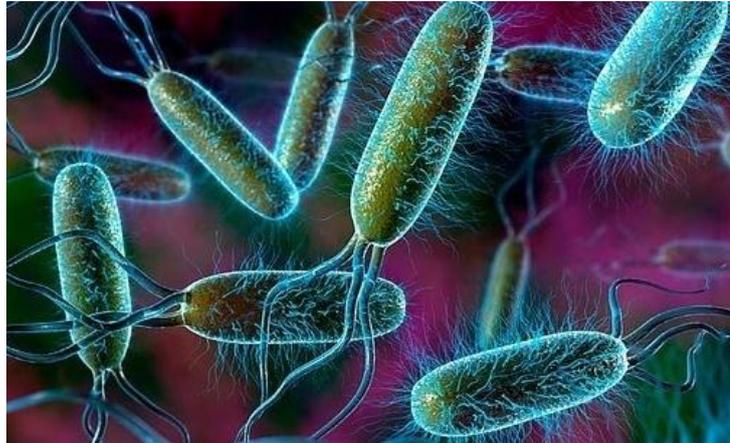
E. *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan bakteri flora normal di dalam saluran cerna yang dapat menyebabkan infeksi atau diare sedang hingga berat pada saluran pencernaan manusia. Bakteri ini termasuk ke dalam famili *Enterobacteriaceae* yang bisa hidup di dalam usus besar manusia maupun hewan, dalam air dan juga tanah (Maksum 2002). Kebanyakan pasien yang telah terinfeksi bakteri *Escherichia coli* mengalami suatu gejala seperti mual, diare dan kejang abdomen. Lama penyakit ini rata-rata diderita selama 5 hari (Procop & Cockerill 2001).

1. Klasifikasi *Escherichia coli*

Menurut Jawetz *et al* (2012) *Escherichia coli* diklasifikasikan sebagai berikut:

Divisi	: Protophyta
Sub Divisi	: Schizomycetea
Kelas	: Schizomycetes
Ordo	: Eubacteriales
Familia	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>Escherichia coli</i>



Gambar 2. Bakteri *Escherichia coli*(Sumber: claimscouncil.org)

2. Morfologi dan identifikasi *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan bakteri Gram negatif, berbentuk batang, berderet, dan merupakan flora yang paling banyak berada di usus, bergerak dengan flagel. *Escherichia coli* bisa menghasilkan enterotoksin yang tidak tahan panas, bisa meningkatkan sekresi air dan klorida dalam lumen usus dan, bisa menyebabkan hipermotilitas yang akan menyebabkan penyakit diare ringan yang terjadi pada anak-anak (Jawetz *et al* 1986). *Escherichia coli* bisa menjadi patogen apabila mencapai jaringan di luar saluran kemih, saluran empedu, paru-paru, atau selaput otak yang bisa menyebabkan peradangan pada tempat tersebut (Bonang & Koeswardono 1982).

Escherichia coli dapat memecahkan karbohidrat dengan membentuk suatu asam dan juga gas yang tidak menyebabkan hemolisa pada lempeng *agar* dari darah. *Agar MacConkey* menunjukkan produksi asam sebagai penggunaan laktosa dari medium. Pada biakan *Endo Agar* akan terbentuk koloni yang berwarna merah dengan kilap logam yang sifatnya permanen (Volk & Wheeler 1988).

Escherichia coli sebagian besar infeksiya ditularkan melalui makanan yang tidak dimasak dan juga daging yang telah terkontaminasi. Penyakit infeksi ini penularannya terjadi melalui kontak langsung dan biasanya terjadi melalui tempat yang sanitasi dan lingkungan yang kurang bersih (Jawetz *et al* 2012).

3. Fisiologi *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan bakteri uji yang tumbuh baik dengan temperatur antara 8°C-48°C dan untuk temperatur optimum sebesar 37°C. *Escherichia coli* menghasilkan kolisin, yang bisa melindungi saluran pencernaan dari bakteri usus yang bersifat patogenik, dan digunakan sebagai indikator untuk menguji adanya pencemaran air karena tinja. *Escherichia coli* mempunyai sifatnya lateral yaitu peritrik dimana flagel tersebar dari ujung-ujung hingga ke sisi. *Escherichia coli* rata-rata pergerakannya adalah kira-kira 25 mm/detik atau 10 cm/jam. *Escherichia coli* memiliki anggota tubuh yang berfungsi untuk melekat, bergerak, dan konjugasi yang biasanya disebut dengan flagel. Bakteri *Escherichia coli* berada pada medium yang mengandung sumber karbon maka akan mengubah derajat asam (pH) dalam medium menjadi asam dan nantinya akan membentuk gas sebagai hasil dari proses terurainya glukosa menjadi senyawa lain (Melliawati 2009).

4. Toksin *Escherichia coli*

Toksin pada *Escherichia coli* dibagi menjadi empat bagian yaitu:

4.1 Enterotoksigenik *Escherichia coli* (ETEC). ETEC merupakan *Escherichia coli* yang memproduksi toksin LT (termolabil) dan ST (termotabil). Toksin-toksin ini bekerja pada eritrosit untuk menstimulasi sekresi cairan, sehingga menyebabkan terjadinya penyakit diare (Gillespie & Bamford 2008).

4.2 Enteropatogenik *Escherichia coli* (EPEC). EPEC merupakan *Escherichia coli* yang pertama kali dikenali sebagai patogen primer yang menyebabkan wabah penyakit diare di tempat perawatan anak. Penempelan berhubungan dengan hilangnya mikrovili dan disebabkan oleh pengaturan ulang dari aktin sel inang (Gillespie & Bamford 2008).

4.3 Enteroinvasif *Escherichia coli* (EIEC). EIEC merupakan *Escherichia coli* yang memiliki kemampuan untuk memasuki epitel usus dan dapat mengakibatkan penyakit diare seperti disentri yang disebabkan oleh bakteri *Shigella Sp.* Bakteri ini dapat menginvasi sel mukosa, dan menimbulkan kerusakan sel serta terlepasnya lapisan mukosa (Gillespie & Bamford 2008).

4.4 Enterohemoragi *Escherichia coli* (EHEC). EHEC memproduksi verotoksik yang bekerja pada sel vero *in vitro*. Diare berdarah yang disebabkan oleh bakteri ini dapat diperparah dengan adanya hemolisis dan gagal ginjal akut. Organisme ini komersial pada sapi dan ditransmisikan ke manusia melalui buruknya kebersihan di tempat pemotongan dan tempat produksi makanan (Gillespie & Bamford 2008).

5. Patogenesis

Escherichia coli praktis terdapat di dalam saluran pencernaan hewan dan manusia karena secara alamiah bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri salah satu penghuni tubuh. *Escherichia coli* penyebarannya dengan cara kontak langsung (bersentuhan, berjabat tangan), kemudian diteruskan dengan melalui mulut. Penyebaran secara pasif dapat terjadi dengan adanya makanan dan minuman (Melliawati 2009). Gejala umum adanya infeksi bakteri *Escherichia coli* dikenali dengan diare berdarah, mual-mual, nyeri abdomen, dan kram perut. Infeksi oleh adanya *Escherichia coli* pada bayi, anak-anak, lanjut usia, pada seseorang dengan sistem kekebalan tubuh yang rendah (penderita HIV/AIDS), dapat menimbulkan komplikasi yang menyebabkan kematian (Kusumaningsih 2010).

6. Pengobatan diare

Pemberian antibiotik untuk penyakit diare menurut WHO (2005) disebabkan oleh infeksi bakteri *Escherichia coli* pada acuan guideline *The Treatment of Diarrhoea: a Manual for Physicians and Other Senior Health Workers* yaitu dengan menggunakan kotrimoksazol sebagai lini pertama. Pengobatan diare yang tidak disebabkan oleh infeksi (tidak ada panas dan simptom sistemik) dapat diberikan terapi simptomatik seperti terapi dehidrasi, pemberian loperamid, absorben atau pemberian oralit yang sering disebut dengan terapi suportif atau diet. Diare yang disebabkan oleh infeksi (timbul panas dan simptomatik sistemik) dapat diberikan antibiotik yang sesuai (Priyanto & Lestari 2009).

F. Antibakteri

1. Definisi antibakteri

Antibakteri adalah zat atau senyawa yang digunakan untuk membasmi atau menghambat pertumbuhan bakteri, terutama untuk bakteri yang merugikan bagi manusia. Senyawa antibakteri harus memiliki sifat toksisitas yang selektif yang artinya tidak berbahaya bagi inangnya tetapi berbahaya bagi parasit. Aktivitas antibakteri dibagi menjadi dua macam yaitu aktivitas bakterisidal (dapat membunuh patogen dalam kisaran yang luas) dan aktivitas bakteriostatik (hanya menghambat pertumbuhan tetapi tidak membunuh patogen). Antibakteri yang memiliki spektrum luas, artinya efektif digunakan untuk banyak spesies, baik basil, spiril, maupun kokus. Antibakteri yang memiliki spektrum sempit, artinya antibakteri ini hanya efektif untuk beberapa spesies tertentu saja (Waluyo 2004).

2. Mekanisme antibakteri

Mekanisme kerja dari senyawa antibakteri diantaranya yaitu menghambat metabolisme sel bakteri, menghambat sintesis dinding sel bakteri, mengganggu permeabilitas membran sel bakteri, menghambat sintesis protein sel bakteri, menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri (Jawetz *et al* 1986).

2.1 Menghambat sintesis dinding sel bakteri. Dinding sel bakteri terdiri dari polipeptida yaitu suatu kompleks polimer mukopeptida (glikopeptida). Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukan atau merusak dinding sel. Kerusakan dinding sel bakteri akan menyebabkan terjadinya lisis (Jawetz *et al* 2007). Contoh antibiotik yang bekerja dengan cara menghambat sintesis dinding sel bakteri adalah penisilin, sefalosporin, karbapenem, monobaktam, vankomisin, dan isoniazid (Pratiwi 2008).

2.2 Menghambat fungsi membran sel bakteri. Membran sel berguna sebagai penghalang yang selektif dan menjalankan fungsi transport aktif, meloloskan beberapa zat yang terlarut dan menahan zat-zat yang terlarut lainnya. Kerusakan membran sel menyebabkan keluarnya berbagai komponen dari dalam sel bakteri yaitu makromolekul dan ion sehingga terjadi kematian bakteri. Contoh antibiotik yang bekerja dengan cara menghambat fungsi membran sel bakteri

adalah antibiotik polimiksin, asam nalidiksik, daptomisin, valinomisin, amfoterisin, dan imidazol (Jawetz *et al* 2007).

2.3 Menghambat sintesis protein sel bakteri. Bakteri perlu mensintesis berbagai protein untuk kelangsungan hidupnya. Sintesis protein berlangsung di ribosom dengan bantuan mRNA dan tRNA. Penghambatan sintesis protein bakteri menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca oleh tRNA pada waktu sintesis protein, akibatnya akan terbentuk protein yang abnormal dan non fungsional bagi sel bakteri. Contoh antibakteri yang bekerja dengan cara menghambat sintesis protein sel bakteri adalah eritromisin, linkomisin, tetrasiklin, dan kloramfenikol (Jawetz *et al* 2007).

2.4 Menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri (DNA/RNA). DNA, RNA, dan protein memegang peranan penting dalam kehidupan normal sel. Senyawa yang bersifat antibakteri dapat mengganggu pembentukan asam nukleat sehingga dapat menyebabkan transfer informasi genetik terganggu, hal ini disebabkan karena senyawa antibakteri tersebut dapat menghambat aktivitas enzim RNA polimerase dan DNA girase yang selanjutnya akan merusak materi genetik yang dapat mengganggu proses pembelahan sel pada pembiakan. Contoh antibiotik yang menghambat sintesis asam nukleat (DNA/RNA) adalah rifampisin dan golongan kuinolon (Pratiwi 2008).

2.5 Menghambat metabolisme sel bakteri. Bakteri membutuhkan asam folat untuk hidup, sehingga harus mensintesis sendiri asam folat dari asam para amino benzoat (PABA) untuk memenuhi kebutuhan hidupnya. Senyawa antibakteri bersaing dengan PABA untuk diikutsertakan dalam pembentukan asam folat yang menyebabkan terbentuknya analog asam folat non fungsional, sehingga kebutuhan asam folat sel bakteri tidak terpenuhi. Kebutuhan asam folat sel bakteri tidak terpenuhi menyebabkan kematian sel bakteri. Contoh antibiotik yang bekerja dengan cara menghambat metabolisme sel bakteri adalah sulfonamida dan trimetoprim (Jawetz *et al* 2007).

G. Metode Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan dua cara yaitu:

1. Uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi

Uji aktivitas antibakteri merupakan suatu uji aktivitas untuk mengetahui apakah zat tersebut bisa membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri. Uji aktivitas antibakteri bisa dilakukan dengan menggunakan metode difusi dan metode dilusi atau pengenceran (Bonang & Koeswardono 1982). Metode difusi merupakan suatu uji aktivitas antibakteri yang menggunakan suatu cawan berliang renik yang menggunakan obat dalam jumlah tertentu dan ditempatkan pada suatu pembedihan yang sudah ditanami oleh biakan bakteri yang akan diperiksa. Garis tengah daerah hambatan jernih yang mengelilingi dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap bakteri yang diperiksa (Jawetz *et al* 1986).

Metode difusi prinsip kerjanya adalah bakteri ditanam di media yang cukup subur sehingga mampu tumbuh dengan optimal, kemudian diletakkan disk yang mengandung obat lalu dimasukkan ke dalam *agar* dan diamati pengaruhnya terhadap penanaman bakteri yang diperiksa. Faktor-faktor berikut yang dapat mempengaruhi metode difusi antara lain yaitu pradifusi, ketebalan medium dari *agar*, ketebalan inokulum, komposisi media *agar*, suhu inkubasi, waktu inkubasi, dan pengaruh pH. Perbedaan dari ketebalan media *agar* berpengaruh pada zat uji yang ada di dalam *agar*, sehingga akan mempengaruhi diameter hambat. Makin tebal media yang digunakan maka makin kecil media hambat yang terjadi (Bonang & Koeswardono 1982). Metode ini zat yang akan ditentukan aktivitas antimikrobanya berdifusi pada lempeng *Mueller Hinton Agar* (MHA) yang ditanami mikroba yang akan diuji. Dasar penggunaannya yaitu terbentuk atau tidaknya zona hambatan pertumbuhan bakteri di sekeliling cakram atau silinder yang berisi zat antimikroba (Harmita 2004). Metode difusi dibedakan menjadi beberapa cara yaitu:

1.1 Cara Kirby Bauer. Dilakukan dengan cara menginokulasikan suspensi bakteri dengan konsentrasi tertentu pada permukaan media *agar* hingga rata. Kertas disk yang mengandung senyawa uji diletakkan diatas media *agar*

kemudian di inkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Potensi dari antimikroba dilihat dengan cara mengukur diameter zona hambat yang telah terbentuk (Pramita 2013).

1.2 Cara sumuran. Media disiapkan seperti yang dilakukan pada metode *Kirby Bauer*. Media *agar* yang sudah diinokulasi suspensi bakteri kemudian dibuat sumuran dengan diameter tertentu dan tegak lurus terhadap permukaan media. Senyawa uji dimasukkan ke dalam sumuran dan diinkubasi dengan suhu 37°C selama 18-24 jam. Hasil yang diperoleh dibaca dengan cara *Kirby Bauer* (Pramita 2013).

1.3 Cara tuang (*pour plate*). Cara tuang dilakukan dengan cara mencampurkan 1 ml suspensi bakteri dengan 4 ml *agar base* 1,5% pada suhu 50°C hingga homogen kemudian dituangkan ke dalam media *Mueller Hinton Agar* (MHA) dan dibiarkan hingga mengeras. Disk yang di dalamnya mengandung zat uji diletakkan di bagian atasnya dan di inkubasi pada temperatur suhu 37°C selama 18-24 jam. Hasil yang diperoleh dibaca dengan cara *Kirby Bauer* (Pramita 2013).

Keuntungan menggunakan metode difusi adalah bisa dengan mudah menentukan potensi antibakteri untuk mengukur diameter zona radikal dan zona iradikal dibandingkan dengan menggunakan metode dilusi yang pengamatannya sulit dikarenakan warna ekstrak mempengaruhi. Kekurangan metode difusi yaitu aktivitas antibakterinya dapat dipengaruhi dengan tebal tipisnya medium dan faktor difusibilitas obatnya karena suspensi bakteri tidak bisa tersebar merata seperti pada metode dilusi (Jawetz *et al* 1986).

2. Uji aktivitas antibakteri dengan metode dilusi

Metode dilusi berguna untuk mencari Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum) dengan mengetahui kadar obat terendah yang dapat menghambat dan membunuh pertumbuhan mikroba (Bonang & Koeswardono 1982). Metode ini menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap pada media cair maupun padat. Media diinokulasi terhadap bakteri uji yang selanjutnya diinkubasi dan diamati konsentrasi antimikroba yang bisa menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri uji

tersebut. Keuntungan dari menggunakan metode dilusi ini adalah memberikan hasil kualitatif yang menunjukkan jumlah mikroba yang dibutuhkan untuk mematikan bakteri (Jawetz *et al* 1986). Satu konsentrasi agen mikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Pratiwi 2008).

H. Media

1. Pengertian media

Media merupakan suatu bahan yang terdiri dari campuran zat-zat untuk menumbuhkan mikroorganisme, isolasi, memperbanyak jumlah, menguji sifat-sifat fisiologis dan perhitungan jumlah mikroorganisme. Proses pembuatan media harus disterilkan dan menerapkan metode sepsis untuk menghindari kontaminasi pada media (Sumarsih 2003). Pembiakan mikroorganisme untuk pertumbuhan, sintesis sel, keperluan energi dalam metabolisme dan pergerakan. Lazimnya, media biakan berisi air, sumber energi, zat hara sebagai sumber karbon, nitrogen, sulfur, fosfat, oksigen, hidrogen serta unsur-unsur yang lain. Bahan dasar media dapat pula ditambahkan faktor pertumbuhan berupa asam amino, vitamin atau nukleotida. Media yang digunakan untuk menumbuhkan dan mengembangbiakan mikroorganisme tersebut harus sesuai susunannya dengan kebutuhan jenis-jenis mikroorganisme yang bersangkutan.

2. Macam-macam media

Bentuk media ditentukan oleh ada tidaknya penambahan zat pematat seperti agar-agar, gelatin, dan sebagainya. Media padat, apabila ke dalam media ditambahkan antara 12-15 gram tepung agar-agar per 1000 ml media. Jumlah tepung agar-agar yang ditambahkan tergantung pada jenis dan kelompok mikroba yang ditambahkan. Jenis media yang memerlukan kadar air yang tinggi, maka jumlah tepung agar-agar harus rendah, tetapi untuk jenis media yang memerlukan kandungan air rendah maka penambahan tepung harus banyak. Media padat umumnya dipergunakan untuk bakteri, ragi, jamur, dan kadang-kadang juga mikroalga.

Media cair apabila ke dalam media tidak ditambahkan zat pematat, biasanya media cair dipergunakan untuk perbaikan mikroalga tetapi juga mikroba

lain, terutama bakteri dan ragi. Media semi cair atau semi padat apabila penambahan zat pematat hanya 25% atau kurang dari yang seharusnya. Umumnya diperlukan untuk pertumbuhan mikroba dan jamur yang banyak memerlukan kandungan air dan hidup aerobik atau fakultatif (Suriawiria 1986).

3. Sterilisasi

Sterilisasi merupakan suatu cara atau tindakan yang dilakukan untuk membebaskan alat dan media dari mikroba. Bahan atau peralatan yang digunakan dalam proses mikrobiologi harus dalam keadaan yang steril, maksudnya adalah bahan atau peralatan yang digunakan tidak terdapat mikroba yang kehadirannya tidak diharapkan, baik yang merusak ataupun yang mengganggu media, dan mengganggu kehidupan serta proses yang akan dikerjakan. Ada tiga cara umum yang digunakan untuk sterilisasi diantaranya, sterilisasi secara fisika yaitu pemanasan basah dan kering, penggunaan sinar bergelombang pendek seperti sinar X, sinar α (alfa), sinar β (gamma), dan sinar UV. Sterilisasi secara kimia adalah dengan menggunakan desinfektan, larutan alkohol, dan larutan formalin. Sterilisasi secara mekanik adalah dengan menggunakan saringan atau filter untuk bahan yang akan mengalami perubahan atau penguraian akibat tekanan yang tinggi atau pemanasan tinggi (Darmadi 2008).

Sterilisasi merupakan langkah pertama yang digunakan pada media yang akan digunakan dengan cara dimasukkan ke dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. *Beaker glass* dan gelas ukur juga disterilkan dengan cara dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 170°C hingga 180°C selama 120 menit, sedangkan untuk alat-alat seperti jarum ose disterilkan dengan menggunakan pemanasan api langsung. Sterilisasi inkas dilakukan dengan menggunakan bahan formalin (Denyer *et al* 2004).

I. Kotrimoksazol

Kotrimoksazol digunakan dalam penelitian ini untuk pembanding (kontrol positif) karena mempunyai spektrum yang luas sebagai antibakteri dan memiliki frekuensi terjadinya resistensi yang lebih rendah daripada terhadap masing-

masing obat. Kotrimoksazol merupakan antibiotik gabungan dari sulfametoksazol dan trimetoprim (Ganiswara 1995).

Trimetoprim biasanya diberikan secara oral, baik tunggal maupun dikombinasikan dengan sulfametoksazol, kombinasi ini merupakan bentuk terakhir yang dipilih karena trimetoprim dan sulfametoksazol memiliki waktu paruh yang hampir sama. Trimetoprim diabsorpsi dengan baik dari usus dan didistribusikan secara luas dalam cairan-cairan dan jaringan-jaringan tubuh, termasuk cairan serebrospinal. Trimetoprim lebih larut dalam lemak dibandingkan sulfametoksazol, maka volume distribusi trimetoprim lebih banyak dibandingkan sulfametoksazol. Sulfametoksazol lebih banyak terikat pada protein plasma dibandingkan trimetoprim (Katzung 2004). Mekanisme kerja kotrimoksazol yaitu dengan menghambat reaksi enzimatik obligat pada dua tahap yang berurutan pada mikroba, sehingga kombinasi kedua obat ini memberikan efek yang sinergis. Aktivitas kotrimoksazol berdasarkan atas kerjanya pada dua tahap yang berurutan dalam reaksi enzimatik untuk membentuk asam tetrahidrofolat. Sulfametoksazol menghambat masuknya molekul PABA ke dalam molekul asam folat dan trimetoprim menghambat terjadinya reaksi reduksi dari dihidrofolat menjadi tetrahidrofolat. Tetrahidrofolat penting untuk reaksi-reaksi pemindahan satu atom C, seperti pembentukan basa purin (adenin, guanin, dan timidin) dan beberapa asam amino (metionin, glisin) (Ganiswara 2007).

Efek sinergis antara sulfonamida dan trimetoprim dapat diramalkan dari mekanismenya masing-masing. Reaksi yang paling efektif pada dua obat ini untuk sebagian besar mikroorganisme adalah 20 bagian sulfametoksazol dengan satu bagian trimetoprim. Kondisi ini diformulasikan untuk mencapai konsentrasi sulfametoksazol *in vivo* 20 kali lebih besar daripada trimetoprim. Sifat farmakokinetik sulfonamida yang dipilih untuk kombinasi dengan trimetoprim sangat penting mengingat diperlukannya kadar yang relatif tetap dari kedua obat tersebut dalam tubuh (Ganiswara 1995). Mikroba yang peka terhadap kotrimoksazol adalah *S. pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterobacter*, *Aerobacter* spesies *Salmonella*, *Shigella*, *Serratia*, dan *Klebsiella* (Ganiswara 2007).

J. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis adalah suatu metode pemisahan secara fisika kimia. Pemisahan komponen kimia berdasarkan prinsip adsorpsi dan partisi, yang ditentukan oleh fase diam (adsorban) dan fase gerak (eluen). Komponen kimia bergerak naik mengikuti fase gerak karena daya serap adsorben terhadap komponen-komponen kimia tidak sama. Komponen kimia dapat bergerak dengan kecepatan yang berbeda berdasarkan tingkat kepolarannya, hal inilah yang menyebabkan terjadinya pemisahan.

Fase diam dalam KLT juga disebut sebagai lapisan penjerap. Sifat-sifat umum dari penyerap untuk KLT adalah ukuran partikel dan homogenitasnya. Diameter partikel berkisar antara 10-30 μm . Semakin kecil ukuran rata-rata partikel fase diam, maka semakin baik kinerja KLT dalam hal efisiennya dan resolusinya (k_a). Lapisan yang kering mempunyai wajah yang seragam dan membentuk ikatan yang baik dengan penyangga jika dilihat dalam sinar jatuh dan sinar lewat. Lapisan disimpan dalam lingkungan yang tidak lembab dan bebas dari uap laboratorium sebelum digunakan. Fase diam yang digunakan ada bermacam-macam yaitu alumina, serbuk selulosa, gel sephadex, selulosa penukar ion, silika yang dimodifikasi dengan hidrokarbon dan silika gel (k_a). Silika gel menghasilkan perbedaan dalam efek pemisahan yang tergantung pada cara pembuatannya. Penjerap dan silika gel mempunyai kadar air yang berpengaruh nyata terhadap daya pemisahannya. Pemisahan harus digunakan suatu penjerap yang aktif dan pelarut pengembang yang kurang polar.

Fase gerak merupakan medium yang terdiri dari satu pelarut atau lebih. Fase gerak dalam fase diam, yaitu suatu lapisan berpori karena adanya gaya kapiler. Gaya kapiler tersebut menyebabkan pelarut merambat naik keatas sehingga terjadi proses pemisahan campuran cuplikan (Stahl 1985).

K. Landasan Teori

Indonesia memiliki udara yang panas, lembab, dan berdebu yang membuat mikroba dapat tumbuh dengan subur. Penyakit yang disebabkan oleh adanya mikroorganisme adalah penyakit infeksi. Infeksi merupakan masalah di bidang

kesehatan yang salah satunya terus berkembang dari waktu ke waktu. Penyebab infeksi adalah salah satunya bakteri (Radji 2011). Diare merupakan salah satu penyakit infeksi yang paling sering dijumpai. Menurut WHO diare diartikan sebagai kejadian buang air besar dengan konsistensi lebih cair dari biasanya, dengan frekuensi tiga kali atau lebih dari 1 hari. Diare merupakan salah satu dari penyebab terjadinya kematian, karena penderita mengalami dehidrasi. Diare juga dapat disebabkan karena enterotoksin atau racun yang dihasilkan oleh bakteri *Escherichia coli* melalui bahan makanan dan minuman yang telah terinfeksi oleh banyak kuman, menjadi invasif, dan menyerbu ke dalam mukosa (Tjay & Rahardja 2007). *Escherichia coli* merupakan salah satu bakteri penyebab diare akut pada anak-anak maupun orang dewasa, karena mengonsumsi air atau makanan yang sudah tercemar oleh *Escherichia coli* yang bisa menyebabkan infeksi pada usus dan penyebab diare (Jawetz *et al* 2012). Bakteri ini termasuk dalam famili Enterobacteriaceae yang dapat hidup dalam usus besar manusia dan hewan, dalam tanah, dan juga air (Maksum 2002). Toksin-toksin bekerja pada eritrosit untuk menstimulasi sekresi cairan, sehingga menyebabkan terjadinya diare (Gillespie & Bamford 2008).

Masyarakat khususnya di Indonesia masih banyak yang menggunakan tanaman sebagai pengobatan tradisional. Salah satu tanaman yang bisa digunakan adalah daun wangon (*Olax scandens* Roxb.). Buah dari tanaman wangon (*Olax scandens* Roxb.) memiliki kandungan kimia yaitu, alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, glikosida, protein, terpenoid, triterpenoid, steroid, glikosida, kumarin, kuinon, antrakuinon, dan fitosterol (Prabhakar & Kamalakar 2014).

Tanaman wangon (*Olax scandens* Roxb.) memiliki nama lain diantaranya yaitu *Olax psittacorum* (Wild.) Vahl (*Plant Resource of South East Asia*). Kandungan kimia pada daun wangon dengan nama latin *Olax psittacorum* (Wild.) Vahl antara lain yaitu fenolik, karbohidrat, flavonoid, glikosida, protein dan asam amino, saponin, steroid, terpenoid, dan tanin (Majumder *et al* 2015). Dalam penelitiannya menyebutkan bahwa daun wangon memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 250 mg/ml daya hambat sebesar 3,67 mm.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi. Keuntungan maserasi adalah peralatan dan cara pengerjaan yang digunakan sederhana dan mudah, selain itu dapat digunakan untuk senyawa yang tidak tahan panas. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96%, *n*-heksana, etil asetat dan air. Pelarut etanol 96% dipilih karena dapat melarutkan senyawa alkaloid basa, flavonoid, steroid, damar, meinyak penguap, glikosida, kurkumin, kumarin, antrakuinon, dan klorofil (Depkes RI 1986).

Pengujian aktivitas antibakteri dalam penelitian ini yaitu metode difusi dan dilusi. Metode difusi dapat digunakan untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) daerah hambat yang terbentuk mengelilingi obat berupa zona atau daerah yang telah dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap mikroorganisme yang diperiksa (Jawetz *et al* 2007). Metode dilusi digunakan untuk mengetahui kadar obat terendah yang dapat menghambat dan membunuh pertumbuhan mikroorganisme dengan mencari Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) (Bonang & Koeswardono 1982).

L. Hipotesis

Berdasarkan permasalahan yang ada, dapat disusun suatu hipotesis dalam penelitian ini yaitu:

Pertama, ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari daun wangon (*Olax scandens* Roxb.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922.

Kedua, dari ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari daun wangon (*Olax scandens* Roxb.) yang mempunyai aktivitas antibakteri yang paling aktif dalam menghambat bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dapat ditentukan dari hasil penelitian.

Ketiga, Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari fraksi teraktif ekstrak etanol daun wangon (*Olax scandens* Roxb.) dalam membunuh *Escherichia coli* ATCC 25922 dapat ditentukan dari hasil penelitian.