

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Bakteri *Escherichia coli*

1. Definisi *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan kelompok bakteri yang dapat menyebabkan penyakit infeksi pada saluran cerna manusia dan mikroba yang paling umum digunakan sebagai indikator sanitasi pada makanan yang berasal dari hewan atau produk hewani. *Escherichia coli* tumbuh optimum pada suhu 37°C dengan pH optimumnya 7 (Arivo dan Annissatussholeh, 2017). *Escherichia coli* memiliki suhu maksimum pertumbuhan 40-45°C, di atas suhu tersebut bakteri akan mengalami inaktivasi (Hawa, Susilo, dan Jayasari, 2011).

2. Klasifikasi *Escherichia coli*

Menurut (Darnengsih *et al.*, 2018) Berdasarkan taksonominya *E. coli* diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom : *Bacteria*

Divisio : *Proteobacteria*

Kelas : *Gamma Proteobacteria*

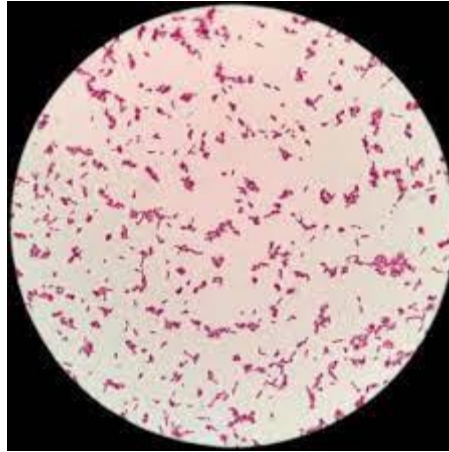
Ordo : *Enterobacteriales*

Famili : *Enterobacteriaceae*

Genus : *Escherichia coli*

Spesies : *Escherichia coli*

3. Morfologi *Escherichia coli*



Gambar 2.1 Morfologi Bakteri *Escherichia coli*
Sumber: Wicaksono, 2016.

Escherichia coli adalah bakteri gram negatif berbentuk batang berukuran 1,0-1,5 μm x 2,0-6,0 μm , berflagel atau non-motil berukuran 0,4-0,7 μm x 1,4 μm dan memiliki simpai, dapat tumbuh dengan atau tanpa oksigen, bersifat anaerobik dan mentolerir defisiensi nutrisi. *E. coli* memiliki panjang sekitar 2 μm , diameter 0,7 μm , lebar 0,4-0,7 μm . Dan membentuk koloni yang bundar, cembung, dan halus dengan tepi yang nyata (Hidayati dkk, 2016).

Sifat biokimia lain dari *E. coli* adalah kemampuan membentuk indol, fermentasi sitrat rendah, negatif dalam analisis urease. Bakteri *E. coli* biasanya hidup di saluran pencernaan manusia atau hewan. Secara fisiologis *E. coli* mampu bertahan dalam kondisi lingkungan yang keras, *Escherichia coli* tumbuh baik di air tawar, air laut atau tanah (Rahayu, Nurjanah dan Komalasari, 2018).

4. Patogenesis *Escherichia coli*

Escherichia coli adalah salah satu bakteri usus dan merupakan anggota mikrobiota usus normal. Bakteri ini biasanya tidak bersifat patogen dan berperan dalam fungsi normal dan nutrisi di usus. Bakteri menjadi patogen ketika berada di luar usus, yaitu di lokasi normalnya atau di tempat lain di mana flora normal jarang ditemukan (Lestari, Noverita dan Permana, 2020). Bakteri ini menjadi patogen jika jumlahnya meningkat di saluran cerna atau jika bakteri tersebut berada di luar saluran cerna (Hutasoit, 2020). Berdasarkan patogenisitasnya, *E. coli* dibagi menjadi enam jenis: enterotoksigenik *E. coli* (ETEC), enteropatogenik *E. coli* (EPEC), enterohemoragik *E. coli* (EHEC), enteroinvasif *E. coli* (EIEC), enteroagregatif *E. coli* (EAEC), dan difusi adheren *E. coli* (DAEC) (Rahayu, Nurjanah dan Komalasari, 2018).

Enterotoksigenik *Escherichia coli* (ETEC) penyebab diare perjalanan, Enteropatogenik *Escherichia coli* (EPEC) penyebab diare, yang relatif jarang terjadi pada orang dewasa dan biasanya menyerang anak di bawah usia dua tahun, dan Enteroinvasive *Escherichia coli* (EIEC) penyebab diare dengan demam (Gitaswari dan Budayanti, 2019). Enteroaggregative *E. coli* (EAEC) adalah strain *E. coli* yang berhubungan erat dengan diare akut pada anak, dan penyebab diare kedua setelah ETEC adalah difusi adhesif *E. coli* (DAEC) *Escherichia coli* keenam (Rahayu, Nurjanah dan Komalasari, 2018).

B. Daun Kelor

1. Definisi Daun Kelor

Tanaman kelor (*Moringa oleifera*) yang terdapat di beberapa daerah di Indonesia seperti Aceh, Sulawesi, Kalimantan dan Kupang merupakan salah satu tanaman yang banyak terdapat di berbagai daerah di Indonesia. Sebagai tanaman pangan tropis, kelor tampaknya memiliki nilai gizi, terapeutik, pertanian, industri, dan sosial ekonomi yang tinggi. Karena *Moringa oleifera* dikenal sebagai tanaman yang memiliki banyak manfaat bagi kesehatan seluruh bagian tubuh, maka dikenal sebagai “Tanaman Ajaib”. Sifat antiscorbutic, antiirritant, antitumor, antibakteri, antihipertensi, antioksidan, anti-inflamasi, radioprotektif dan diuretik semuanya ditemukan di daun. Banyak ahli telah merekomendasikan *Moringa oleifera* sebagai terapi pengobatan atau terapi komplementer (Nurul et al., 2020).

2. Klasifikasi Daun Kelor

Moringa oleifera di klasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Subdivisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Dicotyledoneae</i>
Ordo	: <i>Brassicales</i>
Familia	: <i>Moringaceae</i>
Genus	: <i>Moringa</i>
Spesies	: <i>Moringa oleifera Lamk.</i> (Wahyudi & Nurhaedah, 2017).

3. Morfologi Daun Kelor



Gambar 2.2 Daun Kelor (*Moringa oleifera L*)

Daun kelor (*Moringa oleifera L*) merupakan tanaman yang tumbuh dengan tinggi mencapai 7-11 m. Merupakan tanaman yang berbatang dan termasuk jenis batang berkayu, sehingga batangnya keras dan kuat. Banyak orang yang menggunakan tanaman ini sebagai tanaman pagar, ada juga yang menggunakan daun kelor sebagai sayuran pengganti bayam.

Ciri-ciri dari tanaman ini adalah memiliki batang kayu yang tegak, bulat dan bercabang, bewarna putih dan banyak bercak hitam pada batangnya. Daun kelor merupakan daun majemuk, panjang 20-60 cm, berbentuk lonjong, tepi rata dan licin, berwarna hijau dengan tepi berlekuk dan sirip pada permukaannya. Permukaan daun kelor bagian atas dan bawah terasa lembut dan halus.

Bunga kelor tergolong bunga majemuk yang berbentuk malai. Bunganya terletak di ketiak daun, panjang 10-30 cm, kelopak daun berwarna hijau, benang sari dan putik kecil, dan mahkota berwarna putih. Keistimewaan bunga kelor adalah kelopaknya berwarna putih agak krem dan mengeluarkan aroma khas. Tanaman ini memiliki buah berbentuk polong panjang. Buah kelor memiliki biji

yang berisi 15-25 biji. Tanaman kelor ini memiliki akar tunggang berwarna putih. Akarnya bisa tumbuh seperti lobak. Perbanyakan bisa dilakukan dengan dua cara yaitu secara generatif (biji) dan vegetatif (stek batang). Tanaman kelor dapat tumbuh dimana saja, baik di dataran rendah maupun di dataran tinggi, dengan ketinggian ± 1000 mdpl. Tanaman ini banyak ditanam sebagai pembatas atau pagar di pekarangan rumah atau lapangan.

4. Kandungan Daun Kelor

Setiap bagian dari tanaman kelor merupakan gudang nutrisi penting dan antinutrien. Salah satu bagian tanaman kelor yang dimanfaatkan yaitu daun kelor. Daun kelor kaya akan mineral seperti kalsium, kalium, magnesium, besi dan tembaga. Vitamin seperti beta-karoten, vitamin A, vitamin B seperti asam folat, piridoksin, asam nikotinat, serta vitamin C, D dan E. Menurut Rahayu dan Nurindahsari (2019) kandungan zat gizi dalam daun kelor memiliki peran penting untuk tumbuh kembang anak diantaranya protein, kalsium, dan vitamin A. Kandungan zat gizi pada ekstrak daun kelor lebih tinggi dibandingkan daun kelor basah. Kandungan gizi pada daun kelor akan mengalami peningkatan kuantitas salah satunya vitamin C jika dikonsumsi setelah dikeringkan dan dijadikan tepung.

Penelitian yang telah dilakukan (Nurul et al., 2020) memberitahukan bahwa dalam daun kelor (*Moringa oleifera*) ada senyawa flavonoid, tanin, terpenoid, alkaloid, dan saponin). Cara kerja utama senyawa saponin pada permukaan sel bakteri adalah dengan menurunkan tegangan, yang menyebabkan peningkatan permeabilitas sel, yang mengarah pada pembekuan

sel dan pelepasan bahan kimia intraseluler yang dapat menyebabkan kematian sel. Dengan menempel pada protein adhesi pada bakteri, senyawa tanin merusak reseptor permukaan bakteri, yang menghambat sintesis protein yang diperlukan untuk pembentukan dinding sel bakteri dan mengurangi kemampuan bakteri. Senyawa flavonoid ini berfungsi sebagai perusak lisosom, mikrosom, dan dinding sel bakteri yang bisa mengakibatkan bakteri susah untuk menempel pada permukaan (Widiani & Pinatih, 2020).

5. Manfaat Daun Kelor

Berkaitan dengan kesehatan beberapa unsur yang terdapat pada bagian tanaman kelor dapat memberikan dampak kesehatan yang positif, seperti pengobatan kanker, kandungan antioksidan dan kalium daun kelor yang tinggi sangat membantu dalam pengobatan kanker. Sementara kalium membantu menghilangkan sel kanker, antioksidan sangat membantu dalam mencegah pertumbuhan sel kanker (Wahyudi & Nurhaedah, 2017).

C. Ekstraksi

Ekstraksi atau penyairan merupakan proses pemisahan senyawa kimia dari simplisida dengan menggunakan pelarut yang sesuai, metode ekstraksi yang digunakan tergantung pada jenis, sifat fisik dan sifat kimia kandungan senyawa yang akan diekstraksi (Hanani, 2015). Pemilihan metode dilakukan dengan memperhatikan antara lain sifat senyawa, pelarut yang digunakan, dan alat yang tersedia (Hanani, 2016).

Maserasi adalah cara ekstraksi simplisia dengan perendaman suatu bahan dalam pelarut pada suhu kamar sehingga kerusakan atau degradasi metabolit dapat diminimalisasi. Pada maserasi, terjadi proses keseimbangan konsentrasi antara larutan dari luar dan dalam sel sehingga diperlukan penggantian pelarut secara berulang. Maserasi dilakukan dengan cara pengadukan. (Hanani, 2016).

Keuntungan metode maserasi adalah peralatan dan cara kerja yang mudah dan sederhana untuk dilakukan. Metode maserasi ini tidak dapat dipergunakan untuk mengekstrak senyawa yang dilakukan dengan cara pemanasan karena tidak tahan panas. Proses maserasi ekstrak cair serbuk sampel yang kontak dengan pelarut dan disimpan dalam toples tertutup dalam waktu 1x24 jam (Mahardika, 2018).

D. Pelarut

Pelarut merupakan cairan yang mampu melarutkan zat lain yang umumnya berbentuk padatan tanpa mengalami perubahan kimia. Pengelompokan pelarut yang digunakan dalam ekstraksi berdasarkan kepolarannya yaitu sebagai berikut :

1. Pelarut Polar

Pelarut dengan tingkat kepolaran tinggi merupakan pelarut yang cocok baik untuk semua jenis zat aktif (universal) karena di samping menarik senyawa yang bersifat polar, pelarut polar juga tetap dapat menarik senyawa-senyawa

dengan tingkat kepolaran lebih rendah. Contoh pelarut polar diantaranya : Air, metanol, etanol, asam asetat.

Etanol dipertimbangkan sebagai cairan penyari karena lebih efektif, kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% ke atas, tidak beracun, netral, absorpsinya baik, etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, panas yang diperlakukan untuk pemekatan lebih sedikit. Etanol dapat melarutkan alkaloida basa, minyak menguap, glikosida, kurkumin, kumarin, anrakinon, flavanoid, steroid, dammar dan klorofil. Lemak, tanin dan saponin hanya sedikit larut. Dengan demikian zat pengganggu yang larut hanya terbatas (Hayatus dan Nurhasnawati, 2015).

2. Pelarut Semipolar

Pelarut semipolar memiliki tingkat kepolaran yang lebih rendah dibandingkan dengan pelarut polar. Pelarut ini baik digunakan untuk melarutkan senyawa-senyawa yang bersifat semipolar dari tumbuhan. Contoh pelarut semipolar adalah : Aseton, etil asetat, DMSO dan dikloro metan.

Etil asetat merupakan pelarut semi polar yang dapat melarutkan senyawa flavonoid seperti mangiferin. Penggunaan pelarut yang bersifat semipolar ini diharapkan dapat menarik lebih banyak metabolit sekunder sehingga dapat menghasilkan zona hambat yang lebih besar (Arifin, Khotimah dan Rahmayanti, 2018).

3. Pelarut Nonpolar

Pelarut ini baik digunakan untuk menarik senyawa-senyawa yang sama sekali tidak larut dalam pelarut polar seperti minyak. Contoh pelarut non polar yaitu n-heksana, kloroform, dan eter. Dalam menentukan dan memilih pelarut yang baik dalam proses ekstraksi, biasanya didasarkan pada interaksi antara zat terlarut dengan pelarut yang digunakan.

E. Aktivitas Antibakteri

1. Definisi Antibakteri

Konsentrasi minimum agen antibakteri yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan atau kematian mikroba dikenal sebagai aktivitas antibakteri. Istilah "MIC" (*Minimum Inhibition Concentration*) umumnya digunakan untuk merujuk pada nilai yang dihasilkan oleh aktivitas tersebut. Agen antibakteri diklasifikasikan sebagai bakterisida, bakteristatik atau bakteriolitik, tergantung pada bagaimana pengaruhnya terhadap aktivitas kultur bakteri yang dibudidayakan. Penghambatan bakteristatik sintesis protein pengikat ribosom, bakteri ini memiliki beberapa jenis aktivitas antibakteri. Agen bakterisidal kemudian dapat membunuh bakteri tanpa merusak sel karena berikatan dengan target dan tidak dapat dihancurkan dengan pengenceran. Bakteriolisis, yang memecah dan membunuh sel dengan melepaskan komponen sitoplasma, mengandung zat bakterisida. Penisilin dan antibiotik lainnya dapat menghentikan kerusakan membran sitoplasma yang terjadi saat dinding sel menjadi agen bakteriolitik. Bakteri gram positif dapat rusak, sedangkan bakteri gram negatif biasanya menunjukkan resistensi yang

lebih besar. Ini mungkin karena toksisitas atau kurangnya daya tampung atau kapasitas inang. Namun, dimungkinkan untuk menggunakan dan memodifikasi antibiotik alami untuk meningkatkan efektivitasnya (Andini, 2020).

Berikut ini adalah daftar mekanisme kerja masing-masing jenis antibakteri untuk menghancurkan dan menghilangkan kehidupan mikroorganisme :

a. Mencegah fungsi sel membran

Nutrisi dan produk metabolisme diangkut melintasi membran oleh protein spesifik membran yang bergerak lambat. Karena efeknya pada membran, agen antibakteri dapat merusak kehidupan sel bakteri.

b. Memblokir dinding sel buatan

Dinding sel sangat penting untuk menjaga integritas struktural bakteri. Akibatnya, bentuk dan struktur sel dipengaruhi oleh senyawa-senyawa yang dapat memecah dan merusak dinding sel sehingga sel bakteri mati.

c. Menghambat sintesis protein

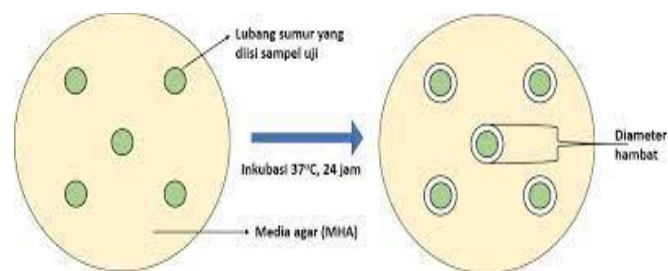
Senyawa antibakteri juga dapat menghambat sintesis protein. Hasil zona bening atau zona bening dapat digunakan untuk menentukan konsentrasi agen antibakteri dalam studi persiapan di mana bakteri tumbuh..

d. Mengurangi produksi asam nukleat

Selama proses replikasi DNA, sel bakteri mengalami siklus terpenting. Dengan mengganggu metabolisme asam nukleat, berbagai agen antibakteri dapat mengganggu dan mempengaruhi semua tahapan proses reproduksi sel bakteri. (Febrianasari, 2018).

2. Pengamatan Diameter Zona Hambat

Diameter zona hambat atau zona bening yang dihasilkan oleh aktivitas antibakteri menentukan luas pengukuran dengan penggaris atau jangka sorong. Gambar di bawah ini ilusi metode sumuran untuk melihat zona hambat antibakteri



Gambar 2.3 Ilusi Metode Sumuran

3. Pengukuran Zona Hambat

Dengan mengukur luas zona bening yang terbentuk pada tepi media NA. pemantauan dan perhitungan luas zona bening dilakukan setelah 24 jam diinkubasi dari waktu inokulasi bakteri. Rata-rata zona hambat dilihat penggolongan kekuatan antibakterinya dari daya hambat yang diperoleh ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera L*) digolongkan berdasarkan dengan Davis dan Stout, 1971 dalam sitasi (Radiena, Moniharapon and Setha, 2019).

Tabel 2.1 Klasifikasi Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri

Diameter Zona Hambat (mm)	Daya Hambat Pertumbuhan
≤ 5 mm	Lemah
5 – 10 mm	Sedang
10 – 20 mm	Kuat
≥ 20 mm	Sangat kuat

(Radiena, Moniharapon and Setha, 2019).

F. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri digunakan untuk menentukan apakah agen antibakteri kemungkinan dapat dihambat terhadap bakteri uji (Widyaningsih and Nugrahani, 2019). Terbentuknya zona hambat menunjukkan indikasi adanya aktivitas antibakteri (Maryadi, Yusuf and Farida, 2017). Metode yang biasa digunakan untuk menguji aktivitas antimikroba adalah metode difusi dan dilusi (Zada, 2021).

1. Metode Difusi

Difusi merupakan metode untuk mengetahui aktivitas antibakteri berdasarkan difusi zat antibakteri pada media bakteri. Dalam metode ini, pengukuran didasarkan pada jangkar atau daerah transparan pada (Hidayah *et al.*, 2018). Berikut macam-macam metode difusi :

a) Metode Difusi Cakram (*Kirby -bauer*)

Metode difusi cakram dilakukan dengan menggunakan kertas cakram sebagai media untuk menyerap bahan antimikroba yang jenuh dengan bahan uji. Kemudian plate paper diletakkan pada permukaan agar yang telah diinokulasi mikroorganisme uji, kemudian diinkubasi pada suhu 35°C selama 18-24 jam. Daerah bening atau daerah sekitar pelat kertas diamati untuk menunjukkan ada tidaknya pertumbuhan mikroba. Diameter zona atau zona bening sebanding dengan jumlah bakteri uji yang ditambahkan pada plat kertas (Nurhayati, Yahdiyani and Hidayatulloh, 2020).

b) Metode Sumuran

Metode sumuran dilakukan dengan mengebor lubang tegak lurus pada agar padat yang diinokulasi bakteri uji. Jumlah dan posisi lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang tersebut diisi dengan sampel untuk pengujian. Setelah inkubasi, amati pertumbuhan bakteri untuk melihat apakah ada zona hambat di sekitar lubang (Nurhayati, Yahdiyani and Hidayatulloh, 2020).

2. Metode Dilusi

Metode dilusi cair digunakan untuk mengukur KHM (Kadar hambat minimum), sedangkan metode pengenceran padat digunakan untuk menentukan KBM (Kadar Bakterisidal Minimum). Menurut (Fitriana, Fatimah and Fitri, 2020) metode dilusi dibagi menjadi 2, yaitu :

a. Metode Dilusi Cair /*broth dilution test (serial dilution)*

Metode ini mengukur MIC (*Minimum Inhibitory Concentration* atau Kadar Hambat Minimum, KHM) dan MBC (*Minimum Bactericidal Concentration* atau Kadar Bunuh Minimum, KBM). Caranya yaitu dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair ditambahkan dengan mikroba uji. Larutan uji agen antimikroba terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM. Larutan yang ditetapkan sebagai KHM selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan mikroba uji ataupun agen antimikroba, dan

diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai KBM.

b. Metode Dilusi Padat

Metode ini digunakan untuk menentukan KBM (Kadar Bakterisidal Minimum) dengan menawarkan manfaat pengujian beberapa mikroorganisme uji hanya menggunakan satu konsentrasi senyawa antimikroba yang sedang diuji. (Yusmaniar & Wardiyah, 2017).

G. Hipotesis

- a. Ho : Tidak adanya aktivitas antibakteri dari ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera L*) terhadap bakteri *Escherichia coli* dari beberapa tingkat kepolaran pelarut.
- b. Hi : Adanya aktivitas antibakteri dari ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera L*) terhadap bakteri *Escherichia coli* dari beberapa tingkat kepolaran pelarut.