

BAB II

TINJAUN PUSTAKA

A. Tanaman Sirsak

1. Sistematika tanaman sirsak (*Annona muricata* L.)

Klasifikasi tanaman sirsak menurut ITIS *Integrated Taxonomic Information System* (2017) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Sukingdom : Tracheobionta
Divisi : Magnoliophyta
Class : Magnoliopsida
Family/Suku : Annonaceae
Genus /Marga : *Annona* L.
Species/Jenis : *Annona muricata* L.



Gambar 1. Daun sirsak

2. Nama daerah tanaman

Tanaman sirsak di daerah tertentu juga dikenal dengan sebutan: angka sabrang, angka landa (Jawa); angka walanda, sirsak (Sunda); angka buris (Madura); srikaya jawa (Bali); deureuyan belanda (Aceh); durio ulondro (Nias); durian betawi (Minangkabau); jambu landa (Lampung); langelo walanda (Gorontalo); sirikaya balanda (Bugis); wakano (Nusa Laut); naka walanda (Ternate); naka (Flores); ai ata malai (Timor). Nama “sirsak” sendiri sebenarnya berasal dari bahasa Belanda (*Zuurzak*) yang artinya “kantong yang asam” (Herbie 2015).

3. Morfologi tanaman sirsak

Morfologi dari daun sirsak adalah berbentuk bulat dan panjang, dengan bentuk daun menyirip dengan ujung daun meruncing, permukaan daun mengkilap, serta berwarna hijau muda sampai hijau tua. Terdapat banyak putik di dalam satu bunga sehingga diberi nama bunga berpestil majemuk (Sunarjono 2005).

Sebagian bunga terdapat dalam lingkaran, dan sebagian lagi membentuk spiral atau terpenjar, tersusun secara hemisiklis. Mahkota bunga yang berjumlah 6 sepalum yang terdiri dari dua lingkaran, bentuknya hampir segitiga, tebal, dan kaku, berwarna kuning keputih-putiham, dan setelah tua mekar dan lepas dari dasar bunganya. Bunga umumnya keluar dari ketiak daun, cabang, ranting, atau pohon bentuknya sempurna (hemaprodit) (Sunarjono 2005).

4. Kandungan kimia tanaman

Ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin dan tannin yang diketahui saat uji fitokimia (Vijayameena 2013).

4.1. Flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa fenol dapat menyebabkan penghambatan terhadap sintesis dinding sel bakteri, oleh karena itu flavonoid merupakan komponen antibakteri yang potensial (Liana 2010). Flavonoid dapat menghambat perakitan dinding sel bakteri. Penghambatan tersebut mengakibatkan penggabungan rantai glikan tidak terhubung silang ke dalam peptidoglikan dinding sel menuju suatu struktur yang lemah dan menyebabkan kerusakan pada dinding sel bakteri. Kerusakan pada dinding sel bakteri atau hambatan pada pembentukannya dapat berakibat lisis pada sel bakteri (Jawetz *et al.* 2007). Lisisnya sel bakteri tersebut dikarenakan tidak berfungsinya lagi dinding sel yang mempertahankan bentuk dan melindungi bakteri yang pada akhirnya menyebabkan kematian bakteri (Liana 2010).

4.2. Alkaloid. Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Hampir semua alkaloida yang ditemukan di alam mempunyai keaktifan biologis tertentu. Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme kerja senyawa dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak

terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut. Senyawa alkaloida mempunyai struktur heterosiklik yang mengandung atom N didalam intinya dan bersifat basa, karena itu dapat larut dalam asam-asam serta membentuk garamnya, dan umumnya mempunyai aktifitas fisiologis baik terhadap manusia ataupun hewan (Robinson 2005).

4.3. Tannin. Tanin merupakan golongan senyawa aktif tumbuhan yang bersifat fenol. Jenis tanin yang tersebar tidak merata dalam tumbuhan ada dua yaitu, tanin terkondensasi atau tanin katekin dan tanin terhidrolisis (Robinson 2005). Tanin yang terdapat dalam tumbuhan diduga mampu mengkerutkan dinding sel atau membran sel bakteri sehingga dapat mengganggu permeabilitas sel dari bakteri. Akibat terganggunya permeabilitas, sel bakteri tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau bahkan mati (Ajizah 2004).

4.4. Saponin. Saponin meningkatkan permeabilitas membran sel bakteri sehingga dapat mengubah struktur dan fungsi membran, menyebabkan denaturasi protein sehingga membran sel akan rusak dan lisis. Mekanisme ini tergantung pada konsentrasi saponin yang diberikan dan jumlah gugus gula pada aglikon. Saponin dengan konsentrasi tinggi mampu melisiskan membran sel, sementara konsentrasi rendah hanya mampu berinteraksi dengan membran sel tetapi tidak sampai melisiskan sel. Jenis rantai aglikon, jumlah, posisi dan struktur kimia dari gugus gulanya merupakan faktor yang mempengaruhi aktivitas antibakteri saponin. Semakin banyak gugus gulanya, maka semakin lemah efek antibakterinya (Apriyuslim *et al.* 2015).

5. Khasiat tanaman

Daun sirsak (*Annona muricata* L) berkhasiat sebagai obat kejang, obat bisul, peluruh keringat, antikanker, antidiabetes, antibakteri, antijamur, analgesik, antimalaria, antihipertensi, obat jantung, antihepatotoksik, sitotoksik, vasodilator, relaksan otot polos, sedatif dan antioksidan (Depkes RI 1989.,Zuhud, 2011.,Sugiati *et al.*, 1991).

B. Tanaman Alpukat

1. Sistematika tanaman (*Persea americana* Mill)

Klasifikasi tanaman alpukat Menurut ITIS *Integrated Taxonomic Information System* (2017) adalah sebagai berikut:

- Kingdom : Plantae
- Sukingdom : Viridiplantae
- Divisi : Tracheophyta
- Class : Magnoliopsida
- Family/Suku : Lauraceae
- Genus/Marga : *Persea* Mill.
- Species/Jenis : *Persea americana* Mill.



Gambar 2. Daun alpukat

2. Nama daerah tanaman

Nama lain tanaman ini juga dikenal sebagai alpukat (Jawa Tengah); alpuket, jambu wolanda (Jawa Barat); advokat, jamboo mentega, jamboo pooan, pookat (Lampung); buah alpukat, jamboo pokat (Batak) (Paramawati 2016).

3. Morfologi tanaman

Pohon alpukat mempunyai tinggi yang bervariasi sesuai dengan varietasnya, mulai dari 3-10 m. Ciri tanaman alpukat antara lain berakar tunggang, batang berkayu, bulat, warna coklat, dan bercabang banyak. Daunnya termasuk daun tunggal yang letaknya berdasarkan diujung ranting. Bentuknya memanjang, ujungnya dan pangkal runcing. Tepi daun rata kadang-kadang ada yang menggulung ke atas. Bunganya mejemuk dan tersusun dalam tandan yang tumbuh dari ujung-ujung ranting. Struktur bunga berkelamin dua (*hermaphrodite*) dan

bunga berbentuk malai, tumbuh dekat ujung ranting dengan jumlah banyak, garis tengah 1 - 1,5 cm, warna putih kekuningan, berbulu halus. Buah berbentuk bola lampu sampai berbentuk bulat telur dengan panjang 5-20 cm dan lebar 5-10 cm tanpa sisa bunga. buahnya berbentuk bola atau bulat telur; daging buah jika sudah masak lunak, bewarna hijau hingga hijau kekuningan (Sudradjat 2017).

4. Biji buah alpukat

Biji buah alpukat digunakan sebagai obat maag dengan cara diparut dan disaring sebelum diminum. Kemungkinan di dalam biji alpukat terdapat komponen aktif yang mampu menetralkan asam lambung yang terlalu tinggi. Selain itu, bijinya juga diketahui dapat digunakan sebagai antiradang, menghilangkan rasa sakit, menyembuhkan sariawan mulut, mengobati sakit gigi, mengatasi diabetes melitus, sebagai antibakteri dan kencing manis. Bubuk biji alpukat dapat menyembuhkan bengkak karena radang. Bijinya juga digunakan dalam industri pakaian sebagai pewarna yang tidak mudah luntur (Sarinastiti, 2018).

5. Kandungan kimia

Kandungan senyawa kimia yang terdapat pada daun alpukat adalah flavonoid, tannin dan alkaloid yang dikatakan memiliki aktivitas kimia sebagai antibakteri.

4.1. Flavonoid. Flavonoid dapat digambarkan dengan rumus molekul $C_6C_3C_6$ yang artinya kerangka karbonnya terdiri dari atas dua gugus C_6 (Cincin benzene tersubstitusi) yang disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon (Yunita 2009). Flavonoid hampir terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk buah, akar, daun dan kulit luar batang (Lumbessy 2013).

4.2. Alkaloid. Alkaloid merupakan golongan senyawa yang tersebar luas pada hampir semua tumbuhan. Alkaloid mengandung paling sedikit satu atom nitrogen, alkaloid dapat ditemukan pada biji, daun, ranting, dan kulit kayu. Kadar alkaloid dalam tumbuhan dapat mencapai 10-15% (Minarno 2015). Berdasarkan hasil penelitian Paju *et al.* (2013) alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri dengan mengganggu komponen penyusun petidoglikan pada sel bakteri.

4.3. Tanin. Tanin memiliki aktivitas antibakteri dengan cara mempresipitasi protein, inaktivasi enzim, dan destruksi atau inaktivasi materi genetik. Tingkat konsentrasi tanin yang diberikan akan mempengaruhi aktivitas antibakterinya karena semakin tinggi konsentrasi maka semakin baik aktivitasnya. Tanin dengan berat molekul rendah memiliki aktivitas lebih baik daripada tanin dengan berat molekul yang lebih besar. Tanin diklasifikasikan ke dalam tanin kondensasi dan tanin hidrolisis. Hasil pengujian menunjukkan tanin yang terkandung dalam ekstrak etanol daun sirsak merupakan tanin kondensasi. Lim *et al.* (2006) melaporkan bahwa hanya tanin hidrolisis yang menunjukkan aktivitas antibakteri. Tanin hidrolisis ditemukan memiliki aktivitas antibakteri jauh lebih baik dibandingkan tanin kondensasi atau campuran dari keduanya (Apriyuslim *et al.* 2015).

4.4. Saponin. Saponin merupakan glukosida yang larut dalam air dan etanol, tetapi tidak larut dalam eter. Saponin bekerja sebagai antibakteri dengan mengganggu stabilitas membran sel bakteri sehingga menyebabkan sel bakteriolisis, jadi mekanisme kerja saponin termasuk dalam kelompok antibakteri yang mengganggu permeabilitas membran sel bakteri, yang mengakibatkan kerusakan membran sel dan menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dalam sel bakteri yaitu protein, asam nukleat dan nukleotida (Charyadie *et al.* 2014).

6. Khasiat tanaman

Tanaman alpukat dapat digunakan dalam pengobatan penyakit hipertensi, sementara kandungan kimia lain dari alpukat seperti kerotenoid dari daging buah alpukat memiliki peran penting dalam pengurangan kanker. Biji alpukat dapat dimanfaatkan dalam pengobatan diare, disentri, sakit gigi dan infeksi kulit. Ekstrak daun alpukat memiliki aktivitas antiinflamasi, analgesik, antibakteri dan antijamur (David *et al.* 2015).

C. Simplisia

Simplisia adalah bahan alam yang dimanfaatkan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun dan jika dinyatakan lain, berupa bahan alam yang

telah dikeringkan. Simplisia nabati adalah berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Eksudat tanaman merupakan isi sel atau zat-zat nabati yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tanaman dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia hewani adalah berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat dari hewan dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia pelican (mineral) adalah berupa pelican atau mineral yang belum maupun telah diolah dengan sederhana dan belum zat kimia murni (Depkes RI 1977).

1. Pengumpulan simplisia

Bagian yang diambil dari tanaman sebagai simplisia misalnya daun, bunga, buah, akar atau rimpang. Hal ini karena zat berkhasiat tidak selalu terdapat pada seluruh bagian dari tanaman, terkadang ada bagian dari tanaman justru beracun dan tidak dikehendaki. Pengumpulan simplisia juga perlu memperhatikan kondisi tertentu, misalnya waktu pemanenan dan umur tanaman (Dalimartha 2008).

2. Pengeringan simplisia

Pengeringan merupakan kegiatan yang paling penting dalam pengolahan tanaman obat, kualitas produk yang digunakan sangat dipengaruhi oleh proses pengeringan yang dilakukan (Mahapatra *et al.* 2009) terdapat berbagai metode dalam pengeringan antara lain pengeringan dengan sinar matahari langsung, pengeringan dengan oven, dan kering angin.

Pengeringan dengan matahari langsung merupakan proses pengeringan yang paling ekonomis dan paling mudah dilakukan, akan tetapi dari segi kualitas alat pengering buatan (*oven*) akan memberikan produk yang lebih baik. Sinar ultra violet dari matahari juga menimbulkan kerusakan pada kandungan kimia bahan yang dikeringkan (Pramono 2006).

Pengeringan dengan oven dianggap lebih menguntungkan karena akan terjadi pengurangan kadar air dalam jumlah besar dalam waktu yang singkat (Muller *et al.* 2006), akan tetapi penggunaan suhu yang terlampau tinggi dapat meningkatkan biaya produksi selain itu terjadi perubahan biokimia sehingga mengurangi kualitas produk yang dihasilkan sedang metode kering angin

dianggap murah akan tetapi kurang efisien waktu dalam pengeringan simplisia (Pramono 2006).

D. Penyarian

1. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan salah satu metode pemisahan berdasarkan perbedaan kelarutan. Ekstraksi dapat didefinisikan sebagai proses pemisahan dan isolasi zat dari suatu zat dengan penambahan pelarut tertentu untuk memisahkan komponen campuran dari zat padat atau zat cair (Wahyuni *et al.* 2004).

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan senyawa kimia dari jaringan tanaman maupun hewan menggunakan pelarut tertentu. Beberapa hal yang harus diperhatikan untuk tercapainya kondisi optimum ekstraksi antara lain: senyawa dapat terlarut dalam pelarut dengan waktu yang singkat, pelarut harus selektif melarutkan senyawa yang dikehendaki, senyawa analit memiliki konsentrasi yang tinggi untuk memudahkan ekstraksi (Fajriati *et al.* 2011).

2. Maserasi

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. 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. Metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (Mukhriani 2014).

3. Pelarut

Pelarut adalah cairan yang biasa digunakan untuk proses ekstraksi. Pemilihan larutan penyari harus memenuhi kriteria yang memadai yaitu stabil secara kimia dan fisika, bereaksi netral, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, selektif terhadap zat aktif, tidak mempengaruhi zat berkhasiat, murah dan mudah diperoleh. Cairan penyari terdiri dari tiga macam yaitu pelarut polar,

semi polar dan non polar. Contoh cairan penyari diantaranya adalah air, etanol dan n-heksan.

Penggunaan pelarut adalah tergantung senyawa yang ditargetkan. Beberapa faktor yang perlu dipertimbangkan dalam memilih pelarut adalah senyawa yang akan diekstraksi, laju ekstraksi, keragaman senyawa yang akan diekstraksi, toksisitas pelarut dalam *bioassay*, potensial bahaya kesehatan pelarut (Tiwari *et al.* 2011).

Etanol merupakan kelompok alkohol dimana molekulnya mengandung gugus hidroksil (OH) berikatan dengan atom karbon, dikenal sebagai etil alkohol, hidrosiean atau alkohol. Etanol merupakan pelarut organik yang bersifat polar, diproduksi melalui fermentasi gula, karbohidrat dan pati. Etanol digunakan untuk mengekstraksi senyawa-senyawa aktif bersifat antioksidan dan antibakteri pada suatu bahan. Beberapa peneliti melaporkan bahwa pelarut etanol lebih baik daripada air, methanol maupun pelarut lain dalam mengekstraksi senyawa antioksidan dan antibakteri (Lewis, 1993).

Etanol umumnya baik untuk melarutkan senyawa aktif yang diduga berkhasiat sebagai antimikroba seperti alkaloid, flavanoid, tanin, dan saponin. Penggunaan etanol 70% dikarenakan etanol 70% polaritasnya sangat tinggi dibanding dengan etanol murni (Apriyuslim *et al.* 2015). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Azis *et al.* (2014) menyatakan pelarut etanol lebih baik melarutkan senyawa alkaloid dan pelarut etanol mampu mengekstrak lebih banyak metabolit sekunder dari daun salam India dibandingkan pelarut heksana dan air.

E. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi merupakan cara untuk memisahkan zat berkhasiat dan zat lain yang ada dalam sediaan dengan cara penyarian berfraksi atau penyerapan atau penukaran ion pada zat padat berpori, menggunakan cairan atau gas yang mengalir. Zat yang didapat bisa digunakan untuk identifikasi dan penetapan kadar (Depkes RI 1977).

Teknik kromatografi umumnya memerlukan zat terlarut terdistribusi diantara dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak. Fase gerak membawa zat

terlarut melalui media hingga terpisah dari zat terlarut lainnya, yang terelusi lebih awal atau lebih akhir. Zat terlarut dibawa melewati media pemisah oleh aliran suatu pelarut berbentuk cairan atau gas yang disebut eluen (Depkes RI 2008).

Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan salah satu tipe kromatografi yang paling banyak digunakan dan paling mudah untuk memurnikan suatu komponen zat. Metode KLT menggunakan lempeng kaca atau alumunium yang sudah diapisi oleh zat penyerap (misalnya silica gel) dan memiliki ketebalan tertentu umumnya ketebalan 0,2 mm untuk lempeng preparative tebalnya hingga 1-2 cm (Heinrich *et al.* 2004).

Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan salah satu tipe kromatografi partisi dengan menggunakan sebuah silica atau alumina yang seragam pada sebuah lempeng gelas atau logam. Silica gel merupakan fase diam seringkali juga mengandung substansi yang bisa berpendar dalam sinar ultraviolet. Pada kromatografi lapis tipis zat penjerap merupakan lapisan tipis serbuk halus yang dilapiskan pada lempeng kaca, plastik atau logam secara merata umumnya digunakan lempeng kaca. Lempeng yang dilapisi dapat dianggap sebagai kolom kromatografi terbuka dan pemisahan yang tercapai dapat didasarkan pada absorpsi, partisi atau kombinasi keduanya, tergantung dari jenis lempeng, cara pembuatan dan jenis pelarut yang digunakan (Depkes RI 2008).

F. Bioautografi

Metode bioautografi adalah metode sederhana yang digunakan untuk menunjukkan adanya aktivitas antibakteri atau antikapang. Metode ini menggabungkan penggunaan teknik kromatografi lapis tipis dengan respon dari mikroorganisme yang diuji berdasarkan aktivitas biologi dari suatu analit yang dapat berupa antibakteri, antikapang dan antiprotozoa. Bioautografi dapat digunakan untuk mencari antibakteri atau antikapang baru, kontrol kualitas anti mikroba dan mendeteksi golongan senyawa (Kusumaningtyas *et al.* 2008).

Metode bioautografi dibedakan menjadi bioautografi kontak, bioautografi *agar overlay* dan bioautografi langsung. Bioautografi kontak dilakuakn dengan meletakkan lempeng kromatogram hasil elusi senyawa yang akan diuji diatas

media padat yang sudah diinokulasi dengan mikroba uji. Senyawa antimikroba ditandai dengan adanya daerah jernih yang tidak ditumbuhi mikroba (Choma 2005).

Ciri khas dari prosedur bioautografi adalah didasarkan atas tehnik difusi agar, dimana senyawa antibakteri dipindahkan dari lapisan kromatografi ke medium agar yang telah di inokulasi dengan bakteri yang sesuai. Dua lapisan media agar dianjurkan untuk bioautografi yaitu lapisan dasar (*based layer*) dan lapisan atas (*seed layer*). Zona inhibisi ditampakkan oleh aktivitas dehidrogenasi dari pereaksi pendeteksi. Bioautografi dapat dipertimbangkan paling efisien untuk mendeteksi komponen antimikroba sebab dapat melokalisir aktivitas meskipun dalam senyawa kompleks dan dapat langsung diisolasi dari komponen aktif. Selain itu, metode sederhana yang telah dikembangkan ini, dapat mencegah adanya perluasan bakteri dari peralatan yang digunakan serta masalah-masalah yang berhubungan dengan perbedaan difusi senyawa-senyawa dari kromatogram ke media agar (Fadhilah 2012).

Keuntungan dari bioautografi merupakan metode yang mudah dilakukan, tidak butuh waktu lama, ekonomis, menggunakan alat sederhana dan hasil yang cukup akurat (Kusumaningtyas *et al.* 2008).

G. Bakteri

1. Sistematika *Salmonella typhi* ATCC 13311

Sistematika *Salmonella typhi* adalah sebagai berikut (Jawetz *et al.* 2005):

Kingdom : Bacteria
Divisi : Protophyta
Sub Divisi : Schizomycetea
Ordo : Gamma Proteobacteria
Class : Enterobacteriales
Family : Enterobacteriaceae
Genus : Salmonella
Spesies : *Salmonella typhi*

2. Morfologi, sifat dan identifikasi *Salmonella typhi* (Radji 2011).

Salmonella termasuk dalam famili Enterobacteriaceae merupakan bakteri patogen bagi manusia maupun hewan. Infeksi *Salmonella* terjadi pada saluran cerna dan terkadang menyebar lewat peredaran darah keseluruh organ tubuh. Infeksi *Salmonella* pada manusia bervariasi yaitu dapat berupa infeksi yang dapat sembuh sendiri (gastroenteritis) dan berupa infeksi serius berupa penyebaran sistemik (demam enterik). *Salmonella* merupakan bakteri Gram negatif, tidak berspora dan tanpa fimbria. Ukuran 1-3,5 μm x 0,5-0,8 μm . Besar koloni dalam media perbenihan rata-rata 2-4 mm.

Sifat *Salmonella typhi* antara lain dapat bergerak, tumbuh pada suasana aerob dan anaerob fakultatif, memberikan hasil positif pada reaksi fermentasi mannitol dan sorbitol, memberikan hasil negative pada reaksi indol. Suhu pertumbuhan optimum 37,5°C dengan pH media 6-8, dapat tumbuh cepat pada perbenihan biasa, tidak meragi laktosa, mannitol dan dekstrin. *Salmonella* mati pada suhu 56°C dan pada keadaan kering.

Perbenihan agar *Salmonella-Shigella*, agar Endo dan agar Mac Conkey koloni *Salmonella* berbentuk bulat, kecil dan tidak berwarna. Pada media *Wilson-Blair agar* koloni *Salmonella* berwarna hitam. Perbenihan bakteri ini pada *bismuth sulfite agar* dapat mendeteksi *Salmonella typhi* dengan cepat karena akan terbentuk koloni hitam oleh H₂S yang dihasilkan oleh bakteri ini. Spesies *Salmonella* dapat ditumbuhkan dalam media spesifik atau diferensial dan dapat diidentifikasi lebih lanjut dengan uji reaksi biokimia atau serologi.

3. Pathogenesis

Salmonellosis adalah infeksi yang disebabkan oleh *Salmonella* yang termasuk kedalam tubuh melalui makanan atau minuman yang terkontaminasi. Orang yang terinfeksi akan mengalami gejala demam, diare, kram perut, pusing, sakit kepala dan rasa mual setelah 12 hingga 72 jam terinfeksi. Gejala ini dapat berlangsung selama 7 hari. Penderita salmonellosis umumnya dapat sembuh tanpa perawatan dokter, akan tetapi sebagian penderita dapat mengalami diare yang sangat parah sehingga harus dirawat dirumah sakit. Infeksi parah terutama terjadi pada anak-anak dan penderita yang memiliki system pertahanan tubuh yang

lemah. Manifestasi klinik salmonellosis terdiri atas beberapa sindrom antara lain, gangguan enteritis, demam enteric, septisemia dan penderita yang tidak menampakkan gejala sakit (Radji 2011).

4. Pengobatan dan pencegahan

Infeksi Salmonella biasanya berlangsung selama 5-7 hari dan pasien memerlukan perawatan jika mengalami dehidrasi berat dan infeksi telah menyebar dari usus. Penggantian cairan dan elektrolit sangat penting jika penderita mengalami diare parah. Banyak antibiotik efektif terhadap Salmonella. Kloramfenikol atau ampisilin merupakan antibiotik pilihan untuk mengatasi salmonellosis.

Imunisasi dengan vaksin monovalent *Salmonella typhi* memberikan proteksi yang cukup baik. Vaksin akan merangsang pembentukan antibody terhadap antigen Vi, O, dan H. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa antibody terhadap antigen H dapat memberikan perlindungan terhadap *Salmonella typhi*, tetapi tidak pada antigen Vi dan O selain itu, pencegahan umum dapat dilakukn dengan upaya menjaga kebersihan makanan dan minuman serta upaya mengobati *carrier* yang berpotensi menjadi sumber infeksi (Radji 2011).

H. Antibakteri

1. Pengertian antibakteri

Antibiotika pertama kali ditemukan oleh Paul Ehrlich pada 1910, hingga sekarang masih menjadi obat yang diandalkan dalam penanganan kasus-kasus penyakit infeksi. Pemakaiannya selama 5 dekade terakhir mengalami peningkatan yang luar biasa, hal ini tidak hanya terjadi di Indonesia tetapi juga menjadi masalah di negara maju seperti Amerika Serikat (Akalin 2002).

Antimikroba adalah obat yang digunakan untuk memberantas infeksi mikroba pada manusia. Sedangkan antibiotika adalah senyawa kimia yang dihasilkan oleh mikroorganisme (khususnya dihasilkan oleh fungi) atau dihasilkan secara sintetik yang dapat membunuh atau menghambat perkembangan bakteri dan organisme lain (Utami 2011).

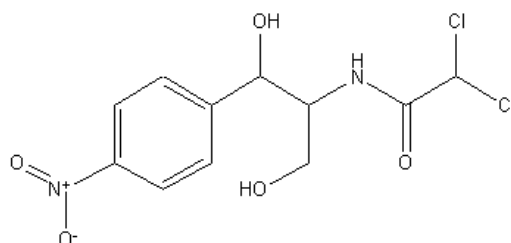
Secara garis besar antimikroba dibagi menjadi dua jenis yaitu yang membunuh kuman (bakterisid) dan yang hanya menghambat pertumbuhan kuman (bakteriostatik). Antibiotik yang termasuk golongan bakterisid antara lain penisilin, sefalosporin, aminoglikosida (dosis besar), kotrimoksazol, rifampisin, isoniazid dan lain-lain. Sedangkan antibiotik yang memiliki sifat bakteriostatik, dimana penggunaannya tergantung status imunologi pasien, antara lain sulfonamida, tetrasiklin, kloramfenikol, eritromisin, trimetropim, linkomisin, klindamisin, asam paraaminosalisilat dan lain-lain (Utami 2011).

Mekanisme kerja antibiotik antara lain adalah menghambat sintesis dinding sel, merusak permeabilitas membran sel, menghambat sintesis RNA (proses transkripsi), menghambat sintesis protein (proses translasi), menghambat replikasi DNA (Immanudin 2010).

Berdasarkan spektrum aksinya, zat antibakteri di bagi menjadi 3 meliputi spektrum luas, spektrum sempit dan spektrum terbatas. Spektrum luas yaitu zat antibakteri tersebut efektif melawan prokariot, baik membunuh atau menghambat bakteri Gram negatif dan Gram positif dalam ruang lingkup yang luas. Spektrum sempit yaitu zat antibakteri yang efektif melawan sebagian bakteri Gram positif atau negatif. Spektrum terbatas yaitu zat antibakteri yang efektif melawan spesies bakteri tertentu (Agustrina 2011).

2. Kloramfenikol

Kloramfenikol merupakan kristal putih yang sukar larut dalam air (1:400), rasanya sangat pahit (Setiabudy 2009) dan merupakan salah satu jenis antibiotika turunan amfenikol (Immanudin 2010).



Gambar 3. Struktur kimia kloramfenikol

Kloramfenikol memiliki mekanisme kerja sebagai antibakteri yang bersifat stereospesifik, karena hanya satu stereoisomer yang memiliki aktivitas antibakteri yaitu D (-) treo-isomer. Bekerja pada spektrum luas yaitu efektif terhadap Gram

positif dan Gram negatif. Mekanisme kerja kloramfenikol menghambat sintesis protein pada bakteri dan dalam jumlah terbatas pada sel eukariot. Obat ini segera berpenetrasi ke sel bakteri, kemungkinan melalui difusi terfasilitasi. Kloramfenikol terutama bekerja dengan mengikat subunit ribosom 50 S secara reversibel (di dekat tempat kerja antibiotik makrolida dan klindamisin, yang dihambat secara kompetitif oleh obat ini), walaupun pengikatan tRNA pada bagian pengenalan kodon ini ternyata menghalangi pengikatan ujung tRNA aminosil yang mengandung asam amino ke tempat akseptor pada subunit ribosom 50 S. Interaksi antara peptidiltransferase dengan substrat asam aminonya tidak dapat terjadi, sehingga pembentukan ikatan peptide terhambat (Dian 2015).

I. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri pada umumnya dapat dilakukan menggunakan 2 cara, yaitu metode difusi dan dilusi. Prinsip kerja dari metode difusi adalah dengan terdifusinya senyawa antimikroba ke dalam media padat dimana mikroba uji telah diinokulasikan dalam media tersebut. Metode difusi dapat dilakukan menggunakan cara kertas cakram dan metode sumuran. Pada metode difusi dengan kertas cakram, kertas cakram yang mengandung antibiotik diletakkan di atas permukaan media agar yang telah ditanam mikroba uji, setelah itu hasilnya dibaca, yaitu penghambatan pertumbuhan mikroba oleh antibiotik terlihat sebagai zona jernih di sekitar pertumbuhan mikroba. Metode difusi secara sumuran dilakukan dengan membuat sumuran dengan diameter tertentu pada media agar yang telah ditanami mikroba uji. Sumuran dibuat tegak lurus terhadap permukaan media. Antibiotik diinokulasikan ke dalam sumuran ini dan diinkubasikan, kemudian hasil dibaca seperti pada difusi kertas cakram dimana luasnya zona jernih merupakan petunjuk kepekaan mikroba terhadap antibiotik (Madigan 2009).

Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi ukuran zona penghambatan dan harus dikontrol adalah: 1. Konsentrasi bakteri pada permukaan medium.

Semakin tinggi konsentrasi bakteri maka zona penghambatan akan semakin kecil. 2. Kedalaman medium pada cawan petri. Semakin tebal medium pada cawan petri maka zona penghambatan akan semakin kecil. 3. Nilai pH dari medium. Beberapa antibiotika bekerja dengan baik pada kondisi asam dan beberapa kondisi alkali/basa. 4. Kondisi aerob/anaerob. Beberapa antibakterial kerja terbaiknya pada kondisi aerob dan yang lainnya pada kondisi anaerob (Pratama 2005).

J. Efek Kombinasi Tanaman

Obat tradisional akan bermanfaat dan aman jika digunakan dengan tepat. Baik takaran, waktu, dan cara penggunaan serta pemilihan bahan yang sesuai dengan indikasi dan efek farmakologi yang saling mendukung satu sama lain (efek komplementer) untuk mencapai efektivitas pengobatan. Obat tradisional memiliki beberapa kelebihan yaitu efek sampingnya yang relatif kecil dan harganya murah. Bahan obat alam juga memiliki beberapa kelemahan yang juga merupakan kendala dalam pengembangan obat tradisional. Kelemahan tersebut antara lain, efek farmakologi yang lemah, bahan baku belum terstandar, belum dilakukan uji klinik dan mudah tercemar berbagai jenis mikroorganisme (Pramono 2008).

Hasil dari kombinasi bisa bersifat sinergis atau antagonis, hasil dikatakan sinergis apabila hasil kombinasi memiliki efek terapeutik yang lebih besar dibandingkan dengan penggunaan tunggal, sebaliknya hasil dikatakan antagonis apabila hasil kombinasi memiliki efek terapeutik yang lebih kecil atau saling meniadakan antara antibakteri yang digunakan. Jika dua agen antimikroba bekerja secara bersamaan pada populasi mikroba yang homogen maka efeknya dapat berupa efek sinergisme, artinya kerja kombinasi secara nyata lebih besar dari pada jumlah kedua efek (Jawezt *et al.* 2005). Formulasi dan komposisi ramuan tanaman yang akan dibuat kombinasi tersebut harus dibuat setepat mungkin agar tidak menimbulkan kontraindikasi, bahkan dipilih ramuan yang saling menunjang terhadap suatu efek yang dikehendaki (Pramono 2008).

K. Media

Media adalah campuran nutrisi atau zat makanan yang dibutuhkan oleh mikroorganisme untuk pertumbuhan. Media selain itu juga berfungsi sebagai isolasi & inokulasi serta untuk uji fisiologi dan biokimia dari mikroba. Media yang baik untuk pertumbuhan mikroba adalah yang sesuai dengan lingkungan pertumbuhan mikroba tersebut, yaitu: susunan makanannya dimana media harus mengandung air untuk menjaga kelembaban dan untuk pertukaran zat atau metabolisme, juga mengandung sumber karbon, mineral, vitamin dan gas, tekanan osmosis yaitu harus isotonik, derajat keasaman atau pH umumnya netral tapi ada juga yang alkali, temperatur harus sesuai dan steril (Yusmaniar *et al.* 2017).

Media umumnya harus mengandung semua kebutuhan untuk pertumbuhan mikroba, yaitu: sumber energi misalnya gula, sumber nitrogen, juga ion inorganik esensial dan kebutuhan yang khusus, seperti vitamin. Media pertumbuhan mengandung unsur makro yang dibutuhkan mikroba seperti karbon (C), Hidrogen (H), oksigen (O), Nitrogen (N), dan Fosfor (P), selain itu media juga mengandung unsur mikro seperti besi (Fe), dan Magnesium (Mg). Media juga dapat mengandung bahan tambahan lain seperti indikator phenol red. Sifat media pembenihan yang ideal adalah mampu memberikan pertumbuhan yang baik jika ditanami kuman, mendorong pertumbuhan cepat, murah, mudah dibuat kembali, dan mampu memperlihatkan sifat khas mikroba yang diinginkan. Berdasarkan bentuknya media dibedakan menjadi:

1. Media Cair

Media cair digunakan untuk pembenihan diperkaya sebelum di sebar ke media padat, tidak cocok untuk isolasi mikroba dan tidak dapat dipakai untuk mempelajari koloni kuman. Contoh media cair yaitu, *Nutrient broth* (NB); *Pepton dilution fluid* (PDF); *Lactose Broth* (LB); *Mac Conkey Broth* (MCB), dan lain-lain. Pepton merupakan protein yang diperoleh dari peruraian enzim hidrolitik seperti pepsin, tripsin, papain. Pepton mengandung Nitrogen dan bersifat sebagai larutan penyangga, beberapa kuman dapat tumbuh dalam larutan pepton 4% (Yusmaniar *et al.* 2017).

2. Media semi padat dan media padat

Media semi padat adalah media yang mengandung agar sebesar 0.5 %. Media padat mengandung komposisi agar sebesar 15 %. Media padat digunakan untuk mempelajari koloni kuman, untuk isolasi dan untuk memperoleh biakan murni. Contoh media padat yaitu, *Nutrient Agar* (NA); *Potato Detrose Agar* (PDA); *Plate Count Agar* (PCA), dan lain-lain (Yusmaniar *et al.* 2017).

3. Media Selektif

Media selektif merupakan media cair yang ditambahkan zat tertentu untuk menumbuhkan mikroorganisme tertentu dan diberikan penghambat untuk mikroba yang tidak diinginkan. Contohnya media yang ditambahkan ampisilin untuk menghambat mikroba lainnya (Yusmaniar *et al.* 2017).

L. Landasan Teori

Kesehatan merupakan suatu hal yang sangat penting dalam kehidupan, namun untuk menjaganya perlu dilakukan tindakan pencegahan dan pengobatan. Tindakan tersebut dilakukan agar menghindari terjadinya penyakit, salah satunya yang sering terjadi adalah infeksi. Infeksi yang sering terjadi yaitu infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella typhi*. Pengobatan infeksi bakteri saat ini yaitu dengan pemberian antibiotik. Perlu diketahui penggunaan antibiotik yang berlebihan dan pemberian dalam jangka waktu yang lama dapat menyebabkan terjadinya resistensi pada bakteri hal ini dapat menimbulkan masalah dalam pengobatan infeksi, sehingga diperlukan pengembangan obat tradisional dari bahan herbal yang dapat mengatasi infeksi bakteri tanpa menimbulkan masalah baru.

Salmonella typhi merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang yang menyebabkan infeksi pada demam tifoid. *Salmonella typhi* bersifat patogen terhadap manusia bila masuk melalui mulut, tetapi *Salmonella typhi* yang masuk ke dalam saluran pencernaan tidak selalu akan menyebabkan infeksi, untuk menimbulkan infeksi *Salmonella typhi* biasanya harus dapat mencapai usus halus.

Pengobatan pada demam tifoid umumnya diatasi dengan penggunaan antibiotik. Antibiotik lini pertama yang digunakan dalam pengobatan infeksi

Salmonella typhi, seperti kloramfenikol, ampisilin atau amoksisilin dan kotrimoksazol sering mengalami kegagalan yang diakibatkan adanya resistensi bakteri terhadap antibiotik. Untuk itu perlu dipikirkan pengobatan alternatif ataupun pengobatan pendamping yang efektif, efisien, aman dan cukup murah akan tetapi tetap berorientasi pada standar pelayanan kesehatan yang ada. Pengobatan alternatif yang dimaksud adalah menggunakan obat herbal.

Tanaman sirsak (*Annona muricata* L.) merupakan salah satu tanaman yang banyak digunakan di Indonesia dalam pengobatan tradisional. Daun sirsak secara tradisional juga digunakan untuk mengobati sakit kepala, demam, sakit gigi, batuk dan asma. Daun sirsak menunjukkan adanya kandungan senyawa aktif alkaloid, tanin, flavonoid. Tanaman yang mengandung flavonoid dan alkaloid menunjukkan kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri kariogenik, selain itu tannin juga mampu menghambat pertumbuhan bakteri.

Alpukat adalah tanaman yang biasa ditemukan pada daerah tropis dan hampir semua bagian dari tanamannya memiliki manfaat sebagai sumber obat-obatan. Adapun pemanfaatan daging buah yaitu untuk mengatasi sariwan, melembabkan kulit kering, antibakteri, mengatasi hipertensi dan memiliki kandungan gizi yang tinggi. Berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Felina *et al.* (2014) menunjukkan hasil perhitungan rerata diameter zona hambat ekstrak daun alpukat dalam konsentrasi 25%, 50% dan 100% masing-masing sebesar 8.99 mm, 10.73 mm dan 11.82 mm terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Kandungan zat kimia yang terdapat dalam buah dan daun alpukat meliputi flavonoid, alkaloid dan tannin.

Metode uji aktivitas antibakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah metode difusi. Metode ini digunakan untuk menentukan diameter zona hambatan tanaman terhadap bakteri. Metode difusi adalah suatu uji dengan menggunakan cakram berliang renik atau suatu silinder tidak beralas yang mengandung obat dalam jumlah tertentu ditempatkan pada pembedahan padat yang telah ditanami dengan biakan bakteri yang akan diperiksa. Garis tengah daerah hambatan jernih yang mengelilingi obat dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap bakteri yang diperiksa.

Kombinasi obat herbal adalah perpaduan dua atau lebih obat yang digunakan pada waktu bersamaan agar khasiatnya masing-masing dapat saling mempengaruhi. Kombinasi dua agen antimikroba apabila bekerja secara bersamaan pada populasi mikroba yang homogen maka efeknya dapat berupa efek sinergisme, artinya kerja kombinasi secara nyata lebih besar dari pada jumlah kedua efek.

M. Hipotesis

Berdasarkan permasalahan yang ada, dapat disusun hipotesis dalam penelitian ini sebagai berikut:

Pertama, ekstrak kombinasi daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan ekstrak daun alpukat (*Persea americana* Mill) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella typhi* ATCC 13311.

Kedua, ekstrak kombinasi daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun alpukat (*Persea americana* Mill) memiliki aktivitas antibakteri dengan perbandingan paling efektif terhadap *Salmonella typhi* ATCC 13311.

Ketiga, dapat menentukan diameter zona hambat aktivitas antibakteri ekstrak kombinasi daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun alpukat (*Persea americana* Mill) terhadap *Salmonella typhi* ATCC 13311.

