

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka

1. Disentri

a. Definisi

Disentri basiler (*Shigellosis*) adalah penyakit infeksi usus akut yang secara umum disebabkan oleh *Shigella flexneri* 70,6 %, *Shigella sonnei* 17,6 %, *Shigella boydii* 5,9 %, dan *Shigella dysenteriae* 5,9 %. Anggota genus *Shigella* yang memiliki persentase tertinggi sebagai penyebab disentri adalah *Shigella flexneri* (Santoso, *et.al.*, 2004).

b. Epidemiologi

Diare merupakan salah satu masalah kesehatan yang masih menjadi penyebab utama tingginya morbiditas dan mortalitas pada anak di negara berkembang termasuk di Indonesia. Menurut WHO angka kesakitan diare pada tahun 2010 yaitu sebanyak 411 penderita per 1.000 penduduk. Berdasarkan data profil kesehatan Indonesia tahun 2010 jumlah kasus diare yang ditemukan sekitar 213.435 penderita dengan jumlah kematian 1.289, dan sekitar 70–80% dari jumlah tersebut terjadi pada anak-anak terutama usia dibawah 5 tahun. Dari data tersebut dapat diperkirakan bahwa selama 20–30 tahun ke depan diare dan beberapa penyakit infeksi lainnya akan tetap menjadi perhatian sebagai penyebab masalah kesehatan di dunia (Depkes, 2010)

Dari data-data tersebut diatas tampak bahwa diare, baik yang disebabkan oleh virus, bakteri dan protozoa masih merupakan masalah kesehatan masyarakat utama yang perlu penanganan dan kajian dari berbagai aspek.

c. Etiologi

Berdasarkan etiologinya, penyakit diare dapat disebabkan oleh mikroorganisme seperti bakteri, virus dan protozoa. Mikroorganisme penyebab diare terutama pada anak yang paling banyak ditemukan di negara berkembang antara lain *Escherichia coli* enterotoksigenik, *Shigella*, *Campylobacter jejuni*, dan *Cryptosporidium* (Juffrie *et.al.*, 2010).

d. Klasifikasi

Penyakit infeksi saluran pencernaan dapat disebabkan oleh bakteri dan protozoa. Infeksi yang disebabkan oleh bakteri dikenal sebagai disentri basiler yang disebabkan oleh bakteri *Shigella*, sedangkan infeksi yang disebabkan oleh protozoa dikenal sebagai disentri amuba (Ismail *et.al.*, 1997).

Penyebab diare yang terpenting dan tersering adalah *Shigella*, salah satunya *Shigella flexneri*. *Entamoeba histolytica* merupakan penyebab disentri pada anak yang usianya di atas lima tahun dan jarang ditemukan pada balita (Nelson & Walda, 2000).

e. Patologi

Shigellosis menyebar dengan cara transmisi *fecal-oral*. Cara penularan lain meliputi konsumsi makanan yang terkontaminasi atau air, kontak dengan benda mati yang terkontaminasi, dan kontak seksual. Vektor seperti lalat dapat menyebarkan penyakit dengan fisik mengangkut kotoran yang terinfeksi (**Sureshabu, 2016**).

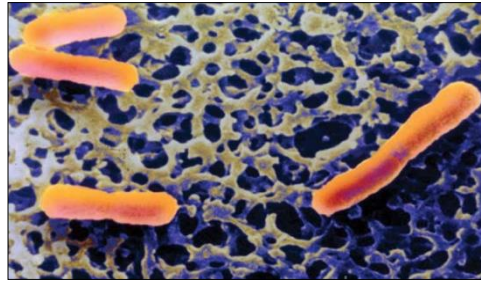
Sedikitnya 10 *Shigella dysenteriae* basil dapat menyebabkan penyakit klinis, sedangkan 100-200 basil diperlukan untuk *Shigella sonnei* atau infeksi *Shigella flexneri*. Virulen *Shigella* dapat menahan pH rendah asam lambung. Masa inkubasi bervariasi dari 12 jam sampai 7 hari, tapi biasanya 2-4 hari; masa inkubasi berbanding terbalik dengan beban bakteri. Penyakit ini menular selama orang yang terinfeksi mengeluarkan organisme tersebut dalam tinja. pengeluaran bakteri biasanya berhenti dalam waktu 4 minggu dari onset penyakit; jarang dapat bertahan selama berbulan-bulan (**Sureshabu, 2016**).

f. Pengobatan

Pada infeksi ringan umumnya dapat sembuh sendiri, penyakit akan sembuh pada 4-7 hari. Minum lebih banyak cairan untuk menghindarkan kehabisan cairan, jika pasien sudah pada tahap dehidrasi maka dapat diatasi dengan rehidrasi oral. Pada pasien dengan diare berat disertai dehidrasi dan pasien yang muntah berlebihan sehingga tidak dapat dilakukan rehidrasi oral maka harus dilakukan rehidrasi intravena. Umumnya pada anak kecil terutama bayi lebih rentan kehabisan cairan

jika diare. Untuk infeksi berat *Shigella* dapat diobati dengan menggunakan antibiotika termasuk ofloksasin, norfloksasin dan siprofloksasin (Dipiro *et.al.*,2008).

2. *Shigella Flexneri*



Gambar 1. *Shigella flexneri*
(Sumber : CDC, 2013)

Kingdom : Bacteria
Phylum : Proteobacteria
Class : Gammaproteobacteria
Order : Enterobacteriales
Family : Enterobacteriaceae
Genus : *Shigella*
Species : *Shigella flexneri*

(Castellani & Chalmers, 1919)

Shigella flexneri merupakan bakteri gram negatif, *nonmotile*, dan berbentuk batang. *Shigella flexneri* dapat menyebabkan *Shigellosis* (disentri basiler) dengan cara menginvasi epitel usus besar. Bakteri *Shigella flexneri* mampu menyerang dan memecah sel-sel epitel dan sel dendrit kemudian masuk ke sitosol (Lucchini *et.al.*, 2005).

3. Kemukus

a. Morfologi

Kemukus (*Piper cubeba* L.) merupakan perdu merambat dengan tinggi sampai 15 meter (Heyne, 1987). Berupa buah berbentuk hampir bulat, bau khas, rasa agak pedas dan pahit, bergaris tengah lebih umumnya kurang 5 mm, pada bagian pangkal terdapat tonjolan panjang menyerupai tangkai, panjang tonjolan 5-10 mm, tebal kurang dari 1 mm, kadang-kadang bagian pangkal di daerah tonjolan agak cekung. Permukaan luar umumnya berkerut keras seperti anyaman jala, kadang-kadang rata, warna cokelat tua atau cokelat kelabu sampai hitam, permukaan dalam licin, berwarna cokelat muda. Kulit biji berwarna cokelat tua, berkeriput. Inti biji terdiri dari perisperm, di bagian atas terdapat endosperm yang kecil dengan embrio di dalamnya (Depkes, 2008).

b. Taksonomi



Gambar 2. Buah kemukus (*Piper cubeba* L.f.)
Sumber : Tjitrosoepomo, 1994

<i>Kingdom</i>	: Plantae
<i>Subkingdom</i>	: Tracheobionta
<i>Super Divisi</i>	: Spermatophyta
<i>Divisi</i>	: Magnoliophyta
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Piperales
Suku	: Piperaceae
Marga	: <i>Piper</i>
Jenis	: <i>Piper cubeba</i> L. (PLANTAMOR, 2012)

c. Kandungan Kimia

Pada buah yang telah dikeringkan mengandung lebih dari 10% minyak atsiri yang terdiri dari senyawa-senyawa monoterpen (*sabinene* 50%, *carene*, α -*thujane*, *1,4-cineol* dan *1,8-cineol*) dan senyawa senyawa seskuiterpen (*copaene*, α - dan β -*cubebane*, δ -*cadinene*, *coryophyllene*, *germacrene*, *cubebol*). Meskipun senyawa-senyawa monoterpen masih mendominasi, namun yang memberikan sumbangan lebih besar pada karakteristik aromanya adalah senyawa seskuitepen. Selain itu buah kemukus juga mengandung senyawa *lignin* yang terdiri dari *cubebin*, *hinokinin elusin*, *dihidroclusin*, *cubebinin yatein cubebinolide*, *cadigerine*, *iso yatein* (2R, 3R) -2-(3'',4''-metylen-dioxybenzyl)-3-(3',4' dimethoxybenzil)buyrolactone (Sudarsono *et.al.*, 1996).

Terpenoid secara garis besar adalah senyawa yang termasuk ke dalam golongan hidrokarbon yang sering ditemukan pada tanaman obat. Terpenoid merupakan metabolit sekunder pada tanaman yang memiliki efek farmakologis seperti antivirus, antibakteri, antimalaria, antiradang, penghambat sintesis kolesterol dan anti kanker (Nassar & Abdalrahim, 2011)

Sehubungan dengan kandungan zat-zatnya, buah kemukus banyak dimanfaatkan untuk mengobati masuk angin, radang usus, disentri, perut mulas, kencing nanah, raja singa, radang selaput lendir, asma, serta ekspektoran dan bronkitis (Sudarsono *et.al.*, 1996).

4. Antibakteri

Berdasarkan spektrum kerjanya, anti bakteri dapat digolongkan sebagai antibakteri dengan spektrum luas yang efektif baik untuk bakteri gram positif maupun bakteri gram negatif, contohnya tetrasiklin dan kloramfenikol. Antibakteri dengan spektrum sempit, yang hanya efektif untuk bakteri gram positif atau gram negatif saja seperti eritromisin, klindamisin, kanamisin hanya bekerja pada bakteri gram-positif sedang streptomisin, gentamisin, hanya bekerja pada bakteri gram-negatif.

Sedangkan berdasarkan mekanisme kerjanya, antibakteri dapat digolongkan dalam 5 kelompok, yaitu:

- a. Antibakteri yang mengganggu metabolisme sel bakteri
- b. Antibakteri yang menghambat dinding sel bakteri
- c. Antibakteri yang mengganggu keutuhan membran sel bakteri.

- d. Antibakteri yang menghambat sintesis protein sel bakteri
- e. Antibakteri yang menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri

(Ganiswara, dkk., 1995)

Salah satu obat yang bisa digunakan sebagai antibiotik bakteri *Shigella* adalah *Ciprofloxacin*. *Ciprofloxacin* merupakan antibiotik spektrum luas (*broad spectrum*) golongan floroquinolon yang paling umum digunakan (Mohanasundaram & Shantha, 2000) dengan mekanisme kerja menghambat DNA *gyrase* (topoisomerase II) dan topoisomerase IV yang terdapat dalam bakteri (Marians & Hiasa, 1997). Penghambatan terhadap enzim yang terlibat dalam replikasi, rekombinasi dan reparasi DNA tersebut mengakibatkan penghambatan terhadap pertumbuhan sel bakteri (Sarro, 2001).

Ciprofloxacin digunakan untuk pengobatan infeksi yang disebabkan oleh bakteri Gram negatif seperti *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *Klibsiella sp*, *Shigella sp.*, *Enterobacter*, *Chlamydia sp*, *Salmonella sp*, dan *P. aeruginosa* serta bakteri gram positif tertentu. Mekanisme kerja dari antibiotik ini yaitu dengan menghambat proses terbentuknya superkoil DNA yang berikatan dengan enzim DNA *gyrase* sub unit A yaitu suatu enzim yang penting pada replikasi dan perbaikan DNA. Resistensi bakteri terhadap antibiotik ini dapat terjadi karena adanya mutasi gen yang mengkode polipeptida sub unit A enzim DNA *gyrase* (Jawetz dkk., 2001). Menurut Cushnie and Lamb (2005) senyawa flavonoid dapat berikatan dengan peptidoglikan pada dinding sel bakteri sehingga terjadi pengendapan protein yang selanjutnya

dapat menghambat proses biosintesis peptidoglikan dan menghambat DNA gyrase. Alkaloid dapat merusak sintesis dinding sel sehingga dapat menyebabkan sel menjadi lisis.

5. Destilasi

Destilasi didefinisikan sebagai sebuah proses dimana campuran dua atau lebih zat *liquid* atau *vapor* dipisahkan menjadi komponen fraksi yang murni, dengan pengaplikasian dari perpindahan massa dan panas (Komariah *et.al.*, 2009). Destilasi adalah suatu metode yang digunakan untuk memurnikan cairan-cairan berdasarkan pada perbedaan titik didih. Jenis jenis destilasi yang digunakan antara lain (Ketaren, 1987) :

a. Destilasi sederhana

Metode ini digunakan untuk memurnikan cairan-cairan yang tidak terurai pada titik didihnya dari pengotor-pengotor *nonvolatile* atau memisahkan cairan yang memiliki titik didih paling sedikit antara 70-80°C.

b. Destilasi terfraksi konstituen

Metode ini digunakan bila suatu campuran cairan yang berbeda titik didih sekitar 30° C atau lebih.

c. Destilasi vakum

Metode ini digunakan untuk memurnikan cairan-cairan organik yang terurai pada atau dibawah titik didih normalnya atau cairan yang memiliki titik didih sangat tinggi dimana sulit untuk dilakukan pada tekanan biasa.

d. Destilasi uap

Metode ini digunakan untuk memurnikan senyawa organik yang *volatile*, tidak bercampur dengan air, mempunyai tekanan uap yang tinggi pada 100⁰ C dan mengandung pengotor-pengotor *non volatile*.

6. Kromatografi Gas dan Spektrometri Massa

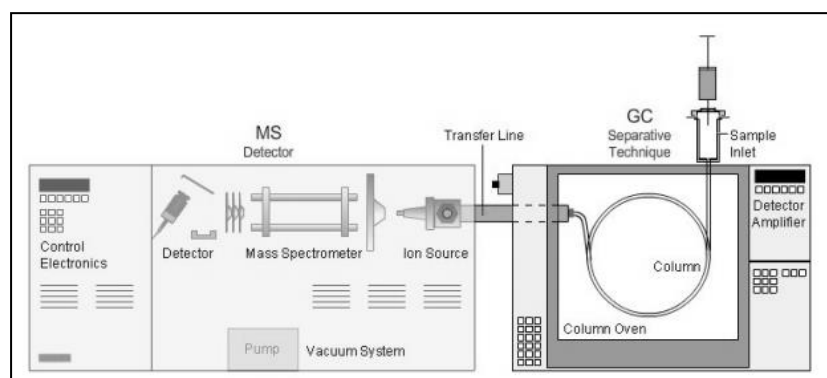
Kromatografi didefinisikan sebagai prosedur pemisahan zat terlarut oleh suatu proses migrasi dinamis dalam sistem yang terdiri dari dua fase, salah satu diantaranya bergerak secara berkesinambungan dengan arah tertentu dan di dalamnya zat-zat itu menunjukkan perbedaan mobilitas disebabkan adanya perbedaan dalam adsorpsi, partisi, kelarutan, tekanan uap, ukuran molekul atau kerapatan muatan ion (Depkes, 2008).

Teknik kromatografi umum menggunakan fase gerak gas pembawa Helium. Gas Helium digunakan karena bersifat inert. Kolom yang digunakan adalah kolom kapiler dan kolom paket. Kolom kapiler memiliki panjang antara 10 hingga 120 meter dengan diameter internal 0,1 hingga 0,5 mm. Kolom paket memiliki panjang 1 hingga 5 meter dengan diameter internal antara 2 hingga 4 mm (Crawford Scientific, 2015).

Proses pemisahan dalam GC diawali dengan sampel yang diinjeksikan ke inlet kemudian diuapkan dan dibawa ke kolom oleh gas pembawa. Senyawa akan dipisahkan berdasarkan karakteristik molekul dan interaksi dengan fase diam. Senyawa yang tidak berinteraksi melewati kolom dengan lebih cepat (Douglas, 2015). Waktu yang dibutuhkan senyawa untuk

melewati kolom disebut *retention time* (Rt) yang digunakan untuk membedakan satu senyawa dengan senyawa yang lain (Douglas, 2015).

Spektrometri massa merupakan teknik analisis yang didasarkan pada perubahan komponen cuplikan menjadi ion-ion gas dan memisahkannya berdasarkan perbandingan massa terhadap muatan (m/e). Komponen instrumen MS antara lain ruang ionisasi, *mass analyzer* dan *detector* (JEOL, 2006).



Gambar 3. Ilustrasi skematis instrumen GC-MS (Crawford Scientific, 2015)

Senyawa dari GC menuju ke MS melalui ruang ionisasi. Ionisasi terjadi apabila suatu molekul berbentuk gas disinari oleh suatu elektron yang berenergi tinggi dalam sistem hampa, maka akan terjadi ionisasi. Ion molekul terbentuk sedangkan ion yang tidak stabil pecah menjadi ion-ion yang lebih kecil (Watson, 1994). Luaran yang dihasilkan berupa spektrum yang ditunjukkan dengan nilai massa fragmen (m/z). Semakin tinggi spektrum menunjukkan banyaknya fragmen yang terdeteksi. Spektrometri massa dapat memberikan informasi kualitatif dan kuantitatif tentang susunan atom dalam molekul zat-zat organik dan anorganik (Watson, 1994).

7. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri digunakan untuk mengetahui kemampuan antibakteri untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri pada konsentrasi tertentu. Uji ini bertujuan untuk menentukan aktivitas bakteri tertentu terhadap terapi antibakteri pada organisme yang terinfeksi (FDA, 2009). Tes sensitivitas antibakteri diklasifikasikan menjadi:

a. Difusi

Metode difusi digunakan dengan cara menempatkan cakram kertas filter yang mengandung sejumlah obat tertentu diatas permukaan medium padat yang telah ditanam pada permukaan dengan organisme uji. Setelah inkubasi, diameter zona inhibisi disekitar cakram diukur sebagai ukuran inhibisi obat melawan organisme uji (Jawetz *et.al.*, 2001).

b. Dilusi

Metode dilusi digunakan dengan cara mengukur *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dan *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Larutan uji yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai MIC, sedangkan larutan yang tetap terlihat jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai MBC. Terdapat jenis dilusi yang lain yaitu dilusi padat yang serupa dengan dilusi cair namun menggunakan media padat (Pratiwi, 2008).

8. Metode *Kirby Bauer*

Metode *Kirby Bauer* adalah metode yang digunakan untuk menguji sensitivitas suatu senyawa antibakteri terhadap mikroorganisme patogen aerob maupun anaerob penyebab penyakit. Metode ini dipublikasi oleh W.Kirby dan A.Bauer dan kemudian dibakukan oleh WHO pada tahun 1961 (Hudzicki, 2009).

Tujuan dari uji kepekaan *Kirby Bauer* untuk menentukan sensitivitas atau resistensi dari aerobik patogen dan bakteri anaerob fakultatif untuk berbagai senyawa antimikroba. Hal ini dapat untuk membantu dokter dalam memilih pilihan pengobatan untuk pasiennya. Organisme patogen ditanam di agar dengan disk kertas diresapi penyaring antimikroba. Ada atau tidak adanya pertumbuhan sekitar cakram adalah ukuran tidak langsung dari kemampuan senyawa yang menghambat organisme itu (Hudzicki, 2009).

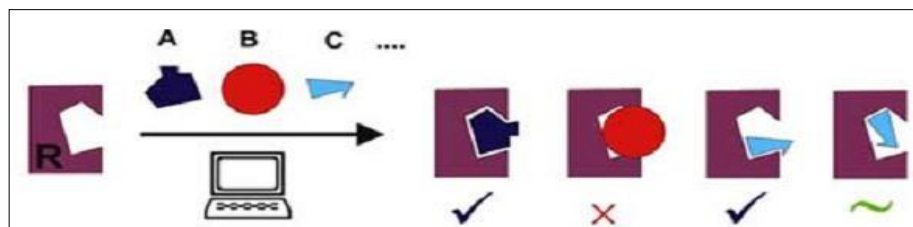
Penentuan resistensi bakteri terhadap antimikroba adalah bagian penting dari manajemen infeksi pada pasien. Metode *Kirby Bauer* telah dibakukan dan merupakan metode yang layak untuk laboratorium dengan sumber daya minimal untuk memanfaatkan metode otomatis yang lebih baru untuk pengujian dilusi. Cakram kertas yang memiliki diameter 6 mm diresapi dengan konsentrasi senyawa antimikroba ditempatkan pada agar piring, senyawa yang diserap ke dalam disk itu mulai berdifusi ke dalam agar-agar sekitarnya. Tingkat difusi dari antimikroba melalui agar tergantung pada difusi dan sifat kelarutan obat dalam agar juga tergantung pada berat molekul senyawa antimikroba. Molekul yang lebih besar akan

menyebarkan lebih lambat dibanding senyawa dengan berat molekul rendah (Hudzicki, 2009).

9. Uji *in Silico*

a. Penambatan Molekuler

Penambatan molekuler adalah metode komputasi yang bertujuan meniru peristiwa interaksi suatu molekul ligan dengan protein yang menjadi targetnya pada uji *in-vitro* (Motiejunas & Wade, 2006). Pada umumnya tujuan utama penambatan molekuler juga digunakan untuk mendapat nilai energi ikatan konformasi yang paling rendah dengan afinitas yang paling tinggi. Pada dasarnya cara kerja dari beberapa aplikasi tersebut digambarkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Prinsip dasar *Molecular Docking*
(Kroemer, 2007)

R : Reseptor

A : Ligan yang cocok dengan reseptor

B : Ligan yang tidak cocok dengan reseptor

C : Ligan yang cocok dengan reseptor dalam konformasi yang lain

✓ : Ikatan ligan cocok dengan reseptor

X : Ikatan ligan tidak cocok dengan reseptor

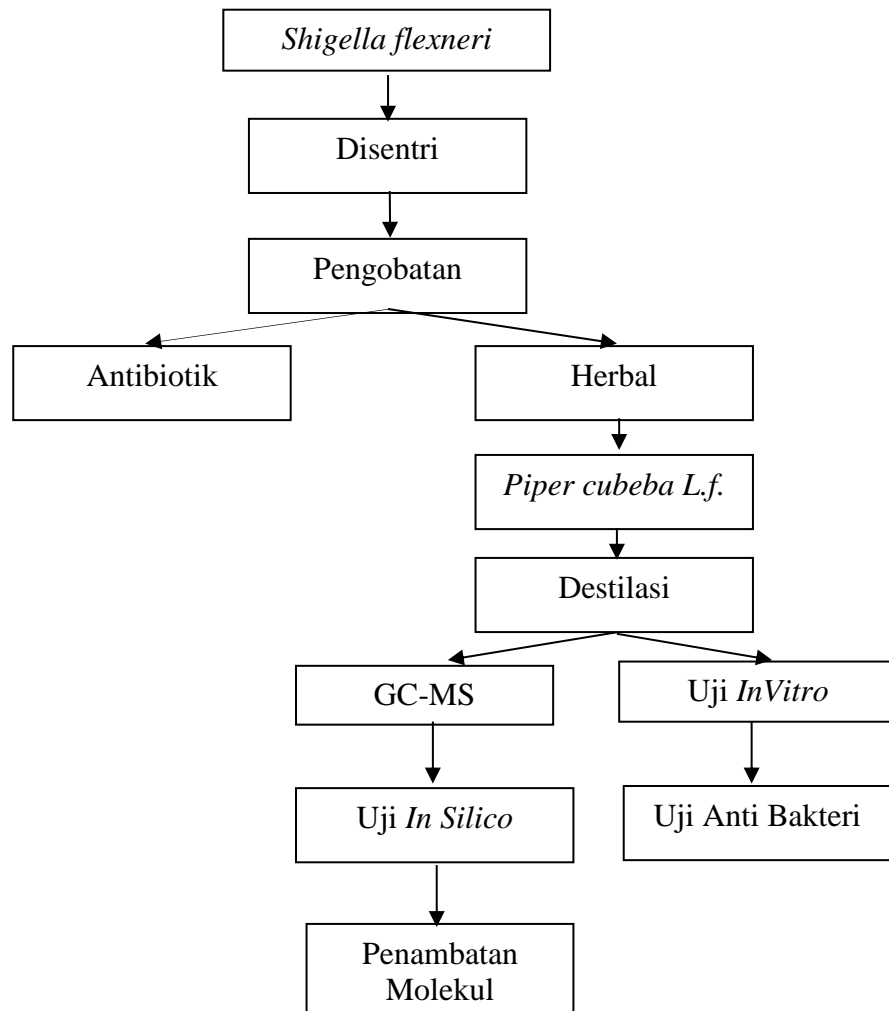
~ : Ikatan ligan tidak begitu sempurna dengan reseptor

Ada beberapa aplikasi yang umum digunakan untuk melakukan *virtual screening* dengan metode penambatan molekuler antara lain dengan PLANTS (*Protein Ligand Ant System*), GOLD, MOE (*Molecular Operating Environment*), MVD (*Molegro Virtual Docking*) dan Autodock (Kroemer, 2007).

b. *Autodock Vina*

Autodock Vina merupakan aplikasi penambatan molekul protein dan ligan. *Autodock Vina* memiliki kerja yang sama dengan aplikasi *Autodock Tool 4*. Pada penerapannya *Autodock Vina* ini menggunakan fungsi skor energi interaksi untuk memperkirakan afinitas protein dan ligan, jenis ikatan yang mungkin terjadi, serta menentukan konformasi paling baik. Skor penambatan ini diestimasi sebagai *binding energy* yang memiliki satuan Kkal/mol (Morris *et.al.*, 2009). Percobaan *Autodock Vina* digunakan untuk memprediksi dimana dan bagaimana ligan yang dapat berikatan dengan protein yang paling baik. Sesuai standar, melakukan percobaan ulang pada pasangan ligan dan protein dapat menghasilkan berbagai model ikatan yang berbeda. (Jaghoori *et.al.*, 2016). Dalam hal akurasi penambatan molekuler, nilai *root-mean-square-deviation (RMSD)* kurang dari 2 Å secara umum digunakan dan telah menjadi pertimbangan hasil penambatan molekuler yang dikatakan berhasil. Kriteria yang sama telah digunakan di penelitian molekuler yang lain seperti Glide, Surflex, GOLD dan FlexX. Ambang batas RMSD <2 Å yang paling banyak digunakan (Erikson *et.al.*, 2004).

B. Kerangka konsep



Gambar 5. Kerangka konsep

Penyakit infeksi saluran pencernaan dapat disebabkan oleh virus, bakteri dan protozoa. Infeksi yang disebabkan oleh bakteri dikenal sebagai disentri basiler yang disebabkan oleh bakteri *Shigella*. Penyebab diare yang tersering adalah *Shigella*, khususnya *Shigella flexneri* dan *Shigella dysenteriae* (Zein, 2004). Beberapa jenis bakteri *Shigella* telah menjadi kebal terhadap antibiotik,

seperti kotrimoksazol, ampicilin dan tetrasiklin (Bush & Perez, 2014), maka diperlukan suatu terapi komplementer atau terapi anti bakteri lain untuk mengatasi kasus resistensi tersebut. Penggunaan bahan alam misalnya menggunakan kemukus dapat menjadi solusi untuk kasus ini.

C. Hipotesis

Dari penelitian ini, dirumuskan hipotesis sebagai berikut :

1. Minyak atsiri buah kemukus (*Piper cubeba L.f.*) mengandung senyawa golongan terpenoid yang dapat digunakan sebagai antibakteri yang dianalisis secara *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS).
2. Kadar Hambat Minimum konsentrasi minyak atsiri buah kemukus (*Piper cubeba L.f.*) yang diperlukan untuk menghambat *Shigella flexneri* sebesar 10%.
3. Senyawa marker buah kemukus yaitu *cubebene* memiliki afinitas paling baik terhadap protein DNA Gyrase pada bakteri *Shigella flexneri* secara *in silico*.