

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Penyakit Diare

Diare merupakan kondisi dimana meningkatnya jumlah seseorang melakukan buang air besar karna adanya infeksi. Seseorang dikategorikan mengalami diare jika jumlah tinja yang di keluarkannya melebihi 10 ml/kg perhari. Feses memiliki konsistensi yang sangat encer, dengan kadar cairan tinggi, dan frekuensi melebihi 3 kali sehari (Anggraini & Kumala, 2022). Diare (*diare heal disease*) berasal dari kata *diaroia* (Bahasa Yunani) yang berarti mengalir terus, diare merupakan keadaan buang air besar dalam keadaan abnormal dan lebih cair dari biasanya dan dalam jumlah tiga kali atau lebih dalam periode 24 jam (Asda & Sekarwati, 2020).

Diare adalah suatu kondisi yang ditandai dengan frekuensi dan konsistensi tinja yang tidak normal. Biasanya ditandai dengan tinja yang lebih encer, seringkali berair, dan seringkali disertai dengan frekuensi buang air besar yang meningkat sebanyak > 3 kali per hari. Diare biasanya merupakan mekanisme pertahanan tubuh untuk mengeluarkan bahan beracun atau mengatasi infeksi dalam sistem pencernaan. Diare yang berkepanjangan atau parah dapat menyebabkan dehidrasi dan ketidakseimbangan elektrolit yang berpotensi mengancam nyawa, terutama pada anak-anak (WHO, 2017).

Menurut Debie dan Olivitari (2022), berdasarkan durasinya diare dikelompokkan menjadi:

a. Diare akut

Diare akut dikenal dengan istilah *gastroenteritis* yang merujuk pada diare yang muncul dengan cepat dan dapat disertai gejala lain seperti mual, muntah, demam, serta nyeri perut yang berlangsung tidak lebih dari 14 hari.

b. Diare kronik

Diare Kronik merupakan keluarnya feses cair beserta elektrolit yang signifikan. Dengan peningkatan jumlah buang air besar yang sering terjadi, tekstur feses menjadi lebih lembek, atau jumlah tinja yang semakin meningkat dengan jarak waktu yang lebih dari 14 hari.

c. Diare persisten

Diare persisten adalah kondisi diare yang berlangsung selama ≥ 14 hari dengan tinja cair atau lembek secara terus-menerus. Kondisi ini umumnya disebabkan oleh infeksi yang tidak sembuh, kerusakan mukosa usus, serta gangguan penyerapan nutrisi.

B. Tumbuhan Daun Sirih Hijau (*Piper betle linn*)

1. Definisi tumbuhan daun sirih hijau (*Piper betle linn*)

Tumbuhan Sirih hijau (*Piper betle linn*) merupakan salah satu anggota dari genus *Piper* dalam famili *Piperaceae* yang tersebar luas di wilayah tropis dan subtropis, termasuk Indonesia. Tanaman ini dikenal sebagai tumbuhan merambat yang banyak dimanfaatkan untuk kebutuhan tradisional dan fitofarmaka (Nayaka, 2021). Daun sirih hijau (*Piper betle linn*) mudah dijumpai di berbagai daerah, dan berbagai hasil penelitian menunjukkan bahwa kandungan kimia yang terdapat di dalamnya memiliki banyak manfaat bagi kesehatan. Masyarakat lokal di Indonesia memiliki tradisi menyirih atau mengunyah daun sirih hijau (*Piper betle linn*), dan

telah menjadi bagian dari kebiasaan budaya turun-temurun. Masyarakat percaya bahwa dengan menyirih dapat memperkuat gigi, menyegarkan nafas, dan menjaga kesehatan mulut (kamisorei, 2017). Tradisi menyirih dianggap sebagai keramahan dan persaudaraan, dimana pada suatu kegiatan yang menawarkan sirih dianggap sebagai bentuk penghormatan kepada tamu (Nayuf, 2022). Tumbuhan daun sirih hijau (*Piper betle linn*) dikenal memiliki manfaat sebagai obat herbal atau ramuan, tanaman upacara adat, dan konsumsi sehari-hari (Januarti dkk., 2019). Bagian dari tanaman sirih hijau (*Piper betle linn*) seperti akar, biji dan daun memiliki potensi untuk pengobatan, akan tetapi yang paling sering dimanfaatkan untuk pengobatan adalah daunnya. Daun sirih hijau (*Piper betle linn*) adalah bagian dari tanaman yang banyak digunakan sebagai obat (Hulu dkk., 2022). Daun sirih hijau (*Piper betle linn*) memiliki khasiat sebagai anti radang, antiseptik, antibakteri, penghenti pendarahan, batuk, dan anti nyamuk (Rahmawati dkk., 2020).

2. Klasifikasi tumbuhan daun sirih hijau (*Piper betle linn*)

Tumbuhan daun sirih tergolong spesies *Piper betle linn* yang termasuk dalam famili tumbuhan *piperaceae*. Berdasarkan Mauludiyah (2024) daun sirih hijau (*Piper betle linn*) dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

<i>Kingdom</i>	: <i>Plantae</i>
<i>Divison</i>	: <i>Magnoliophyta</i>
<i>Class</i>	: <i>Magnoliopsida</i>
<i>Ordo</i>	: <i>Piperales</i>
<i>Family</i>	: <i>Piperaceae</i>
<i>Genus</i>	: <i>Piper</i>
<i>Species</i>	: <i>Piper betle linn</i>



Gambar 1. Tumbuhan Daun Sirih Hijau (*Piper betle linn*)

(Sumber: Dokumentasi pribadi., 2025)

3. Morfologi tumbuhan daun sirih hijau (*Piper betle linn*)

Berdasarkan penelitian Yuliana (2023) menjelaskan tumbuhan daun sirih hijau (*Piper betle linn*) merupakan tumbuhan merambat dengan tinggi berkisar antara 0,5 hingga 8 meter. Batangnya berbentuk bulat, bersulur, beruas, memiliki akar udara, 8 bertekstur halus, dan berwarna coklat hingga kehijauan dengan jarak antar ruas sekitar 2,5–7 cm. Daun sirih hijau (*Piper betle linn*) merupakan daun tunggal dengan tata letak berseling dan berbentuk jantung. Ukuran helaian daun berkisar panjang 5–15 cm dan lebar 4–10 cm. Ujung daun runcing, pangkal daun berlekuk, pertulangan daun melengkung, serta tepi daun rata. Permukaan atas daun berwarna hijau mengkilap, sedangkan permukaan bawah berwarna hijau dan halus. Tangkai daun memiliki panjang 3–7 cm dengan tekstur halus. Daun mengeluarkan aroma khas yang kuat ketika diremas, menandakan adanya kandungan minyak atsiri yang tinggi. Tumbuhan daun sirih hijau (*Piper betle linn*) memiliki bunga majemuk dan berbentuk bulir. Pada bulir panjangnya sekitar 1,5 – 3 cm dan terdapat dua benang

sari yang pendek sedang pada bulir betina panjangnya sekitar 2,56 cm dimana terdapat kepala putik tiga sampai lima buah berwarna putih dan hijau kekuningan. Daun sirih hijau (*Piper betle linn*) memiliki akar bertipe akar panjat, dimana akar daun sirih hijau (*Piper betle linn*) merupakan akar tunggang yang berbentuk bulat dan berwarna coklat kekuningan. Buah tanaman sirih hijau (*Piper betle linn*) merupakan buah buni yang berbentuk bulat dengan ujung yang tumpul, bulir pada buah berbulu, tersusun rapat, dan berwarna kelabu (Putri dkk., 2019).

C. Senyawa Metabolik Sekunder Daun Sirih Hijau (*Piper betle linn*) sebagai Antibakteri

Daun sirih hijau (*Piper betle linn*) merupakan tanaman yang telah terbukti secara ilmiah mengandung senyawa fitokimia seperti flavonoid, saponin, tanin, dan minyak atsiri, yang memiliki sifat aktivitas antibakteri (Carolia dan Noventi, 2016).

1. Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam daun sirih hijau (*Piper betle linn*). Flavonoid berfungsi menetralkan radikal bebas melalui mekanisme penyerapan elektron penghambatan peroksidasi lipid, serta kemampuan mengikat ion logam yang berperan dalam pembentukan spesies oksigen reaktif yang berperan dalam menurunkan stress oksidatif dan mencegah kerusakan seluler (Alam et al., 2023). Berdasarkan penelitian das *et al.* (2019) semakin tinggi kandungan fenolik dan flavonoid total dalam ekstrak maka semakin besar juga aktivitas antioksidan yang dihasilkan sehingga senyawa ini dianggap sebagai komponen utama perlindungan oksidatif pada daun sirih hijau (*Piper betle linn*). Flavonoid juga memiliki aktivitas antibakteri meliputi kerusakan struktur membran sel bakteri, peningkatan permeabilitas membran, penghambatan kerja

enzim esensial dalam proses metabolisme, serta interferensi terhadap sintesis asam nukleat. Mekanisme tersebut berkontribusi terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri gram positif maupun gram negatif, dan telah dibuktikan melalui berbagai studi *in vitro* yang menunjukkan bahwa flavonoid bersama senyawa fenolik lain seperti tanin dan eugenol memberikan efek antimikroba yang kuat pada ekstrak daun sirih (Lubis dkk., 2020).

2. Saponin

Pada daun sirih hijau (*Piper betle linn*) terdapat kandungan saponin yang merupakan senyawa metabolit sekunder yang berperan sebagai agen bioaktif dengan aktivitas antioksidan dan antibakteri. Saponin bekerja dengan menangkap radikal bebas serta menurunkan stress oksidatif melalui mekanisme penghambatan oksidasi lipid dan peningkatan kapasitas penetralan spesies oksigen reaktif (ROS) (Rahmawati *et al.*, 2020). Saponin mampu merusak integritas membran sel bakteri dengan menurunkan tegangan permukaan dan meningkatkan permeabilitas membran sehingga menyebabkan kebocoran komponen intraseluler yang berujung pada kematian sel bakteri (Chakraborty *et al.*, 2018). Kandungan saponin dalam daun sirih hijau (*Piper betle linn*) efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram positif maupun gram negatif, termasuk patogen penyebab infeksi seperti *Escherichia coli* (Utami and Sari, 2021).

3. Tanin

Tanin merupakan senyawa polifenol yang memiliki fungsi sebagai antioksidan, antibakteri, dan antiinflamasi. Tanin adalah senyawa polar yang dapat menghambat enzim ekstraseluler bakteri serta mengganggu substrat metabolik yang dibutuhkan mikroba untuk tumbuh (Widyaningtiyas dkk., 2024). Berdasarkan penelitian

terdahulu kandungan tanin dalam ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle linn*) berkontribusi sebagai antibakteri terhadap berbagai strain, seperti *Escherichia coli* (Zahra dan Maryati, 2023). Ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle linn*) dapat meningkatkan sifat antimikroba sediaan karena tanin memperkuat penghambatan mikroba (Sari dkk., 2024).

4. Minyak Atsiri

Minyak atsiri merupakan suatu zat utama yang memberikan pada tanaman. Minyak atsiri sering disebut minyak menguap (*volatile oils*) dikarenakan sifatnya yang spesifik, yaitu mudah menguap pada temperatur biasa di udara. Minyak atsiri juga disebut minyak eter (*essential oils*) karena minyak atsiri mewakili bau dari tanaman asalnya (Kurniawan dkk., 2017). Minyak atsiri bekerja sebagai antibakteri dengan cara menghambat pembentukan membran atau dinding sel bakteri, sehingga menyebabkan kerusakan atau pembentukan dinding sel yang tidak sempurna. Keberadaan minyak atsiri dapat diidentifikasi dengan senyawa terpenoid, karena terpenoid merupakan komponen utama minyak atsiri yang banyak ditemukan dalam tanaman obat. Skrining fitokimia terpenoid melibatkan reagen dan observasi perubahan warna atau reaksi yang menunjukkan adanya terpenoid dalam ekstrak (Sauli dkk., 2023).

D. Ekstraksi

1. Definisi ekstraksi

Ekstraksi adalah metode pemisahan zat yang bergantung pada perbedaan kelarutan antara dua cairan yang tidak saling bercampur, umumnya melibatkan pelarut organik. Teknik ini digunakan untuk mengisolasi komponen aktif dari tanaman dengan bantuan pelarut spesifik (Salsabila dkk., 2024). Tujuan ekstraksi

adalah mengeluarkan senyawa kimia yang ada dalam bahan simplisia. Proses ekstraksi melibatkan penetrasi pelarut ke dalam matriks padat, pelarutan zat, difusi zat terlarut dari matriks, dan pengambilan zat yang telah terlarut (Zhang and Ye, 2018). Beberapa faktor yang dapat memengaruhi ekstraksi meliputi durasi waktu, temperatur jenis pelarut, rasio bahan terhadap pelarut, serta ukuran partikel (Chairunnisa, Wartini dan Suhendra, 2019).

2. Macam-macam Ekstraksi

Secara umum, metode ekstraksi dibedakan berdasarkan ada atau tidaknya penggunaan pemanasan. Pemanasan tersebut sangat memengaruhi efektivitas perolehan senyawa bioaktif yang dihasilkan (Wang dkk., 2024). Beberapa jenis ekstraksi bahan alam yang umum dilakukan yaitu:

a. Ekstraksi cara dingin

Metode ekstraksi secara dingin adalah metode ekstraksi dengan cara merendam bahan ekstraksi dalam pelarut pada suhu ruang tanpa pemanasan, dengan tujuan untuk menghindari kerusakan atau degradasi senyawa yang sensitif terhadap panas (Wardani dkk., 2023). Ekstraksi secara dingin dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu:

1) Maserasi

Maserasi merupakan teknik ekstraksi yang sederhana, dilakukan dengan merendam bahan simplisia dalam satu jenis pelarut atau campurannya selama periode tertentu pada suhu ruangan, sambil menjaga agar terhindar dari paparan cahaya. Proses ekstraksi berakhir ketika tercapai keseimbangan konsentrasi antara senyawa dalam pelarut dan di dalam sel tanaman. Setelah selesai, pelarut dipisahkan dari sampel melalui penyaringan. Namun, metode maserasi memiliki

beberapa kekurangan utama, seperti waktu yang diperlukan cukup panjang, kebutuhan pelarut dalam jumlah besar, serta kemungkinan bahwa beberapa senyawa sulit diekstraksi pada suhu ruangan (Triyanti dkk., 2025).

2) Perkolasi

Perkolasi merupakan proses penyarian simplisia dengan cara melewati pelarut yang sesuai secara perlahan melalui simplisia dalam sebuah perkolator. Tujuan perkolasi adalah agar senyawa berkhasiat dapat tertarik secara menyeluruh, baik itu senyawa yang tahan maupun tidak tahan terhadap pemanasan. Pada metode ini, cairan penyari dialirkan dari bagian atas ke bawah melewati serbuk, sehingga melarutkan zat aktif yang dilewati hingga mencapai kondisi jenuh. Pergerakan cairan ke bawah terjadi karena pengaruh gaya gravitasi dan tekanan cairan di atasnya, yang dikurangi oleh daya kapiler yang menahan alirannya. Ekstraksi perkolasi yang dilakukan pada suhu ruang (30°C) bertujuan untuk meningkatkan efisiensi proses dengan mengurangi beban pemanasan sekaligus mengendalikan suhu ekstraksi. Peningkatan kelarutan senyawa aktif dalam pelarut dipengaruhi oleh suhu. Pengendalian suhu ekstraksi yang optimal diharapkan dapat meminimalkan variabilitas hasil penelitian, sehingga menghasilkan rendemen yang lebih tinggi (Puspo Aji dkk., 2023)

b. Ekstraksi cara panas

Metode ekstraksi panas digunakan apabila senyawa-senyawa yang terkandung dalam simplisia sudah dipastikan tahan panas (Marjoni, 2024). Metode ekstraksi yang membutuhkan panas yaitu:

1). Refluks

Refluks adalah metode ekstraksi atau sintesis yang digunakan ketika proses melibatkan pelarut volatile. Jika hanya dipanaskan secara biasa, pelarut tersebut akan menguap sebelum reaksi berlangsung sempurna. Prinsip refluks adalah pelarut volatil akan menguap pada suhu tinggi, kemudian didinginkan oleh kondensor sehingga berubah menjadi uap, lalu mengembun dan turun ke dalam wadah reaksi. Dengan cara ini, pelarut tetap tersedia selama reaksi berlangsung. Aliran gas nitrogen untuk mencegah masuknya uap air atau oksigen, terutama pada sintesis senyawa organologam, karena senyawa ini sangat reaktif (Sudarwati dan Fernanda, 2019).

2). Sokletasi

Sokletasi merupakan metode atau proses pemisahan komponen yang terdapat dalam bahan padat melalui penyaringan berulang dengan bantuan pelarut tertentu, sehingga komponen yang diinginkan dapat terisolasi. Metode ini biasanya menggunakan pelarut organik. Dengan adanya pemanasan, pelarut akan menguap lalu mengembun kembali dan secara terus menerus membasahi sampel. Secara teratur, pelarut yang membawa senyawa kimia tersebut akan kembali masuk ke dalam labu. Pelarut yang membawa senyawa kimia akan terkumpul di labu distilasi, kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* sehingga pelarut dapat dipisahkan. Apabila suatu senyawa organik berbentuk cair atau padat ditemui pada suatu zat padat maka senyawa tersebut dapat diekstraksi dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Sudarwati dan Fernanda, 2019).

3). Infudasi

Infudasi adalah metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut air. Proses ini dilakukan dengan menyaring simplisia menggunakan air pada suhu 90°C selama 15 menit. Hasil ekstraksi dengan metode infundasi disebut infusa. Teknik sederhana ini banyak digunakan oleh industri obat tradisional, dan sering dimodifikasi dengan beberapa penyesuaian untuk menghasilkan ekstrak (Sudarwati dan Fernanda, 2019).

E. Bakteri *Escherichia coli*

1. Definisi bakteri *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan salah satu bakteri patogen yang ditularkan melalui jalur fekal-oral, biasanya berasal dari feses atau air yang tercemar, dengan proses penularan yang melibatkan faktor lingkungan yang kompleks. Spesies ini dikenal sebagai bakteri penyebab diare (*diareogenik*) yang tersebar secara global melalui makanan dan dikaitkan dengan hambatan pertumbuhan pada anak-anak. *Escherichia coli* dapat ditemukan di lingkungan eksternal, seperti air, tanah, sedimen, dan tumbuhan, yang berperan sebagai habitat sekunder. Keberadaan *Escherichia coli* pada habitat sekunder dipengaruhi oleh berbagai faktor lingkungan, termasuk suhu, kelembapan, dan ketersediaan nutrient yang memungkinkan bakteri ini bertahan di luar inangnya (Foster and Pallen, 2022).

Escherichia coli tidak menimbulkan efek patogen di dalam saluran pencernaan manusia, tetapi apabila berpindah ke luar sistem *gastrointestinal*, bakteri ini dapat menyebabkan berbagai penyakit seperti infeksi saluran kemih (ISK), pneumonia, bakteremia, peritonitis, diare pada anak, meningitis pada bayi, hingga sepsis (Mueller and Tainter, 2023). Penularan infeksi *Escherichia coli* dapat terjadi

melalui konsumsi makanan atau minuman yang terkontaminasi, maupun melalui kontak langsung dengan hewan dan kotorannya.

2. Klasifikasi bakteri *Escherichia coli*

Berikut merupakan taksonomi bakteri *Escherichia coli* (Basavaraju dan Gunashree, 2023).

Kingdom : *Bacteria*
Fylum : *Proteobacteria*
Class : *Gamma Proteobacteria*
Ordo : *Enterobacteriales*
Family : *Enterobacteriaceae*
Genus : *Escherichia*
Species : *Escherichia coli*



Gambar 2. Bakteri *Escherichia coli*

(Sumber: istockphoto.com., 2025)

3. Patogenitas bakteri *Escherichia coli*

Patogenitas merupakan kemampuan suatu organisme untuk menyebabkan penyakit. *Escherichia coli* adalah bakteri yang dapat menimbulkan penyakit setelah memasuki tubuh inang dan melakukan proses adaptasi sehingga mampu bertahan

hidup di dalamnya. Selama berada dalam tubuh inang, *Escherichia coli* dapat mengganggu imun dan memicu terjadinya penyakit. Mekanisme patogenesis *Escherichia coli* yang masuk ke saluran pencernaan manusia diawali dengan proses kolonisasi di usus, kemudian menembus lapisan usus hingga masuk ke aliran darah. Bakteri akan berikatan dengan organ target dan menyebabkan kerusakan jaringan atau organ tertentu (Rahayu, Nurjanah, & Komalasari, 2018).

Berdasarkan sifat patogenik dan virulensinya bakteri *Escherichia coli* dapat disebut sebagai *ETEC* (DEC). Bakteri ini dibedakan menjadi 6 yakni:

a. *Enterotoxigenic Escherichia coli* (ETEC)

Enterotoxigenic Escherichia coli (ETEC) dikarakterisasikan dari produksi faktor kolonisasi atau *colonization factors* (CF) dan dua jenis enterotoksin yang dihasilkan yakni LT (*heat-labile toxin*) atau tidak tahan terhadap suhu tinggi dan ST (*heat-stable toxin*) yang dapat bertahan pada keadaan lingkungan dengan suhu tinggi. Keberadaan gen LT dan ST dapat diketahui dengan pemeriksaan PCR. ETEC merupakan DEC yang paling sering menyebabkan kejadian diare pada anak-anak di negara berkembang secara khususnya dan para wisatawan yang berwisata di negara berkembang. ETEC dapat menempel pada mukosa usus dan 12 menghasilkan enterotoksin. Dua jenis enterotoksin dapat dihasil sekaligus atau hanya salah satu. *Enterotoksin* ini akan mengganggu regulasi membran dan saluran ion pada membran epitel yang dapat mengakibatkan hilangnya ion dan air dalam jumlah yang besar sehingga terjadi diare dengan konsistensi feses yang cair seperti air (Rahayu, Nurjanah, dan Komalasari, 2018; Gomes *et al*, 2016).

b. *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC)

Enteropathogenic Escherichia coli (EPEC) didefinisikan sebagai bakteri yang dapat menyebabkan penyakit diare, memiliki kemampuan untuk menghasilkan histopatologi pada epitel usus yang dikenal dengan *lesi attaching and effacing* (AE). Bakteri ini tidak dapat menghasilkan *shiga-toxins*, *heat-labile enterotoxin* (LT), dan *heat-stable enterotoxin* (ST). EPEC dibagi menjadi 2 jenis yakni *typical* EPEC (tEPEC) dan *atypical* EPEC (aEPEC). tEPEC menyebabkan penyakit diare yang infeksius pada manusia. tEPEC memiliki plasmid virulensi yang dikenal sebagai *EPEC adherence factor* (EAF) plasmid (pEAF) yang mengkodekan *fimbriae* tipe IV yang disebut *bundle-forming pilus* (BFP), namun pada aEPEC tidak memiliki plasmid ini. Untuk mendeteksi keberadaan bakteri ini dapat dilakukan dengan pemeriksaan PCR untuk mendeteksi gen *eae* dan *stx*. Dimana hasil *stx* negative dan hasil *eae* positif. Kemudian diperiksa keberadaan gen BFP dan atau gen pEAF untuk membedakan tEPEC dan aEPEC (Gomes et al, 2016)

c. *Enteroinvasive Escherichia coli* (EIEC)

Enteroinvasive Escherichia coli (EIEC) merupakan bakteri yang dapat menyebabkan penyakit disentri dengan mekanisme yang sama seperti *Shigella* yakni dengan melakukan penetrasi dan meruksan mukosa usus. Kemampuan EIEC untuk menyerang usus disebabkan oleh factor virulensi spesifik dalam bentuk plasmid invasi. Deteksi EIEC dengan PCR yang 15 menargetkan gen *ipaH* atau gen yang terdapat pada EIEC dan *Shigella* sering dilakukan. Selain itu keberadaan gen *iudA* dan *lacY* dapat digunakan untuk membedakan EIEC dengan *Shigella flexneri* (Rahayu, Nurjanah, & Komalasari, 2018; Gomes et al, 2016).

d. *Enteroaggregative Escherichia coli* (EAEC)

Enteroaggregative Escherichia coli (EAEC) didefinisikan sebagai bakteri dengan karakteristik pelekatan yang bersifat agregasi atau *aggregative adherence* (AA). Karakter AA yakni bakteri EAEC yang menempel pada sel epitel dan bertumpuk seperti kumpulan batu bata. Pelekatan yang berpola tersebut terjadi karena keberadaan gen pAA pada plasmid yang mengkode gen tersebut. Gen virulensi lain yang dimiliki oleh EAEC yakni toxin agregatif yang stabil dalam keadaan panas (EAST-1) (Rahayu, Nurjanah, & Komalasari, 2018).

e. *Enterohemorrhagic (Shiga toxin-producing) Escherichia coli* (EHEC/STEC)

Enterohemorrhagic (Shiga toxin-producing) Escherichia Coli (EHEC/STEC) merupakan bakteri yang memiliki kemampuan untuk menghasilkan sebanyak 14 atau lebih jenis *Shiga-toxin* (stx) dari keluarga *cytotoxins*. EHEC dapat menyebabkan *hemorrhagic colitis* (HC) dan berkembangnya *hemolytic uremic syndrome* (HUS). Terdapat 2 gen virulensi EHEC yakni Stx1 dan Stx2. Stx1 lebih homogen jika dibandingkan dengan Stx2, yang termasuk keluarga toxin ini yakni Stx1a, Stx1c, dan Stx1d. Pada keluarga toxin Stx2 lebih heterogen yang terdiri dari Stx2a, Stx2b, Stx2c, Stx2d, Stx2e, Stx2f, dan Stx2g. Pada toxin Stx2a, Stx2c atau Stx2d lebih sering dijumpai pada kasus HC dan HUS. Sebagai Langkah untuk melakukan screening atau mendeteksi keberadaan gen virulensi dari EHEC, metode pemeriksaan dengan PCR dapat digunakan (Gomes et al, 2016)

f. *Diffusely-adherent Escherichia coli* (DAEC)

Diffusely-adherent Escherichia coli (DAEC) memiliki faktor virulensi yang dapat dideteksi dengan memeriksa keberadaan gen adhesin Afa/Dr. DAEC yang memiliki gen ini memiliki struktur *fimbriae* menempel secara langsung pada sisi spesifik sel inang. Bagian ini sering disebut *fimbriae* F1845. Selain itu, terdapat

DAEC yang tidak memiliki gen Afa/Dr namun memiliki gen aidA. Terjadinya diare yang disebabkan oleh DAEC yang memiliki gen Afa/Dr dimulai dari menempelnya gen Afa/Dr dengan faktor DAF pada usus dan membentuk agregat. Proses penempelan ini akan menginduksi Ca^{2+} dan menyebabkan mikrovili menjadi rusak. Aktivitas enzim menjadi menurun dan mengganggu proses sekresi dan absorpsi di usus. Seluruh rangkaian peristiwa ini akan menyebabkan diare pada organisme (Rahayu, Nurjanah, & Komalasari, 2018)

4. Morfologi bakteri *Escherichia coli*

Escherichia coli adalah bakteri basil gram negatif dengan ukuran sekitar 1.0-1.5 μm x 2.0-6.0 μm , memiliki flagel sehingga bersifat motil, bersifat fakultatif anaerobik dan dapat tahan pada media yang minim nutrisi. Ciri biokimianya yaitu positif dalam produksi indol, kurang mampu memfermentasi sitrat dan negatif pada analisis *urease*. *Escherichia coli* mampu tumbuh optimal di air tawar, air laut atau di tanah bahkan mampu bertahan hidup dalam tubuh manusia dengan tingkat keasaman yang tinggi. Waktu generasi tersingkat yang dibutuhkan *Escherichia coli* untuk membelah diri adalah 30 menit dalam temperatur 37°C yang merupakan suhu optimum bagi pertumbuhannya. Kandungan gula atau garam yang tinggi dalam media dapat menurunkan aktivitas air dan meningkatkan tekanan osmotik sehingga pertumbuhan spesies ini dapat terhambat (Rahayu dkk., 2018).

F. Uji Aktivitas Antibakteri

Pemberian antibiotik merupakan pengobatan utama yang dilakukan untuk menangani infeksi akibat bakteri patogen. Aktivitas antibakteri merupakan kemampuan suatu senyawa atau ekstrak untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri. Pada ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle linn*) terdapat

kandungan metabolit sekunder seperti flavonoid, saponin, tanin, dan minyak atsiri yang mampu merusak membran sel bakteri, menghambat sintesis protein, serta mengganggu replikasi DNA sehingga bakteri tidak dapat berkembang.

Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif. Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan senyawa dalam menghambat atau membunuh bakteri (Balouiri dkk., 2016). Uji aktivitas antibakteri secara kualitatif dapat dilakukan dengan beberapa metode diantaranya *disk diffusion* (metode cakram), *Well Diffusion* (Metode Sumuran), dan Bioautografi (KLT–Bioautografi). Uji aktivitas antibakteri secara kuantitatif dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya aktivitas antibakteri pada suatu sampel. Metode ini sering digunakan sebagai skrining awal sebelum dilakukan uji kuantitatif. Beberapa metode uji kuantitatif yaitu *Broth Dilution* (Dilusi Cair), *Agar Dilution* (Dilusi Padat), *Time–Kill Assay*, dan Spektrofotometri.

Pada metode *disk diffusion* dilakukan dengan merendam kertas cakram pada sampel antibakteri yang diletakan di atas media yang sudah diinokulasi bakteri. Setelah inkubasi, terbentuk zona bening di sekitar cakram jika senyawa mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Ukuran zona hambat (mm) digunakan sebagai indikator ada atau tidaknya aktivitas antibakteri (Balouiri dkk., 2016). Pada metode sumuran sampel ditetaskan ke dalam sumur yang dibuat di media agar yang telah diinokulasi bakteri. Zona hambat yang terbentuk di sekitar sumur menunjukkan adanya aktivitas antibakteri (Fitriana dkk., 2024). Metode Bioatografi digunakan untuk mengidentifikasi senyawa atau fraksi aktif pada ekstrak yang memiliki aktivitas antibakteri. Senyawa dipisahkan menggunakan kromatografi lapis tipis

(KLT), kemudian media ditanam dengan bakteri. Zona bening pada plat KLT menandakan senyawa aktif (Fitriana dkk., 2024).

Pada metode *Broth Dilution* atau dilusi cair merupakan salah satu metode secara kuantitatif yang digunakan untuk menentukan kadar hambat Minimum (KHM) dan kadar bunuh minimum (KBM). Pada metode ini, ekstrak atau senyawa antibakteri diencerkan secara seri dalam media cair, kemudian diinokulasikan dengan suspensi bakteri dan diinkubasi. Konsentrasi terendah yang tidak menunjukkan kekeruhan setelah inkubasi ditetapkan sebagai kadar hambat minimum (KHM), sedangkan konsentrasi yang tidak menimbulkan pertumbuhan koloni ditanam kembali pada media padat ditetapkan sebagai kadar bunuh minimum (KBM). Interaksi yang merata antara bakteri dan agen uji di medium cair menyebabkan metode ini sensitif dalam mendeteksi aktivitas antibakteri (Munira dkk., 2023). Pada dilusi padat dilakukan dengan mencampurkan konsentrasi tertentu agen antibakteri ke dalam medium agar sebelum pematangan. Bakteri kemudian diinokulasikan pada permukaan agar, dan nilai KHM ditentukan berdasarkan ada atau tidaknya pertumbuhan koloni pada tiap konsentrasi. Metode ini dianggap lebih stabil untuk menguji banyak isolat secara bersamaan dan meminimalkan variabilitas visual dalam pembacaan hasil karena koloni terlihat langsung pada permukaan media (Fitriana, 2020). *Time-Kill Assay* adalah metode dinamis untuk menilai efek bakterisidal dari sebuah agen pada waktu tertentu. Metode ini memberikan gambaran kinetika bunuh seberapa cepat dan seberapa banyak bakteri mati dalam fungsi waktu. Sebagai contoh, Permadi (2023) menggunakan metode ini untuk menilai daya bunuh infusa dan seduhan daun Dewandaru terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, dan menemukan bahwa pada waktu paparan 30 menit,

reduksi log bakteri mencapai 100% (Permadi, 2023). Spektrofotometri juga digunakan sebagai metode kuantitatif untuk mengukur pertumbuhan atau hambatan pertumbuhan bakteri berdasarkan nilai *optical density* (OD). Dalam penelitian mengenai penentuan kadar hambat minimum (KHM) ekstrak pandan wangi, perubahan nilai absorbansi digunakan untuk menentukan konsentrasi minimal yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri (Furqonita dkk., 2022).

G. Antibiotik dan Mekanisme Kerja Antibiotik

1. Antibiotik

Antibiotik merupakan senyawa antimikroba yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri dengan mengganggu sintesis dinding sel, menghambat sintesis protein, merusak membran, atau menghambat replikasi DNA bakteri (Sarmira, 2021). Secara etimologis, istilah antibiotik berasal dari bahasa Yunani “*anti*” yang berarti melawan dan “*bios*” yang berarti kehidupan, sehingga secara harfiah antibiotik bermakna zat yang melawan organisme hidup (Wulandari, 2021). Berdasarkan kemampuannya, antibiotik dapat dibedakan menjadi dua yaitu antibiotik dengan sifat bakterisida dan antibiotik dengan sifat bakteristatik. Bakterisida yaitu antibiotik yang dapat membunuh bakteri secara langsung, sedangkan bakteristatik yaitu antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Purnamaningsih, 2017).

Antibiotik merupakan zat kimia yang dihasilkan oleh fungi atau bakteri yang dapat mematikan atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen sedangkan, toksisitasnya bagi manusia relatif kecil. Antibiotik sebagai obat yang dapat menanggulangi penyakit infeksi namun dalam penggunaannya harus rasional, tepat, dan aman. Penggunaan antibiotik yang tidak rasional akan menimbulkan

dampak negatif seperti terjadinya kekebalan mikroorganisme terhadap beberapa antibiotik, meningkatkan efek samping obat dan berdampak kematian. Penggunaan antibiotik dalam jangka waktu lama, berlebihan, dan terlalu sering digunakan dapat menimbulkan resistensi mikroorganisme terhadap berbagai antibiotik atau *multidrug resistance* (Pratiwi, 2017).

2. Mekanisme kerja antibiotik

Antibiotik merupakan senyawa antimikroba yang bekerja dengan menargetkan proses biologis penting pada sel bakteri sehingga pertumbuhan bakteri dapat dihambat atau dihentikan. Salah satu mekanisme utama kerja antibiotik adalah penghambatan sintesis dinding sel bakteri, terutama oleh antibiotik β -laktam yang berikatan dengan *Penicillin binding protein* (PBP), sehingga mengganggu pembentukan peptidoglikan dan menyebabkan sel bakteri mengalami lisis (Herawati, 2023). Penghambatan sintesis protein melalui ikatan antibiotik pada subunit ribosom 30S atau 50S dapat menyebabkan terhentinya proses translasi protein esensial bagi kelangsungan hidup bakteri (Anggita, 2022). Beberapa golongan antibiotik juga bekerja dengan menghambat replikasi dan transkripsi DNA, seperti *fluroquinolon* yang menghambat enzim DNA *gyrase* dan *topoisomerase* IV, sehingga bakteri tidak mampu menggandakan materi genetiknya (Lukito, 2023).