

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Alang alang**

##### **1. Klasifikasi alang-alang**

Kerajaan	:	Plantae
Divisi	:	Tracheophyta
Kelas	:	Magnoliopsida
Ordo	:	Poales
Famili	:	Poaceae
Genus	:	Imperata

Spesies: *Imperata cylindrica* (Fatmawati *et al*, 2019: 6).



**Gambar 1. Tanaman alang-alang (www.jamberita.com)**

##### **2. Definisi alang-alang**

Menurut Wibisono *et al.*, (2012: 12) Alang-alang atau ilalang adalah tanaman liar sejenis rumput yang berdaun tajam, kerap menjadi gulma di lahan pertanian. Fatmawati *et al*, (2019: 6). Menjelaskan alang-alang merupakan tanaman dari famili poaceae dengan nama ilmiah *Imperata cylindrica* mempunyai nama lain ilalang, lalang.

##### **3. Morfologi alang-alang**

Alang-alang ialah tumbuhan yang mudah ditemui di tanah atau ladang di daerah tropis dan subtropis pada ketinggian mencapai 2.700 Mdpl. Bahkan tumbuhan ini dapat dengan mudah berkembang biak di tempat-tempat pada kondisi tanah tandus dengan lingkungan ekstrim. Alang-alang tidak dapat tumbuh pada daerah dengan genangan air dan tempat teduh namun tahan terhadap kondisi lingkungan yang kering

(kurang air) dan kurangnya zat hara dalam tanah (Fatmawati *et al.*, 2019: 6).

Alang-alang hidup berumpun dengan tinggi dapat mencapai 2 m, daun tanaman ini berbentuk garis memanjang dan berujung runcing. Tanaman ini mempunyai pangkal daun berambut dan menyempit dengan panjang daunnya sekitar 12-80 cm, bagian tepi daunnya sangat kasar dan lajam. Tanaman ini memiliki tulang daun lebar, sejajar, pucat di bagian tengah dan memiliki daun berwarna hijau. Bagian batang tumbuhan alang-alang dari pangkal sampai ujung batang berwarna keunguan. Pangkal tunas batang alang-alang terdiri atas ruas-ruas yang pendek. Bunga alang-alang terletak pada tunas dengan satu sampai tiga ruas yang panjang Bunganya bulir majemuk, berwarna putih dengan panjang sekitar 6-28 cm dan mudah diterbangkan oleh angin. Rimpang alang-alang mempunyai serabut yang tumbuh pada ruas-ruas rimpang dan pangkal batang rimpang tersebut berwarna keputihan yang menjalar di bawah tanah mencapai kedalaman 20 cm (Fatmawati *et al.*, 2019: 7).

#### **4. Manfaat alang-alang**

Penggunaan Tanaman Alang-Alang Secara umum alang-alang biasa digunakan sebagai pelindung erosi pada tanah. Bagian lain dari tanaman ini, seperti daun dan batangnya biasa dimanfaatkan oleh masyarakat seperti bahan kerajinan, atap rumah, makanan ternak dan sebagai bahan dasar pembuatan kertas. Sedangkan rimpang alang alang biasanya dimanfaatkan sebagai obat oleh masyarakat. Secara tradisional alang-alang digunakan untuk mengobati panas dalam, diuretik, dan kencing batu (Menkes, 2017). Ekstrak alang-alang (*Imperata cylindrica* L) memiliki aktivitas antibakteri, ekstrak etil asetat memiliki efek bakteriostatik pada *Klebsiella aerogenes*, ekstrak rebusan mendidih rimpang alang-alang efektif terhadap *E. coli* dan ekstrak rebusan efektif terhadap *Enterobacter aerogenes* (Jung dan Shin, 2021: 8-9).

#### **5. Kandungan kimia**

Kebanyakan alang-alang dibasmi menggunakan pestisida saja oleh masyarakat maupun petani, jika dimanfaatkan oleh petani pun hanya dijadikan atap pondok sawah saja, dan hanya bertahan beberapa tahun saja. Kandungan kimia yang terdapat didalam alang-alang mengandung senyawa aktif, steroid, flavonoid 4,8%, terpenoid, alkaloid 1,07% dan tannin (Seniwaty *et al.*, 2009). Penelitian yang dilakukan oleh Aryani *et al.*, (2020: 23) hasil uji metabolit sekunder didapatkan

positif mengandung saponin, alkaloid, terpenoid, flavonoid, steroid dan tanin.

## B. Diare

### 1. Definisi diare

Menurut Amin (2015) Diare atau tinja encer didefinisikan sebagai tinja atau cairan yang tidak teratur saat buang air besar dalam 24 jam dengan frekuensi buang air besar sudah melebihi 3 kali. Jika diare terjadi 2 minggu atau kurang maka disebut diare akut. Jika diare kronik terjadi sepanjang 2 minggu lebih. Tinja terkadang mengandung lendir, nanah dan darah. Gejala terjadinya diare ialah mules, sakit perut, mual, muntah, lemas, dan dehidrasi.

### 2. Etiologi

Amin (2015) menjelaskan beberapa bakteri yang dapat menyebabkan diare seperti *Enteropathogenic E. coli* (EAggEC), *Enteroinvasive E. coli* (EIEC), *Enterohemorrhagic E. coli* (EHEC), *Enterotoxigenic E. coli* (ETEC), *Enteropathogenic E. coli* (EPEC), *Shigella spp.*, *Campylobacter jejuni* (*Helicobacter jejuni*), *Vibrio cholerae* 01, dan *V. cholerae* 0139, *Salmonella* (non-thypoid).

### 3. Klasifikasi dan patofisiologi

**3.1. Klasifikasi.** Diare dapat diklasifikasikan berdasarkan durasinya sebagai diare berkepanjangan/akut (1–13 hari) dan persisten (14 hari atau lebih). Diare yang terjadi lebih dari 14 hari dapat diklasifikasikan lebih lanjut sebagai diare encer yang berkepanjangan/akut dengan tinja yang encer atau cair dengan frekuensi setidaknya tiga kali dalam periode 24 jam atau diare invasif yang berkepanjangan/akut yang berupa darah kotor (berdasarkan riwayat atau pemeriksaan) pada tinja kurang dari 14 hari, biasanya disertai demam (Kalyankar *et al.* 2015: 361).

**3.2. Patofisiologi.** Patofisiologi diare berdasarkan jenis diare antara lain:

**3.2.1. Diare sekretori.** Diare sekretori terjadi ketika ada peningkatan yang signifikan dalam volume keluaran cairan usus yang melebihi kemampuan reabsorpsi epitel gastrointestinal. Penelitian yang awalnya dilakukan pada pasien kolera mengungkapkan bahwa meskipun diare sekretorik pada kolera menyebabkan kehilangan air dan elektrolit yang signifikan melalui feses, usus masih mempertahankan kemampuan untuk menyerap kembali air dan elektrolit karena mekanisme transpor zat terlarut berpasangan Na yang utuh. Sekresi

yang dimediasi klorida dirangsang oleh second messenger pada infeksi diare sekunder *Vibrio cholerae* 01 dan 139, *Shigella*, *Salmonella*, *Escherichia coli* strain dan bakteri patogen lain yang menghasilkan patogen pengikat reseptor enterosit, menyebabkan sekresi yang dimediasi klorida yang dirangsang oleh pembawa pesan kedua (misalnya, cAMP, cGMP, dan kalsium) (Kalyankar *et al.*, 2015: 361).

Penting untuk diketahui bahwa mungkin ada kombinasi diare osmotik dan sekretorik seperti pada kasus Rotavirus di mana terdapat diare sekretorik yang diperantara enterotoksin bersama dengan diare osmotik sekunder akibat enterosit (Kalyankar *et al.*, 2015: 361). Aktivasi yang diinduksi fosforilasi (dengan peningkatan cAMP, cGMP, atau kalsium) dari saluran ini dapat dipicu oleh zat eksogen atau endogen. Mediator eksogen termasuk toksin bakteri seperti toksin kolera atau shiga, atau parasit. Mediator endogen dapat berupa endokrin, seperti: peptida usus vasoaktif atau serotonin, atau dilepaskan oleh sistem kekebalan tubuh, seperti histamin, serotonin, prostaglandin, atau interleukin-1. Terakhir, peningkatan permeabilitas usus karena hilangnya sambungan ketat seluler dapat menyebabkan peningkatan kehilangan cairan usus (Kalyankar *et al.*, 2015: 361).

**3.2.2. Osmotik.** Zat aktif osmotik yang diserap dengan buruk di lumen usus menahan cairan, menarik air dan ion sekunder untuk mempertahankan keseimbangan osmotik dengan cairan tubuh – ini adalah proses utama yang mendasari di balik diare osmotik. Hal ini dapat terjadi secara sekunder akibat defek penyerapan atau defisiensi enzim dari pankreas atau dinding usus yang menyebabkan maldigesti atau malabsorpsi. Gradien osmotik dibuat yang hanya dapat dinetralkan dengan mempertahankan jumlah air yang berlebihan di dalam usus. Contohnya termasuk, malabsorpsi dengan defisiensi laktase bawaan atau didapat, enteropati sensitif gluten (penyakit celiac) dan maldigesti, seperti yang terlihat pada insufisiensi pankreas (Kalyankar *et al.*, 2015: 362).

**3.2.3. Inflamasi.** Gangguan barier gastrointestinal oleh bakteri (*Salmonella*, *E. coli*, *Campylobacter*), virus (rotavirus, coronavirus), dan protozoa (*Cryptosporidium*, *Giardia*) selain penyakit radang usus idiopatik adalah penyebab umum inflamasi diare. Sel imun setelah aktivasi dilepaskan mediator inflamasi dan sitokin yang merangsang sekresi dan mengaktifkan saraf enterik. Fibroblas subepitel menghancurkan membran basal oleh metaloproteinase, enterosit yang

rusak diekstrusi, dan atrofi vili berkembang diikuti oleh hiperplasia kripta regeneratif di usus halus dan kolon. Permukaan ini ditutupi dengan enterosit yang belum matang yang biasanya kekurangan enzim brush border dan transporter yang diperlukan untuk penyerapan nutrisi dan air (Kalyankar *et al.*, 2015: 363).

#### **4. Diagnosa**

Diagnosis pasien dengan infeksi bakteri terhadap diare akut memerlukan pemeriksaan yang akurat. Pasien ditanyakan kondisi pasien, lingkungan tempat tinggal, latar belakang, penggunaan obat misalnya antibiotik, pemeriksaan fisik, kegiatan yang dilakukan dan pemeriksaan lanjutan. Riwayat medis pasien meliputi onset, durasi, frekuensi, perkembangan, jumlah diare, adanya buang air besar berdarah dan muntah. Selain itu, perlu juga memahami riwayat pengobatan, riwayat kesehatan masa lalu, penyakit penyerta, dan petunjuk epidemiologis. Pemeriksaan fisik meliputi berat badan, suhu tubuh, denyut nadi dan pernapasan, tekanan darah, dan pemeriksaan fisik lengkap. 2-4 Diagnosis umum dan pengobatan diare infeksi bakteri akut (Amin, 2015: 505).

Amin, (2015: 505) menjelaskan diagnosis labor diperlukan untuk menentukan perlu pemberian antibiotik atau tidak. Evaluasi pemeriksaan laboratorium pasien dengan dugaan diare infeksius diawali dengan pengecekan tinja. Feses normal tidak ditemukannya sel darah putih, dan jika ada, itu dianggap sebagai tanda peradangan usus besar yang menular dan tidak menular. Sampel harus cepat diperiksa karena neutrofil dapat berganti dengan cepat. Kepkaan leukosit tinja terhadap patogen penyebab inflamasi (Campylobacter, Shigella, dan Salmonella) terdeteksi dalam sampel tinja bermacam-macam, dari 45% hingga 95%, nilai tersebut didapatkan dari jenis penyebab patogen.

Kalyankar *et al.*, (2015: 364) juga menjelaskan untuk diare akut, mempertahankan volume intravaskular yang memadai dan mengoreksi gangguan cairan dan elektrolit lebih diprioritaskan daripada mencari pemicu diare. Pemeriksaan cairan feses kebanyakan tidak dilakukan kepada pasien yang kompeten dengan imun yang datang dalam waktu 24 jam setelah awitan diare akut dan berair. Pengujian laboratorium termasuk: studi tinja, tes darah, pencitraan usus, dan evaluasi imunologi dan serologi diindikasikan pada diare berdarah, demam tinggi ( $> 104^{\circ}\text{F}$ ), penyakit sistemik, diare berat, atau berkepanjangan, riwayat keracunan makanan, riwayat perjalanan ke

luar negeri atau kemungkinan baru-baru ini. dari disfungsi imun. Pemeriksaan laboratorium tambahan, termasuk elektrolit serum, untuk menilai pasien dengan diare akut biasanya tidak diperlukan.

## 5. Tata laksana terapi

Kalyankar *et al.*, (2015: 365) menjelaskan bahwa tata laksana terapi pada diare harus diberikan sesuai dengan gejala dan keadaan diare yang diderita oleh pasien, pada diare dapat dilakukan beberapa terapi berikut dibawah ini:

**5.1. Resusitasi cairan.** solusi rehidrasi oral (ORS) adalah solusi hemat biaya sederhana yang mengandung glukosa dan elektrolit yang dapat digunakan untuk mencegah dan mengobati dehidrasi akibat diare dengan penyebab apa pun di segala usia (Kalyankar *et al.*, 2015: 365).

**5.2. Suplementasi seng.** anak- anak dengan diare menderita karena asupan seng awal yang buruk dengan kehilangan seng bersih yang diperburuk selama periode sakit. WHO dan UNICEF telah merekomendasikan seng untuk pengobatan diare sejak tahun 2004. Bukti menunjukkan bahwa pemberian seng (20 mg per hari sampai diare berhenti) mengurangi durasi, keparahan dan rawat inap yang terkait dengan episode diare pada anak-anak di negara berkembang (Kalyankar *et al.*, 2015: 366).

**5.3. Antibiotik untuk kolera, shigella, dan cryptosporidium,** antibiotik tidak boleh digunakan untuk diare menular yang relatif ringan dan sembuh sendiri untuk meminimalkan perkembangan resistensi obat. Bila diarenya hemoragik, dehidrasi berat, berhubungan dengan tanda dan gejala sistemik yang serius, atau lebih lama dari 5 hari tanpa perbaikan, penggunaan antibiotik sesuai. Sebuah tinjauan oleh Traa dan rekan menilai efektivitas antibiotik yang direkomendasikan WHO – ciprofloxacin, ceftriaxone, dan pivmecillinam – untuk pengobatan disentri, dan menyimpulkan bahwa antibiotik dapat diharapkan menurunkan angka kematian diare akibat disentri lebih dari 99% (Kalyankar *et al.*, 2015: 368).

**5.4. Probiotik,** tinjauan sistematis Cochrane terbaru tentang penggunaan probiotik sebagai terapi tambahan untuk oralit telah menunjukkan bahwa probiotik memperpendek durasi diare dan mengurangi frekuensi tinja tetapi pengamatan tetap tidak meyakinkan karena beberapa percobaan dengan sejumlah kecil peserta. Probiotik yang paling umum digunakan dalam percobaan termasuk

Bifidobacterium, dua genera bakteri asam laktat (Lactobacillus dan Streptococcus) dan ragi *Saccharomyces*. Tidak ada cukup bukti untuk merekomendasikan penggunaannya secara luas saat ini (Kalyankar *et al.*, 2015: 369).

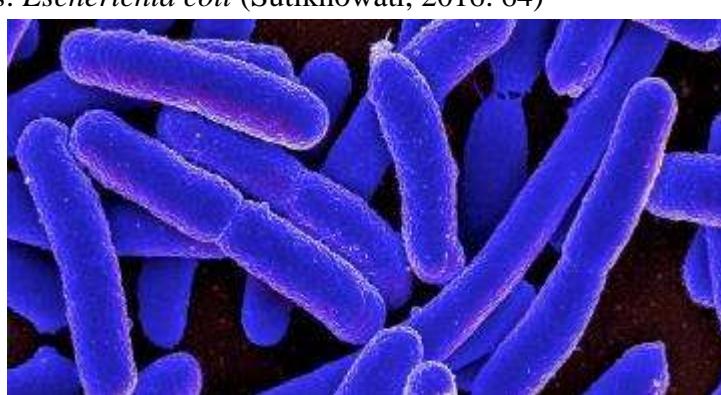
**5.5. Antiemetik**, muntah dapat membatasi keberhasilan oralit dan dapat mengakibatkan peningkatan penggunaan rehidrasi intravena (IV), kebutuhan untuk perawatan gawat darurat yang berkepanjangan dan rawat inap. Tinjauan sistematis baru baru ini mengevaluasi tujuh RCT yang menggunakan ondansetron, metoclopramide, dimenhydrinate, dan deksametason pada anak usia 0-12 tahun. muntah. Antiemetik efektif untuk tatalaksana gastroenteritis pada anak dan berpotensi menurunkan beban morbiditas dan mortalitas akibat diare (Kalyankar *et al.*, 2015: 369).

### C. *Escherichia coli*

#### 1. Klasifikasi bakteri *Escherichia coli*

Domain : Bacteria  
 Kingdom : Eubacteria  
 Phylum : Proteobacteria  
 Class : Gammaproteobacteria  
 Order : Enterobacteriales  
 Family : Enterobacteriaceae  
 Genus : Escherichia

Species: *Escherichia coli* (Sutiknowati, 2016: 64)



Gambar 2. Bakteri *Escherichia coli* ([www.techno.okezone.com](http://www.techno.okezone.com))

#### 1. Definisi bakteri *Escherichia coli*

*Escherichia coli* adalah salah satu jenis utama bakteri Gram-negatif. *Escherichia coli* merupakan bakteri yang sering dibicarakan. Banyak orang tahu *Escherichia coli*, walaupun banyak orang mengetahui nama bakteri tetapi belum banyak juga yang mengetahui

bakteri ini merupakan penyebab infeksi saluran pencernaan terutama diare (Sutiknowati, 2016: 63).

## 2. Morfologi bakteri *Escherichia coli*

Pada tahun 1885, *Theodor Escherich* menemukan *E. coli* dan menamakannya menurut penemunnya. *Escherichia coli* merupakan bakteri berbentuk batang dengan panjang sekitar 2 mikron dan diameter sekitar 0,5 mikron. Volume sel *E. coli* berkisar antara 0,6-0,7 m<sup>3</sup>. Bakteri ini dapat bertahan hidup pada suhu 20-40 °C, dan suhu pertumbuhan terbaik adalah 37 °C, yang termasuk dalam kategori bakteri Gram-negatif. (Sutiknowati, 2016: 64).

## D. Simplisia

### 1. Definisi simplisia

Dalam Farmakope Herbal Indonesia Edisi II (FHI Ed II) dijelaskan simplisia adalah implisia ialah bahan alam yang hanya mengalami proses pengeringan. Proses pengeringan dapat menggunakan cahaya matahari, di udara atau memanfaat oven, suhu oven pada proses pengeringan tidak boleh melebihi 60°C.

### 2. Macam-macam simplisia

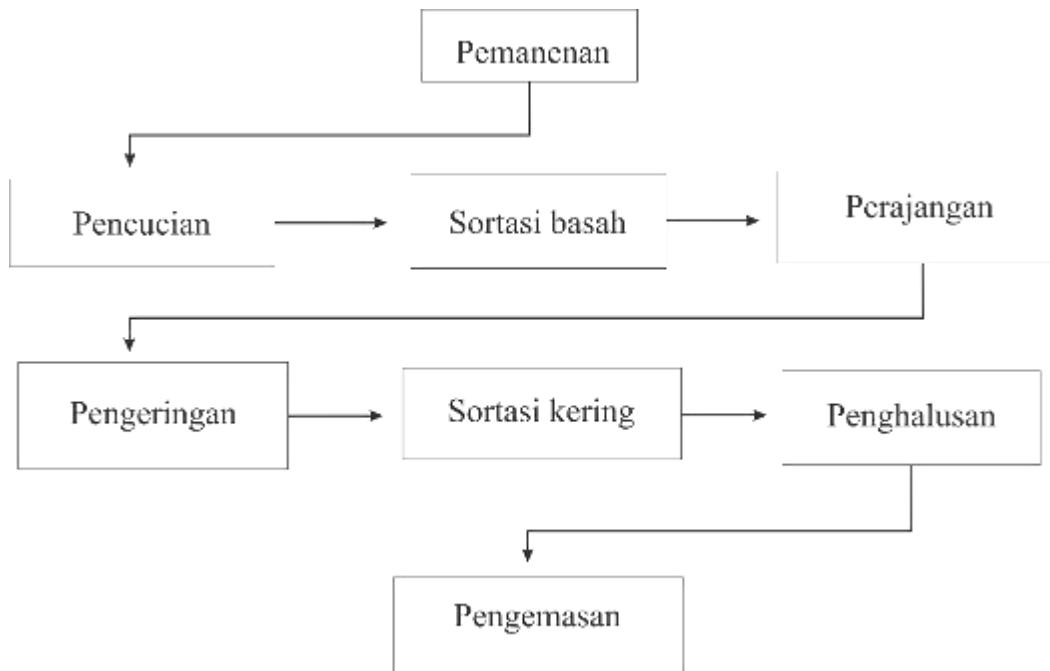
Farmakope Herbal Indonesia Edisi II (FHI Ed II) menyebutkan:

**2.1. Simplisia segar.** simplisia segar adalah tumbuhan segar yang baru dipanen dan belum dikeringkan.

**2.2. Simplisia nabati.** simplisia nabati ialah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tumbuhan.

### 3. Pengolahan simplisia

Sebelum mendapatkan simplisia yang siap diekstraksi perlu dilakukan berbagai proses yang dilakukan, rimpang alang-alang yang telah dikumpulkan dicuci bersih dengan air mengalir ditiriskan, kemudian dirajang untuk mempercepat proses pengeringan, pengeringan dilakukan di ruangan terbuka terhindar langsung dari sinar matahari, setelah kering dilakukan sortasi kering dan di haluskan kemudian lakukan penyimpanan dalam wadah toples dan disimpan pada suhu ruang.



Gambar 3. Skema pembuatan simplisia

### E. Ekstrak

#### 1. Definisi ekstrak

Ekstrak menurut FHI Edisi II adalah sediaan yang dikeringkan, dalam bentuk kental atau cair yang dibuat dengan mengekstraksi simplisia nabati (tanaman yang telah dihaluskan) dengan cara yang sesuai, tanpa pengaruh sinar matahari secara langsung.

#### 2. Ekstraksi dan fraksinasi

Ekstraksi adalah penarikan senyawa atau kandungan dalam simplisia dengan pelarut yang sesuai. Ekstraksi cair: Gunakan pelarut cair untuk memisahkan zat terlarut dari pembawa cairan (pengencer). Campuran pengencer dan pelarut bersifat heterogen (saling bercampur dan tidak saling mengganggu). Jika dipisahkan terdapat dua fase yaitu fase pengencer (raffinate) dan fasa pelarut (ekstrak cair). Fraksinasi adalah penarikan senyawa dari ekstrak kental yang telah diuapkan menggunakan corong pisah dengan dua pelarut yang tidak saling bercampur. Prinsipnya adalah menarik senyawa ekstrak menggunakan perbedaan kepolaran pelarut (Rosati DI, 2019).

#### 3. Ekstraksi

Menurut farmakope herbal edisi II tahun 2017, pembuatan ekstrak dapat menggunakan metode maserasi. Metode penyarian simplisia bisa dilakukan dengan berbagai metode seperti maserasi, perkolasji, sokletasi (counter current).

**3.1. Maserasi.** maserasi adalah proses penyarian simplisia dalam bentuk serbuk dilakukan dengan cara direndam dengan pelarut. Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang berisi zat aktif. Karena perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan larutan di luar sel, zat aktif akan larut dan zat aktif akan didorong keluar. Peristiwa itu terjadi berulang kali.

**3.2. Perkolasi.** perkolası ialah suatu metode penarikan sari simplisia dengan pelarut dengan cara perlahan memasuki pori-pori simplisia di perkolator. Tujuan perkolası adalah untuk menarik zat aktif sepenuhnya, biasanya untuk zat aktif atau senyawa yang tahan panas atau labil. Cairan mengalir melalui bubuk dari atas ke bawah, dan cairan tersebut akan menarik senyawa aktif dari sel yang dilewati hingga membentuk suasana jenuh. pergerakan dari atas ke bawah disebabkan oleh gravitasinya, dan gaya yang dipegang oleh kapiler mengurangi gerakan ini. Gaya-gaya yang berperan dalam perkolası antara lain: gaya gravitasi, viskositas, kelarutan, gaya kapiler, penetrasi, adhesi, difusi, dan tegangan permukaan, dan gesekan (*friction*).

**3.3. Sokletasi (Counter Current).** sokletasi atau Counter Current adalah suatu metode atau proses pemisahan komponen-komponen yang terkandung dalam suatu padatan dengan cara penyaringan berulang-ulang dengan pelarut tertentu, sehingga dapat memisahkan semua komponen yang dibutuhkan. Sokletasi dapat digunakan dalam beberapa pelarut organik. Dengan pemanasan, uap yang dihasilkan setelah pendinginan terus menerus akan membasahi sampel, dan pelarut akan dimasukkan kembali ke dalam sampel secara berkala di dalam labu, dan senyawa dipisahkan.

#### 4. Fraksinasi

Fraksinasi merupakan metode pemisahan antara senyawa polar, semi polar dan non polar dari hasil ekstraksi. Proses fraksinasi dilakukan dengan urutan pelarut non polar, semi polar, dan polar, dengan urutan tersebut senyawa yang bisa terikat akan mengikuti kepolaran pelarut. Keuntungan dari metode ini sehingga proses ekstraksi akan lebih kompleks dan memudahkan pemisahan senyawa zat aktif dari hasil ekstraksi pelarut universal.

## **F. Kromatografi Lapis Tipis**

### **1. Kromatografi**

Kromatografi didefinisikan sebagai metode pemisahan zat atau senyawa menggunakan fase gerak dan fase diam, fase gerak dibiarkan mengalir pada fase diam. Jenis kromatogram dalam analisis kualitatif dan kuantitatif yang digunakan dalam penentuan dan pengujian menurut FHI (Farmakope Herbal Indonesia) adalah kromatografi lapis tipis (KLT), kromatografi gas (KG) dan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT).

### **2. Kromatografi lapis tipis (KLT)**

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan metode pemisahan paling sederhana dimana proses pemisahan dan analisis dilakukan pada bejana tertutup (*Chamber*) yang berisikan fase gerak (Pelarut) dan fase diam (Lempeng KLT). Proses analisis diawali dengan menotolkan sampel pada lempeng KLT, selanjutnya lempeng KLT dimasukkan ke dalam Chamber dan fase gerak akan naik seiring berjalannya waktu, campuran komponen senyawa akan naik mengikuti fase gerak dan akan bergerak, jika fase gerak sudah sampai pada tempat yang diinginkan, fase diam diambil, keringkan dan di deteksi dengan sinar UV (Ultra Violet) (Wulandari, 2011).

### **3. Prinsip kromatografi lapis tipis (KLT)**

Prinsip KLT adalah memisahkan komponen penyusun menurut absorbansi dan partisi, yang ditentukan oleh fase gerak dan fase diam. (Kusnadi dan Devi, 2017: 62). Pemilihan fase diam berdasarkan sifat kimia dimana sifat fisika kimia inilah yang menentukan mekanisme pemisahan dalam KLT. Fase diam pada KLT dapat berupa senyawa anorganik maupun organik, senyawa anorganik yang digunakan misalnya silikon oksida, aluminium oksida, magnesium karbonat, dll. Senyawa organik dapat berupa pati dan selulosa. Plat KLT yang sering digunakan adalah silika gel, selulosa dan alumina (Wulandari, 2011: 132).

Fase diam yang digunakan berfungsi sebagai sorben. Fase gerak atau eluen berfungsi sebagai pelarut, pelarut yang digunakan bisa tunggal atau ganda, fase gerak bergerak didalam fase diam melewati pori-pori dan bergerak karena adanya gaya kapiler. Fase gerak yang digunakan dapat berupa polar, non polar dan semi polar. Penggunaan tersebut didasarkan penarikan senyawa dikehendaki.

#### **4. Keuntungan dan kerugian KLT**

Keuntungan analisis menggunakan KLT adalah beberapa sampel dapat dianalisis secara simultan dengan menggunakan volume fase gerak yang sedikit, lebih hemat waktu, hemat biaya, metode analisis yang ramah lingkungan, metode sederhana dan alat yang minimalis.

Kerugian analisis menggunakan KLT adalah setiap senyawa yang dianalisis membutuhkan baku pembanding, nilai  $R_f$  tidak tepat, dan membutuhkan pereaksi semprot.

### **G. Bioautografi**

#### **1. Definisi bioautografi**

Bioautografi adalah teknik mencari senyawa antimikroba yang baru dengan memanfaat hasil kromatogram pada KLT. Identifikasi memanfaatkan metabolit sekunder pada tumbuhan bisa bersifat sebagai antibakteri, antitumor, antibiotik, dan antijamur.

#### **2. Bidang utama bioautografi**

Bioautografi digunakan untuk mencari potensi senyawa yang berperan sebagai antibiotik baru, antimikroba, antijamur bahkan antitumor. Proses pencarian menggunakan senyawa biologis tumbuhan (Metabolit sekunder) yang kemungkinan berpotensi sebagai senyawa baru yang bisa melawan bakteri patogen, mendeteksi senyawa yang beracun seperti fototoksik dan alfatoksin.

#### **3. Metode bioautografi**

Beberapa jenis metode bioautografi yang digunakan yaitu:

**3.1. Bioautografi kontak atau Difusi agar.** Dalam bioautografi kontak, agen antibakteri berdifusi dari plat KLT. Plat KLT ditempelkan pada agar dibiarkan 15-30 menit supaya senyawa yang menempel pada plat berdifusi, inkubasi. Area antibakteri diamati di tempat zona bening terbentuk pada agar dimana noda KLT menempel. Bioautografi kontak sulit mendapatkan kondisi berdifusi antara plat KLT dan media agar. Dengan menggunakan kromatografi lembaran serat gelas silikat, chromar dapat menghindari kekurangan ini. Prinsip bioautografi kontak adalah agen antibakteri pada plat KLT berdifusi kedalam media agar.

**3.2. Bioautografi Agar-Overlay atau Perendaman.** Dalam bioautografi perendaman, plat KLT direndam dalam media agar cair. Diamkan sampai memadat, kemudian inkubasi akan terlihat zona

bening dan pewarnaan (biasanya dengan impregnasi tetrazol) atau pertumbuhan koloni. Kadang-kadang, sebelum inkubasi, plat ditempatkan pada suhu rendah selama beberapa jam untuk memungkinkan difusi. Agar overlay merupakan kombinasi dari bioautografi perendaman dan bioautografi kontak. Uji dilakukan seperti pada bioautografi kontak dan selama inkubasi plat KLT tetap berada pada lapisan agar. Kerugian bioautografi perendaman adalah larutan uji antibakteri kurang sensitif dikarenakan senyawa kurang berdifusi pada lapisan agar-overlay.

**3.3. Bioautografi langsung.** Dalam bioautografi langsung, plat KLT direndam secara langsung di dalam suspensi bakteri, atau suspensi disemprotkan ke plat. Pelat diinkubasi, dan mikroorganisme berkembang biak di atas plat. Penggunaan gram tetrazolium digunakan untuk visualisasi dan posisi senyawa antibakteri. Gram tetrazolium diubah menjadi formazan berwarna kuat oleh dehidrogenase mikroorganisme hidup. Bakteri yang dibunuh oleh agen antibakteri pada plat KLT menyebabkan tidak ada warna yang dihasilkan pada area yang diwarnai antibakteri dan membentuk apa yang disebut zona hambat warna terang pada latar belakang berwarna.

## H. Uji Sensitivitas Bakteri

### 1. Definisi sensitivitas bakteri

Uji sensitivitas adalah uji sensitivitas bakteri terhadap antibiotik sudah resistensi atau belum.

### 2. Metode uji sensitivitas bakteri

Metode uji yang digunakan antara lain sebagai berikut:

**2.1. Metode dilusi cair atau dilusi padat.** Uji kepekaan bakteri terhadap antibiotik atau cari nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM) merupakan konsentrasi terendah yang masih dapat menghambat atau membunuh pertumbuhan mikroorganisme. Tingkat minimum yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme disebut juga dengan tingkat penghambatan minimum (*Minimum Inhibition Concentration/MIC*). Sampel uji antimikroba pada konsentrasi terkecil menunjukkan zona berwarna bening yang menandakan tidak ada pertumbuhan koloni bakteri disebut konsentrasi hambat minimum (KHM). Pada dasarnya, antibiotik diencerkan untuk mendapatkan konsentrasi tertentu. Pada dilusi cair, setiap konsentrasi antibiotik ditambahkan ke dalam suspensi

bakteri dalam medium cair, sedangkan pada dilusi padat, setiap konsentrasi antibiotik dicampur dengan medium agar, dan bakteri ditanam dalam medium cair. Ada beberapa metode pengenceran, yaitu pengenceran agar dilution test, *Microdilution*, dan *Broth macrodilution*.

**2.2. Metode difusi.** Metode difusi agar (tes *Kirby-Bauer*), yaitu metode difusi menggunakan cakram kertas dengan pengukuran diameter zona bening yang berada di sekitar cakram kertas, diameter zona bening yang mengelilingi cakram kertas merupakan ukuran kekuatan hambatan agen mikroba terhadap bakteri uji (Kandou dan Pandiangan, 2018: 26).

**Tabel 1. Klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri (Mulyadi et al., 2017: 134)**

Diameter zona bening	Respon hambatan pertumbuhan
> 20 mm	Kuat
16-20mm	Sedang
10-16mm	Lemah
<10mm	Kurang efektif

## I. Media

### 1. Definisi

Harti (2015) menyebutkan, media ialah sumber makanan yang digunakan oleh mikroorganisme untuk pertumbuhan dan membentuk koloni.

### 2. Media yang digunakan dalam penelitian

**2.1. Brain Heart Infusion (BHI).** Sebuah media cair untuk pembiakan mikroorganisme (aerob dan anaerob). Medium BHI adalah larutan yang mengandung cairan otak dan jaringan jantung, serta mengandung pepton sebagai sumber protein dan nutrisi lain untuk pertumbuhan bakteri. Media ini dapat digunakan untuk isolasi spesimen klinis pertama (Zimbro et al 2009; Kannan 2016).

**2.2. Mueller Hinton Agar (MHA).** media ini berfungsi sebagai non selektif dan non diferensial sehingga semua bakteri dapat tumbuh pada agar ini. Media ini dapat digunakan untuk menguji sensitivitas suatu antibakteri dari spesimen klinis (Pencheva *et al.* 2018).

**2.3. Endo Agar (EA).** Media yang berwarna merah muda ini merupakan media selektif. Media Endo Agar dapat digunakan untuk membiakkan dan menumbuhkan bakteri yang hidup di usus. Asam yang dihasilkan dari perombakan laktosa dapat dideteksi oleh asetaldehid dan natrium sulfit. Organisme koliform yang dapat

memfermentasikan laktosa dalam media tersebut, akan menghasilkan warna merah gelap dengan kilat logam seperti bakteri *Escherichia coli*, sedangkan bakteri yang tidak dapat memfermentasi laktosa dengan ciri koloni tidak berwarna atau media terlihat transparan (Atlas, 2010).

**2.4. *Sulfide Indole Motility (SIM)*.** Media Sulfide Indole berfungsi sebagai pembentukan sulfida, indol, dan motilitas pada suatu bakteri uji. Media SIM dapat digunakan dalam identifikasi patogen enterik dikarenakan dapat membedakan karakteristik yang khas pada *Enterobacteriaceae* sesuai dengan pembentukan hidrogen sulfida, pembentukan indol, dan motilitas. Reaksi antara ion  $S^{2-}$  dengan  $Fe^{3+}$  akan membentuk  $Fe_2S_3$  atau endapan hitam. Pada bakteri tertentu triptofan dalam media  $H_2S$  dan enzim triptonase akan membentuk indol, ditambahkan reagen erlich akan membentuk para dimetil amino benzaldehid yang berwarna merah. Uji ini dilakukan dengan cara tusukan pada media (Harti, 2015).

**2.5. *Lysine Iron Agar (LIA)*.** Media Lysine Iron berfungsi sebagai pembeda organisme enterik sesuai dengan kemampuan bakteri membentuk sulfida, mendekarboksilasi atau mendeaminasi lisin. Mikroorganisme yang dapat mereduksi Natrium tiosulfat pada media akan membentuk  $H_2S$  yang akan bereaksi dengan ion  $Fe^{2+}$  sehingga terjadi endapan hitam ( $FeS$ ). Deaminasi lisin terjadi jika bakteri dapat menghasilkan aminokaproat sebagai asam karboksilat yang bereaksi dengan ion Fe dan adanya oksigen akan membentuk warna merah dan coklat. Dekarboksilasi lisin terjadi apabila bakteri dapat menghasilkan cadaverine (pentametil diamine) yang memiliki sifat basa. Indikator bromocresol purple dengan pH 5,2-6,8 akan menjadikan media berubah menjadi warna ungu. Bakteri yang tidak dapat mendekarboksilasi lisin tidak dapat meningkatkan pH sehingga media berwarna kuning (Harti, 2015).

**2.6. *Kligler Iron Agar (KIA)*.** Medium Kligler Iron berfungsi sebagai membedakan bakteri *Enterobacteriaceae* yang didasarkan pada kemampuan bakteri tersebut untuk memfermentasikan dekstrosa dan laktosa, untuk membebaskan sulfida. Media KIA mengandung laktosa dan dekstrosa yang memungkinkan diferensiasi spesies hasil enterik dengan ciri perubahan warna indikator pH fenol merah karena terbentuk asam saat fermentasi gula. Kombinasi ferro ammonium citrate dan sodium tiosulfat memungkinkan untuk mendeteksi produksi hidrogen sulfida. Organisme yang tidak dapat

memfermentasi laktosa seperti *Salmonella* dan *Shigella* akan membentuk warna kuning pada daerah miring akibat asam yang dihasilkan dari fermentasi sejumlah kecil dekstrosa. Reaksi tersebut bersifat alkali atau basa karena oksidasi asam (daerah miring warna merah) saat pasokan dekstrosa habis di lingkungan aerobik bagian medium yang miring. Reaksi ini tidak terjadi pada bagian dasar medium karena bersifat anaerobik. Media ini dilakukan dengan cara tusuk dan goresan (Harti, 2015).

**2.7. Sitrat.** Media Sitrat mempunyai prinsip ialah organisme yang bisa memanfaat sitrat sumber energi karbon dan energi untuk metabolisme dengan menghasilkan suasana basa. Uji ini dapat menggunakan media Sitrat-koser berupa medium cair atau medium Sitrat-Simmon merupakan medium padat dengan cara gores. Simmons Citrate agar merupakan media sintetis dengan natrium sitrat sebagai satu satunya sumber karbon dan akan membebaskan ion hidroksida yang ber pH basa, amonium ( $\text{NH}^{4+}$ ) sebagai sumber nitrogen, bromothymol blue sebagai indikator pH (6,0-7,6). Mikroorganisme yang dapat menggunakan sitrat akan menghilangkan medium, menyebabkan pH naik, dan dapat mengubah warna indikator dari hijau menjadi biru. Perubahan warna menunjukkan bahwa mikroorganisme dapat menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon (Harti, 2015).

### **J. Metode kultur bakteri**

Harti (2015) menyebutkan beberapa cara untuk mengisolasi bakteri seperti berikut:

#### **1. Metode cawan tuang (pour plate)**

Ini adalah metode untuk mendapatkan kultur murni dari populasi mikroba campuran dengan mengencerkan spesimen, kemudian menambahkan media yang dicairkan dan didinginkan, dan kemudian diinkubasi. Cara ini membutuhkan waktu yang lama dan bahan yang banyak, namun tidak memerlukan keahlian dan keahlian khusus untuk mengolahnya.

#### **2. Metode cawan gores (streak)**

Merupakan metode yang tidak membutuhkan waktu yang lama dan bahan yang banyak, tetapi membutuhkan keahlian dan keterampilan khusus saat melakukan pekerjaan. Metode ini dilakukan dengan cara menggoreskan biakan suspensi bakteri ke dalam agar yang telah disiapkan. Kelebihan dari metode ini dapat diketahui secara cepat

jika terdapat kontaminasi bakteri, tetapi kelemahan metode ini hanya dapat digunakan untuk menumbuhkan bakteri aerob saja. Jika teknik menggores baik maka akan didapat bakteri yang terpisah antara satu dengan yang lain.

### **3. Metode Perataan (spread plate method)**

Metode ini dapat digunakan untuk uji sensitivitas suatu mikroorganisme tertentu terhadap agensia kimia. Suspensi biakan bakteri diratakan pada permukaan lempeng agar menggunakan lidi steril.

### **4. Metode titik (Spot method)**

Biakan bakteri diinokulasikan hanya pada satu titik di permukaan media lempeng agar atau agar miring, media ini digunakan untuk inokulasi kapang.

### **5. Metode tusukan (Deep method)**

Biakan bakteri dimasukkan secara lurus pada agar dengan jarum ent, metode ini digunakan untuk mengetahui motilitas suatu bakteri.

### **6. Metode pencelupan**

Metode ini menggunakan media cair, biakan bakteri diinokulasikan menggunakan jarum inokulan.

## **K. Sterilisasi**

Sterilisasi ialah langkah membebaskan benda alat atau ruangan dengan cara menghilangkan semua mikroorganisme yang dapat menyebabkan kontaminasi (Meliawaty, 2012: 147).

Kemenkes RI (2020) menyebutkan beberapa cara sterilisasi, sterilisasi uap, sterilisasi panas kering, sterilisasi gas, sterilisasi radiasi ion, dan sterilisasi penyaringan.

### **1. Sterilisasi Uap**

Proses sterilisasi dengan panas uap thermal bertekanan tinggi dalam wadah tertutup rapat yang disebut autoklaf dilakukan selama 15 menit dengan suhu 120°C. Sterilisasi ini merupakan metode yang paling banyak digunakan.

### **2. Sterilisasi Panas Kering**

Proses sterilisasi dengan oven, dilengkapi dengan pengalir udara yang kemudian udara tersebut disaring, panas yang dihasilkan merupakan panas radiasi yang kemudian disebarluaskan ke seluruh

permukaan dengan sensor, suhu yang digunakan adalah 160°C selama 2 jam.

### **3. Sterilisasi Gas**

Sterilisasi gas dilakukan jika bahan tidak tahan panas uap dan panas kering, etilen oksida merupakan gas yang sering digunakan untuk sterilisasi. Kekurangan dengan gas etilen oksida adalah sangat mudah terbakar, bila bercampur dengan gas inert akan menyebabkan toksitas dan adanya residu toksik di dalam alat dan bahan yang disterilkan.

### **4. Sterilisasi Radiasi Ion**

Perkembangan zaman membawa kepada kemajuan salah satunya proses sterilisasi. Proses sterilisasi radiasi ion digunakan bila tidak tahan panas dan kecemasan pada penggunaan gas etilen oksida. Sterilisasi ini digunakan untuk bahan obat dan produk akhir dengan keuntungan menggunakan metode ini adalah reaktivitas kimia rendah, residu rendah, dan residu dapat diukur.

### **5. Sterilisasi Penyaringan**

Sterilisasi penyaringan digunakan untuk larutan yang tidak tahan terhadap pemanasan sehingga dilakukan dengan bahan yang dapat menyaring mikroorganisme sehingga bisa dipisahkan secara fisik. Ukuran alat yang digunakan adalah sangat kecil sehingga mampu menahan 100% mikroorganisme dengan biakan  $10^7$ .

## **L. Landasan Teori**

Diare merupakan penyakit yang berhubungan dengan tingkat derajat lingkungan dan kesehatan, faktor lingkungan menentukan seberapa besar mikroorganisme dapat menyebar kepada manusia. Untuk itu perlu diperhatikan saluran pembuangan, saluran air, makanan dan sumber air minum (Dini, *et al*, 2015: 454). Ada banyak bakteri yang menyebabkan kontaminasi penyebab diare salah satunya adalah *Escherichia coli*.

*Escherichia coli* adalah bakteri yang terdapat pada saluran pencernaan baik manusia atau hewan. Bakteri ini berperan dalam usus sebagai penjaga sistem pencernaan. Namun, bila mengkonsumsi air atau makanan yang terkontaminasi *E. coli* dapat menyebabkan diare. *Escherichia coli* dapat menyebar melalui air, makanan, hewan, dan bahkan manusia (Sumampouw, 2018: 105)

Mulyadi *et al.*, (2017: 133) menjelaskan sampel daun alang-alang (*Imperata cylindrica L*) yang dimaserasi dengan etanol dilakukan uji aktivitas antibakteri, bakteri yang digunakan dalam uji tersebut adalah *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* sebagai bakteri gram negatif dan *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* sebagai bakteri gram positif. Konsentrasi yang digunakan dalam penelitian mulyadi adalah 7% (konsentrasi terkecil) mampu menghasilkan diameter zona hambat sebesar 0,03 cm pada *Escherichia coli*, 0,02 cm pada *Pseudomonas aeruginosa*, 0,03 cm pada *Staphylococcus aureus*, dan 0,1 cm pada *Bacillus subtilis*.

Sinurat *et al.*, (2021: 125) senyawa fenolik ekstrak metanol alang-alang (*Imperata cylindrica L*) diujikan pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Senyawa fenolik dibuat konsentrasi 200 ppm, 100 ppm, 50 ppm dan 25 ppm, hasil uji menunjukkan diameter zona hambat sebesar 10,6 mm pada konsentrasi 200 ppm, 10,2 mm pada konsentrasi 100 ppm, 9,8 mm pada konsentrasi 50 ppm dan 9,4 mm pada konsentrasi 25 ppm, hasil diameter zona hambat tersebut diujikan pada bakteri *Staphylococcus aureus*. Konsentrasi yang sama diujikan pada bakteri *Escherichia coli* dengan hasil diameter zona hambat 10,9 mm, 10,4 mm, 10,1 mm, 9,8 mm dengan konsentrasi berturut-turut yaitu 200 ppm, 100 ppm, 50 ppm dan 25 ppm.

Ekstraksi dilakukan selama 2x24 jam, terhindar dari cahaya langsung, ekstrak dan fraksi rimpang alang-alang (*Imperata cylindrica L*), ekstraksi dilakukan dengan pelarut etanol 70% dan fraksi dilakukan dengan n-Heksan, etil asetat, serta fraksi air. Pelarut yang digunakan mampu menarik senyawa yang terkandung dari ekstrak rimpang alang-alang, n-Heksan bersifat non polar mampu mengikat senyawa flavonoid, etil asetat bersifat semi polar mampu mengikat senyawa alkaloid dan air mampu mengikat senyawa polar, senyawa alkaloid dapat larut dalam pelarut n-Heksan dan etil asetat, tetapi sukar larut dalam air (Romadanu *et al.*, 2014: 3). Fraksi n-Heksan mampu mengikat senyawa flavonoid dan alkaloid sehingga fraksi yang paling aktif adalah fraksi n-Heksan.

**M. Hipotesis**

1. Bahwa ekstrak dan fraksi rimpang alang-alang memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*.
2. Dari ekstrak dan tiga fraksi rimpang alang-alang yang paling aktif terhadap bakteri *Escherichia coli* adalah fraksi n-Heksan.
3. Golongan senyawa yang terkandung dalam fraksi teraktif ekstrak rimpang alang-alang (*Imperata cylindrica* L) dengan metode bioautografi memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap *E.coli*.