

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi adalah keadaan mikroorganisme yang masuk ke dalam tubuh dan dapat berkembang biak hingga menimbulkan penyakit. Penyakit infeksi banyak terdapat pada daerah tropis salah satunya di Indonesia. *Escherichia coli* merupakan salah satu jenis bakteri yang paling sering ditemukan dari beberapa infeksi bakteri. *Escherichia coli* ini dapat menyebabkan penyakit infeksi yang sering dijumpai dikalangan masyarakat. Bakteri *Escherichia coli* merupakan salah satu bakteri gram negatif yang dapat berkembang biak didalam tubuh serta menjadi bakteri normal pada usus namun jika dalam keadaan tidak normal bersifat patogen seperti diare, infeksi saluran kemih, pneumonia, infeksi luka terutama didalam abdomen dan meningitis.¹ Keberadaan bakteri *Escherichia coli* ini sering dikaitkan dengan adanya suatu kontaminasi yang berasal dari feses karena *Escherichia coli* ini pada umumnya adalah bakteri yang hidup pada usus manusia maupun hewan sehingga membuat keberadaan bakteri ini pada air atau pangan menunjukkan adanya proses pengolahan yang mengalami kontak dengan kotoran.²

Suatu kondisi yang berkembang yang diakibatkan oleh infeksi dapat menyebabkan abnormalitas diberbagai sistem organ pada tubuh, salah satunya pada sistem hematologi. Sistem hematologi ini berfungsi untuk menyalurkan nutrisi, oksigen serta zat-zat lain ke semua organ, sehingga organ tubuh dapat melakukan fungsinya dengan baik. Jika fungsi hematologi terganggu, maka gangguan akan terjadi pada organ lain. Pada aktivitas patogen dari *Escherichia coli* mampu melisis dinding mukosa usus yang dapat mengakibatkan terjadinya pendarahan yang akan mempengaruhi trombosit. Anemia, leukositosis, leukopenia dan trombositopenia adalah abnormalitas paling umum yang terjadi pada sistem hematologi selama infeksi.³

Dalam meminimalisir berkembang biaknya daripada *Escherichia coli* maka dapat diberikannya tumbuhan yang mempunyai berbagai manfaat bagi kesehatan. Di Indonesia, ada banyak tanaman yang memberikan banyak manfaat bagi kesehatan, akan tetapi tidak banyak orang yang mengetahui serta memahami berbagai manfaat dari tanaman tersebut. Salah satu tanaman tersebut adalah tanaman kelor. Kelor adalah tanaman tradisional yang berkhasiat bagi masyarakat. Kelor (*Moringa oleifera*) merupakan salah satu tanaman herbal yang sering ditemukan dikalangan masyarakat, khususnya ditemukan pada daerah tropis yakni berada di Indonesia. Tanaman ini bisa tumbuh pada daerah tropis yang lembap atau lahan kering yang panas dan dapat bertahan hidup pada tanah yang kurang subur serta kering. Tanaman kelor ini mempunyai berbagai manfaat. Bagian pada tanaman kelor yang banyak manfaatnya salah satunya terletak didaunnya. Manfaat yang terdapat pada tanaman daun kelor yakni salah satunya sebagai antibakteri. Daun kelor juga mempunyai antioksidan yang tinggi yang dapat bermanfaat bagi kesehatan.⁴ Pada masyarakat Indonesia khususnya penduduk pedesaan, telah lama menggunakan kelor sebagai obat tradisional.⁵ Keberadaan tumbuhan kelor ini sangat mudah didapatkan di seluruh wilayah Indonesia.⁶

Daun kelor mengandung flavonoid, fenol, tanin, saponin, alkaloid dan steroid.⁷ Daun kelor (*Moringa oleifera*) ini mempunyai berbagai manfaat dalam kesehatan yang dapat digunakan sebagai antibakteri, penyakit infeksi, mencegah ulkus, peradangan, nyeri, meningkatkan kekebalan tubuh dan juga mempercepat proses penyembuhan luka.⁸ Selain itu, daun kelor ini juga dapat memberikan efek kesehatan berupa mencegah penyakit jantung, menyehatkan mata, mengobati rematik, mengobati penyakit dalam seperti batu ginjal dan mengobati kanker.⁹

Pada penelitian Rida dkk tentang daun kelor (*Moringa oleifera*) sebagai antibakteri terhadap infeksi bakteri *Escherichia coli* memaparkan bahwa ekstrak daun kelor mempunyai aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*.¹⁰ Penelitian Astawan dkk tentang gambaran hematologi

tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinfeksi *Escherichia coli* memaparkan bahwa terjadi penurunan jumlah trombosit akibat *Escherichia coli*.¹¹

Penelitian Yesi dkk tentang pengaruh pemberian ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap kadar hemoglobin pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar jantan memaparkan bahwa terdapat pengaruh kadar hemoglobin pada tikus yang diberikan ekstrak daun kelor.¹²

Berdasarkan hal di atas, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang perbedaan jumlah trombosit tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang terinfeksi *Escherichia coli* dengan pemberian ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dapat dirumuskan masalah penelitian yaitu bagaimana perbedaan jumlah trombosit tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang terinfeksi *Escherichia coli* dengan pemberian beberapa dosis ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) ?

1.3 Hipotesis

Ho : Tidak terdapat perbedaan jumlah trombosit tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*) setelah pemberian ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) dalam beberapa dosis.

Ha : Terdapat perbedaan jumlah trombosit tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*) setelah pemberian ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) dalam beberapa dosis.

1.4 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui perbedaan aktivitas ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) pada dosis 150 mg/kgBB dan 250 mg/kgBB terhadap jumlah trombosit tikus putih jantan galur wistar yang terinfeksi *Escherichia coli*.

1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1. Bagi Peneliti

Menambah pengetahuan dan pengalaman dalam penulisan karya tulis ilmiah, terkhusus mengenai penelitian eksperimental pada hewan yang di uji yaitu tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*) dan ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) serta memperluas ilmu mengenai *Escherichia coli* terhadap trombosit.

1.5.2. Bagi Instansi

Menambah referensi di Fakultas Kedokteran Universitas HKBP Nommensen Medan, sehingga penelitian ini dapat di manfaatkan sebagai dasar untuk melakukan penelitian selanjutnya dan menjadi suatu bahan tambahan bacaan bagi peneliti.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Trombosit

2.1.1. Struktur Trombosit

Trombosit adalah fragmen sel dengan ukuran kecil yang dikenal dengan keping darah.¹³ Trombosit ini merupakan fragmen sitoplasma megakariosit yang terbentuk di sumsum tulang.¹⁴ Jumlah trombosit ini perlu dijaga normal karena jika tidak maka akan mempengaruhi kondisi daripada kesehatan tubuh. Normal jumlah trombosit dalam darah tepi adalah 150.000 – 450.000/ μl dimana dengan proses pematangan selama 7-10 hari didalam sumsum tulang.¹⁵

Trombosit berbentuk cakram bikonveks, berdiameter 0,75-2,25 μm , memiliki berat jenis kecil dan tidak berinti.¹⁶ Trombosit berdiameter 2-5 μm dengan ketebalan 0,5 μm dan volume rata-rata sel 6-10 fl. Jika trombosit dalam darah kurang dari 150.000 maka orang tersebut mengalami kekurangan trombosit atau yang dikenal sebagai trombositopenia. Namun jika trombosit dalam darah lebih dari 450.000 maka mengalami kelebihan trombosit atau dikenal dengan istilah trombositosis.¹⁷

Trombosit dihasilkan didalam sumsum tulang dengan cara melepaskan diri (fragmentasi) dari perifer sitoplasma sel induknya (megakariosit) melalui rangsangan trombopoetin, yaitu asam glikoprotein yang diproduksi terutama di hati, ginjal dan sumsum tulang. Megakariosit berasal dari megakarioblas yang timbul dari proses diferensiasi sel asal hemapoetik prekursor mieloid paling awal yang membentuk megakariosit. Megakariosit matang dengan proses replikasi endomitotik inti secara sinkron. Volume sitoplasmanya bertambah besar pada waktu jumlah inti bertambah dua kali lipat. Biasanya saat megakariosit berisi 8 inti, replikasi inti lebih lanjut dan pertumbuhan sel berhenti, sitoplasma menjadi granular dan selanjutnya trombosit dibebaskan. Setiap megakariosit menghasilkan sekitar 4000 trombosit.¹⁸ Terdapat beberapa metode dalam melakukan pemeriksaan hitung jumlah trombosit diantaranya adalah menggunakan cara manual dan *automatic*. Cara manual terbagi atas cara langsung

dan cara tidak langsung. Cara tidak langsung menggunakan sediaan darah apus sedangkan cara *automatic* menggunakan alat *analyzer*.¹⁹

2.1.2. Fungsi Trombosit

Trombosit berperan penting dalam mempertahankan jaringan bila terjadi luka. Trombosit akan ikut serta dalam menutup luka sehingga tubuh tidak mengalami kehilangan darah dan terlindungi dari penyusupan benda dan sel asing. Pada waktu bersinggungan dengan permukaan pembuluh yang rusak, maka sifat-sifat trombosit segera berubah secara drastis yaitu trombosit mulai membengkak, bentuknya menjadi irregular dengan tonjolan-tonjolan, protein kontraktilnya berkontraksi dengan kuat dan menyebabkan pelepasan granula yang mengandung berbagai faktor aktif, trombosit menjadi lengket sehingga melekat pada serat kolagen, mensekresi sejumlah besar ADP dan enzim-enzimnya membentuk tromboksan A₂ yang juga disekresikan ke dalam darah. ADP dan tromboksan kemudian mengaktifkan trombosit yang berdekatan karena sifat lengket ini maka akan menyebabkan melekat pada trombosit semula yang sudah aktif sehingga dapat membentuk sumbat trombosit. Sumbat ini mulanya longgar, namun biasanya dapat berhasil menghalangi hilangnya darah pada luka di pembuluh darah yang berukuran kecil. Setelah itu, selama terjadinya proses pembekuan darah, benang-benang fibrin terbentuk dan melekat pada trombosit, sehingga terbentuklah sumbat yang rapat dan kuat.²⁰

Fungsi trombosit ini adalah untuk membentuk suatu plak yang merupakan respon hemostasis normal terhadap cedera vaskuler. Jika terdapat luka, maka trombosit akan berkumpul karena adanya rangsangan dari kolagen yang terbuka sehingga trombosit ini akan menuju luka tersebut yang kemudian memicu vasokonstriksi pembuluh darah dan memicu daripada pembentukan benang-benang fibrin. Benang-benang fibrin ini akan membentuk formasi seperti jaring-jaring yang akan menutupi dibagian daerah luka sehingga menghentikan perdarahan aktif yang telah terjadi pada luka. Selain itu, ternyata trombosit ini juga berperan dalam melawan infeksi virus dan bakteri dengan cara memakan virus dan bakteri yang masuk ke dalam tubuh kemudian dengan bantuan sel-sel kekebalan tubuh lainnya menghancurkan virus dan bakteri didalam trombosit tersebut. Dengan sifat trombosit yang mudah pecah dan bergumpal bila ada suatu gangguan,

trombosit juga dapat berperan dalam pembentukan plak didalam pembuluh darah. Plak tersebut justru bisa menjadi hambatan aliran darah, yang sering kali terjadi didalam pembuluh darah jantung maupun otak. Pembentukan plak selama respons homeostasis normal terhadap cedera vaskuler sebagai respon terhadap menghentikan perdarahan dengan cara mengurangi derasnya aliran darah yang keluar.²¹

2.2. *Escherichia coli*

2.2.1. Klasifikasi dan Morfologi *Escherichia coli*

Bakteri *Escherichia coli* ditemukan pada tahun 1885 oleh seorang ahli bakteriologi dari Jerman Theodor Escherich dan diberi nama sesuai dengan nama penemunya.² *Escherichia coli* merupakan bakteri yang berasal dari family *Enterobacteriaceae*. *Escherichia coli* adalah bakteri gram negatif berbentuk batang dengan panjang sekitar 2 μm dan diameter 0.5 μm . Volume sel *Escherichia coli* berkisar 0.6-0.7 m^3 , bersifat anaerob fakultatif, tidak berspora dan motil (dapat bergerak), tidak memiliki nukleus, organel eksternal maupun sitoskeleton tetapi memiliki organel eksternal yakni vili yang merupakan filamen tipis dan lebih panjang.¹



Gambar 2.1 *Escherichia coli*²²

Pada gambar di atas berdasarkan hasil pengamatan mikroskop dengan pembesaran 100x didapatkan hasil pewarnaan gram dari bakteri *Escherichia coli*.²² Bakteri *Escherichia coli* dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom : *Eubacteria*

Filum : *Proteobacteria*
Kelas : *Gammaproteobacteria*
Ordo : *Enterobacteriales*
Famili : *Enterobacteriaceae*
Genus : *Escherichia*
Species : *Escherichia coli*

Bakteri *Escherichia coli* yang patogen dapat tumbuh pada suhu rendah yaitu sekitar 7°C dan juga suhu tinggi yaitu sekitar 44°C, bakteri ini dapat hidup pada rentang suhu 20-40°C dengan suhu optimumnya pada 37°C. Bakteri *Escherichia coli* umum hidup di dalam saluran pencernaan manusia atau hewan. *Escherichia coli* ini salah satu bakteri yang mudah menyebar dengan cara mencemari air dan mengkontaminasi bahan-bahan yang bersentuhan langsung. *Escherichia coli* dapat hidup dan bertahan di luar tubuh manusia yang penyebarannya dapat melalui feses.²

Berdasarkan sifat virulensinya bakteri *Escherichia coli* digolongkan menjadi beberapa golongan yaitu :

A. *Enterotoxigenic Escherichia coli* (ETEC)

Golongan ETEC merupakan penyebab diare yang sering pada bayi di negara berkembang, hal tersebut diakibatkan virulensi yang dihasilkan oleh ETEC yaitu enterotoksin dan antigen vili (fimbriae), enterotoksin ETEC berupa toksin tidak tahan panas (*heat labile toxins*) dan toksin tahan panas (*heat stabile toxins*).

B. *Escherichia coli enteropatogenik* (EPEC)

EPEC merupakan strain pertama diantara strain *Escherichia coli* yang berhasil diidentifikasi sebagai penyebab diare pada pasien bayi dan anak-anak di Eropa. Oleh karena itu, EPEC merupakan penyebab diare cair yang sering terjadi pada bayi di negara berkembang tetapi dapat sembuh sendiri. EPEC akan menempel pada sel mukosa usus halus atau masuk kedalam mukosa yang dapat menyebabkan hilangnya mikrovili sehingga proses penyerapan terganggu dan terjadi diare.

C. *Escherichia coli enteroinvasive* (EIEC)

EIEC mempunyai beberapa persamaan dengan *Shigella* yaitu dalam hal reaksi biokimia, serologi dan sifat patogenitasnya. EIEC melakukan penetrasi di

mukosa usus dan akan multiplikasi pada sel-sel epitel kolon (usus besar). Kerusakan yang terjadi pada mukosa usus dapat menyebabkan diare berdarah. Gejala yang ditimbulkan mirip dengan disentri yang disebabkan oleh *Shigella*.

D. *Enterohaemorrhagic Escherichia coli* (EHEC)

EHEC merupakan penyebab diare ringan dan *hemorrhage colitis* (radang usus besar). Transmisi EHEC dapat melalui makanan yang dihidangkan tidak higienis dan penularan secara spontan atau secara kontak langsung, EHEC memproduksi sitotoksin yang dapat menyebabkan terjadinya peradangan dan perdarahan yang meluas di usus besar yang dapat menyebabkan *haemolytic uraemic syndrome* terutama pada anak-anak. Gejala yang timbul ditandai dengan diare akut, kejang, demam dan perlahan-lahan diare menjadi berdarah.

E. *Escherichia coli enteroaggregative* (EAEC)

EAEC merupakan penyebab diare akut dan kronik dalam jangka waktu lebih dari 14 hari pada orang-orang di negara berkembang, EAEC memproduksi hemolisin dan *Heat stabil toxin*, enterotoksin seperti yang dikeluarkan oleh ETEC. Toksin yang dihasilkan oleh EAEC dapat melekat pada bagian mukosa lumen usus yang dapat menyebabkan diare pada anak-anak.

2.2.2. Patogenesis yang disebabkan *Escherichia coli*

Patogenitas merupakan kemampuan organisme yang dapat menyebabkan penyakit. *Escherichia coli* dapat menyebabkan gejala penyakit jika mampu masuk kedalam tubuh inangnya dan beradaptasi serta dapat bertahan pada tubuh manusia, kemudian akan menyerang sistem kekebalan tubuh.

Adapun beberapa penyakit yang disebabkan oleh *Escherichia coli* yakni :

A. Diare

Patogenesis *Escherichia coli* dapat berawal dari pakan yang terkontaminasi sehingga bakteri masuk melalui oral. Bakteri melakukan infeksi lebih lanjut dengan cara melekat pada mukosa intestinal membentuk *filamentous actin pedestal* dan dengan berbagai faktor virulensi menyebabkan kerusakan sel dan jaringan. Sel-sel intestinal yang mengalami kerusakan selanjutnya berdampak pada kinerja proses pencernaan yang terganggu sehingga menyebabkan diare. Patogenesis *Escherichia*

coli terutama disebabkan karena toksin shiga 1 dan shiga 2 yang menyebabkan kerusakan jaringan terpapar toksin dan menyebabkan diare akibat mukosa intestinal yang mengalami kerusakan. Diare yang disebabkan oleh *Escherichia coli* dapat berupa diare ringan sampai dengan diare berdarah,

B. Infeksi saluran kemih

Infeksi saluran kemih (ISK) atau *urinary tract infection* dimulai ketika *uropathogenic Escherichia coli* (UPEC) masuk ke saluran kemih melalui meatus traktus urinarius sebelum naik (*ascending*) ke uretra dan lumen kandung kemih. UPEC merupakan bakteri gram negatif yang mengalami perubahan status dari flora normal dan bakteri komensal dalam usus menjadi bakteri patogen ekstraintestinal. *Escherichia coli* dari usus dapat masuk ke sistem saluran kemih dan berkoloni melalui uretra, area periuretral serta area vaginal. Kemampuan UPEC untuk menginfeksi saluran kemih tidak lepas dari berbagai faktor virulensi yang mendukung proses infeksi. Faktor virulensi penting *Escherichia coli* dikelompokkan menjadi dua kelompok, yaitu faktor pada permukaan bakteri dan faktor yang disekresi. Faktor yang berada pada permukaan bakteri, antara lain pili tipe 1 dan P, flagellum, kapsul lipopolisakarida dan protein membrane luar lainnya. Pili sendiri berperan dalam proses adhesi UPEC pada permukaan sel inang, invasi jaringan, pembentukan biofilm dan induksisitokin.²³

C. Pneumonia

Dalam keadaan sehat, tidak terjadi pertumbuhan mikroorganisme di paru. Keadaan ini disebabkan oleh mekanisme pertahanan paru. Apabila terjadi ketidakseimbangan antara daya tahan tubuh, mikroorganisme dan lingkungan, maka mikroorganisme dapat berkembang biak dan menimbulkan penyakit. Risiko infeksi di paru sangat tergantung pada kemampuan mikroorganisme untuk sampai dan merusak permukaan epitel saluran napas hingga terjadi pneumonia.

D. Infeksi luka terutama di dalam abdomen

Escherichia coli merupakan anggota flora usus normal, pada kondisi tertentu dapat menyebabkan infeksi usus dengan gejala diare karena daya penetrasi yang merusak sel mukosa, kemampuan memproduksi toksin yang mempengaruhi sekresi cairan di usus, serta meningkatkan daya lekat kuman.

E. Meningitis

Protein di dalam bakteri sebagai benda asing dan dapat menimbulkan respon peradangan. Eksudat terdiri dari bakteri fibrin dan leukosit yang dibentuk diruang subaraknoid. Penumpukan didalam cairan serebrospinal akan menyebabkan cairan menjadi kental sehingga dapat mengganggu aliran serebrospinal di sekitar otak dan medulla spinalis. Penambahan eksudat didalam ruang subaraknoid dapat menimbulkan peradangan lebih lanjut dan peningkatan tekanan intrakranial. Eksudat akan mengendap di otak dan saraf-saraf kranial dan spinal. Sel-sel meningeal akan menjadi edema, membran sel tidak dapat lebih panjang mengatur aliran cairan yang menuju atau keluar dari sel.²⁴

2.2.3. Pengaruh *Escherichia coli* terhadap Trombosit

Escherichia coli dapat menimbulkan suatu gejala penyakit apabila bakteri mampu masuk ke tubuh inangnya dan mampu beradaptasi serta bertahan di dalam tubuh manusia, kemudian menyerang sistem imun dan akhirnya menimbulkan penyakit. Patogenesis ini berlangsung dalam beberapa tahap seperti bakteri patogen lainnya, tahap ini adalah kolonisasi pada titik tertentu di sel permukaan usus (sel mukosa), pembelahan sel, perusakan sel usus, melintasi sel usus dan memasuki aliran darah, penambatan ke organ target dan pada akhirnya dapat menyebabkan kerusakan organ.² Pada aktivitas patogen dari *Escherichia coli* mampu melisis dinding mukosa usus yang dapat mengakibatkan terjadinya pendarahan dimana akan mempengaruhi trombosit. Pada saat *Escherichia coli* melisis dinding mukosa usus maka terjadi luka yang mengakibatkan fungsi kerja trombosit diproduksi dengan adanya rangsangan dari kolagen yang terbuka sehingga trombosit ini akan menuju luka tersebut yang kemudian memicu vasokonstriksi pembuluh darah dan memicu daripada pembentukan benang-benang fibrin. Benang-benang fibrin ini akan membentuk formasi seperti jaring-jaring yang akan menutupi di bagian daerah luka sehingga menghentikan perdarahan aktif yang telah terjadi pada luka. Hal ini dapat mempengaruhi produksi jumlah trombosit.²¹

2.3. Kelor (*Moringa oleifera*)

2.3.1. Deskripsi Kelor (*Moringa oleifera*)

Kelor dikenal juga sebagai *the miracle tree* atau pohon ajaib karena terbukti secara alamiah tumbuhan kelor sangat bermanfaat bagi kehidupan masyarakat.²⁵ Kelor (*Moringa oleifera*) merupakan tanaman asli India, tepatnya berasal dari kawasan di kaki bukit Himalaya Asia Selatan. Saat ini telah menyebar ke beberapa negara tropis termasuk beberapa negara, khususnya Madagaskar, Namibia, Angola, Kenya, Ethiopia, Pakistan, Bangladesh dan Afghanistan. Pada saat ini tanaman kelor telah banyak dibudidayakan dan beradaptasi dengan baik serta sudah tumbuh dan juga berkembang salah satunya di negara Indonesia. *Moringa oleifera* adalah tanaman yang termasuk dalam famili *Moringaceae*.²⁶

Kelor adalah tanaman yang berumur panjang dan berbunga terus menerus. Kelor dapat tumbuh pada semua jenis tanah dan tahan terhadap musim kering dengan toleransi terhadap kekeringan sampai 6 bulan. Salah satu tanaman kelor ini dapat tumbuh dengan ketinggian 7 hingga 11 meter dan berdiameter 30 cm. Daun dari tanaman kelor mempunyai karakteristik bersirip tak sempurna, berbentuk telur, kecil, seukuran ujung jari, dengan ukuran panjang 1-3 cm, lebar 4 mm sampai 1 cm, ujung daun tumpul, pangkal daun membulat dan tepi daun rata. Daunnya berwarna hijau sampai hijau kecoklatan, bertangkai dan tersusun berseling. Kelopak kuncup bunga berwarna hijau dan mengeluarkan aroma harum. Bunga pada tanaman kelor berwarna putih kekuning-kuningan, bunga muncul di ketiak daun, bertangkai panjang, kelopak berwarna putih hingga krem dan beraroma khas. Bunga kelor memiliki panjang 10-15 cm dengan 5 kelopak yang mengelilingi 5 benang sari, 5 stamidia dan bunga kelor muncul sepanjang tahun. Bagian batang tegak, berwarna putih kotor, kulit tipis, permukaan kasar, arah cabang tegak atau miring, cenderung tumbuh lurus dan memanjang. Bagian dalam kulit akar berwarna kuning pucat dengan garis-garis halus yang terang dan melintang, serta berbau tajam. Buah kelor panjang berbentuk segitiga dengan panjang 20-60 cm. Buah muda berwarna hijau dan buah yang sudah tua berwarna coklat. Buah kelor akan menghasilkan biji yang dapat dibuat menjadi tepung atau minyak sebagai bahan baku pembuatan obat dan kosmetik. Biji didalam polong memiliki bentuk bulat, berwarna coklat kehitaman dan didalam setiap polong berisi 12-35 biji. Setiap tanaman kelor dapat menghasilkan 15.000-25.000 biji per tahun. Akarnya sendiri tidak keras, bentuknya tidak beraturan, memiliki permukaan luar yang licin, sedikit berserabut, kulit akarnya

tajam dan harum, bagian dalam akar berwarna kuning pucat, dengan garis-garis halus dan bagian kayu berwarna coklat muda atau krem, mudah dibiakkan serta tidak perlu perawatan intensif.²⁷



Gambar 2.2 Daun kelor²⁶

Menurut *Integrated Taxonomic Information System* (2017), klasifikasi tanaman kelor sebagai berikut:

Kingdom : *Plantae*
Divisi : *Spermatophyta*
Subdivisi : *Angiospermae*
Kelas : *Dicotyledoneae*
Ordo : *Brassicales*
Familia : *Moringaceae*
Genus : *Moringa*
Spesies : *Moringa oleifera lamk*²⁸

Tanaman kelor dikenal dengan sejumlah nama yang berbeda di seluruh Indonesia, antara lain *kelor* (Jawa, Sunda, Bali, dan Lampung), *maronggih* (Madura), *moltong* (Flores), *keloro* (Bugis), *ongge* (Bima), *murong* atau *barunggai* (Sumatera) dan *hau fo* (Timur).⁹

2.3.2. Manfaat Kelor (*Moringa oleifera*)

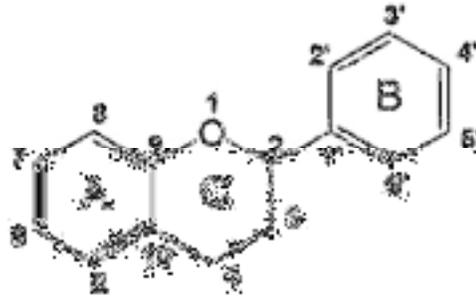
Tanaman kelor ini mempunyai berbagai manfaat baik secara kesehatan dan ekonomis. Kelor merupakan jenis tanaman multiguna, dimana kelor ini banyak digunakan dan bermanfaat pada masyarakat. Tanaman kelor ini dapat bermanfaat sebagai tumbuhan berkhasiat obat yang sudah lama dikenal masyarakat khususnya dilingkungan pedesaan. Batang kelor dijadikan masyarakat sebagai pagar hidup yang ditanam dibelakang maupun disamping rumah, adapula yang menggunakannya sebagai pembatas lahan. Daun kelor dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai sayuran untuk menu sehari-hari dan daun kelor ini juga sering dijadikan sebagai teh daun kelor. Pada buahnya dimanfaatkan sebagaimana daun kelor yaitu diolah sebagai sayuran. Pada akar kelor, banyak digunakan untuk obat luar (balur). Beberapa komponen yang terkandung pada daun kelor dapat memberikan efek kesehatan berupa antibakteri, antiinflamasi, antioksidan, antidiabetes, mencegah penyakit jantung, menyehatkan mata, mengobati luka lambung, luka usus dan mengobati kanker.^{28,9}

2.3.3. Kandungan Daun Kelor (*Moringa oleifera*)

Salah satu bagian dari tanaman kelor yang banyak diteliti kandungan gizi dan kegunaannya didalam bidang pangan dan juga kesehatan yaitu bagian daun kelor. Daun kelor mengandung kalsium, potasium, zinc, magnesium, besi dan tembaga.²⁹ Selain itu vitamin A seperti beta-karoten, vitamin B seperti asam folat, vitamin C, vitamin D dan vitamin E juga terkandung dalam tanaman kelor. Pada hasil fitokimia memperlihatkan bahwa daun kelor ini kaya akan flavonoid, fenol, tanin, saponin alkaloid dan steroid yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri.⁷

2.3.4. Pengaruh *Moringa oleifera* terhadap bakteri *Escherichia coli*

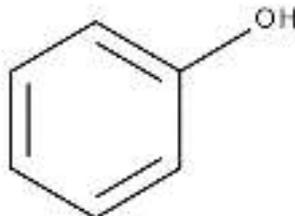
Daun kelor mengandung senyawa flavonoid, fenol, tanin, saponin, alkaloid dan steroid yang bersifat antibakteri. Aktivitas antibakteri pada senyawa flavonoid dengan menghambat sintesis asam nukleat dari bakteri, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi.



Gambar 2.3 Struktur Flavonoid³⁰

Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa phenolik dengan struktur kimia C₆-C₃-C₆. Cincin A dan B flavonoid menyebabkan asam basa nukleat bertumpuk sehingga menghambat pembentukan DNA dan RNA bakteri. Pada cincin B gugus hidroksil terletak di posisi 2',4' atau 2',6' dihidroksilasi dan pada cincin A terletak pada 5,7 dihidroksilasi keduanya berperan penting terhadap aktivitas antibakteri flavonoid. Hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri juga dapat menyebabkan kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom. Flavonoid akan menghambat ikatan enzim ATPase dan phospholipase sehingga permeabilitas membran sel akan terganggu. Flavonoid juga akan membentuk senyawa dengan protein ekstraseluler terlarut yang akan mengakibatkan rusaknya membran sel bakteri sehingga fungsi membran sel terhambat dan senyawa intraseluler bakteri keluar. Aktivitas antibakteri dari flavonoid lainnya yaitu dengan menghambat metabolisme energi. Flavonoid akan menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri.^{7,31}

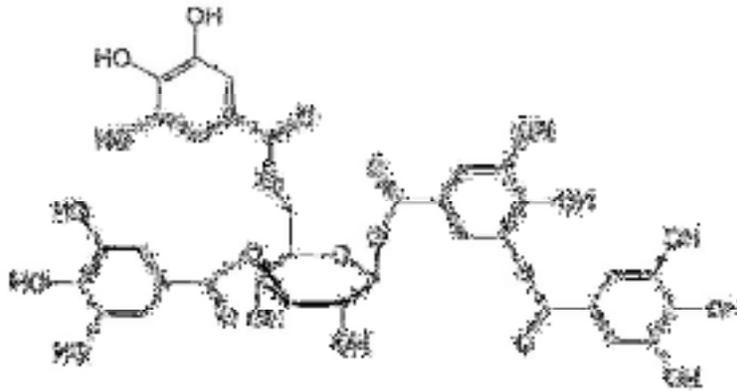
Senyawa fenol yang memiliki aktivitas antibakteri dengan mendenaturasi protein sel.



Gambar 2.4 Struktur Fenol³²

Fenol atau asam karbolat atau benzenol adalah zat kristal tak berwarna yang memiliki bau khas. Rumus kimianya adalah C_6H_5OH dan strukturnya memiliki gugus hidroksil (-OH) yang berikatan dengan cincin fenil. Fenol membentuk ikatan hidrogen bersama protein yang menyebabkan struktur protein rusak dan mempengaruhi permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma, dikarenakan protein menyusun keduanya, setelah itu akan menyebabkan tidak seimbangnya makromolekul dan ion dalam sel, sehingga mengakibatkan sel menjadi lisis.⁷

Senyawa tanin memiliki aktivitas antibakteri dengan menghambat *reverse transcriptase enzyme* dan DNA topoisomerase sehingga tidak dapat membentuk sel bakteri, juga memiliki kemampuan untuk menginaktifkan adhesin sel bakteri, menginaktifkan enzim, serta mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel.

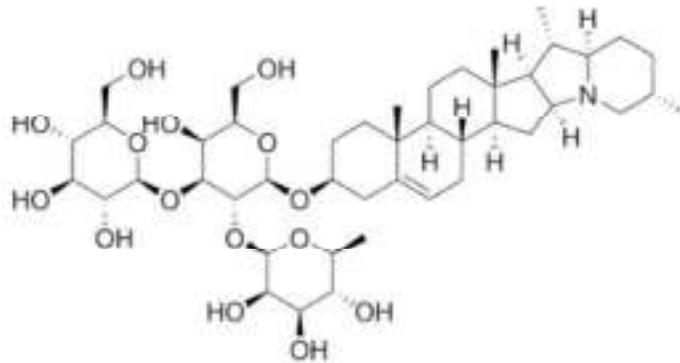


Gambar 2.5 Struktur Tanin³³

Senyawa ini menargetkan polipeptida dinding sel tempat dimana pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna yang menyebabkan sel bakteri mati karena lisis yang disebabkan oleh tekanan osmotik ataupun fisik. Mikroorganisme yang tumbuh pada kondisi aerobik memerlukan zat besi untuk beragam fungsi, salah satunya yaitu reduksi prekursor ribonukleotida DNA. Tidak hanya itu, tanin memiliki kemampuan mengikat ion besi yang kuat. Hal ini menyebabkan *reverse transcriptase enzyme* dan DNA topoisomerase terhambat, sehingga tidak dapat membentuk sel bakteri.⁷

Senyawa saponin memiliki permukaan deterjen yang dapat menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri sehingga menyebabkan kerusakan membran sel bakteri yang sangat mengganggu, akibatnya saponin akan menurunkan tegangan permukaan

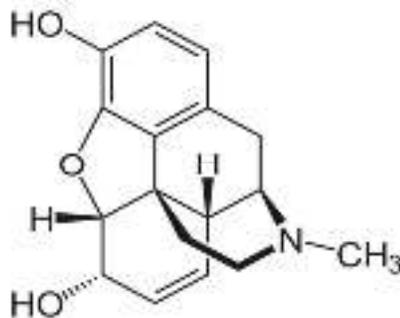
dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membran sel yang sangat mengganggu kelangsungan hidup bakteri.



Gambar 2.6 Struktur Saponin³⁴

Saponin dapat berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan yang akan meningkatkan membransitoplasm dan mengakibatkan sitoplasma bocor keluar dari sel sehingga mengakibatkan kematian sel.⁷

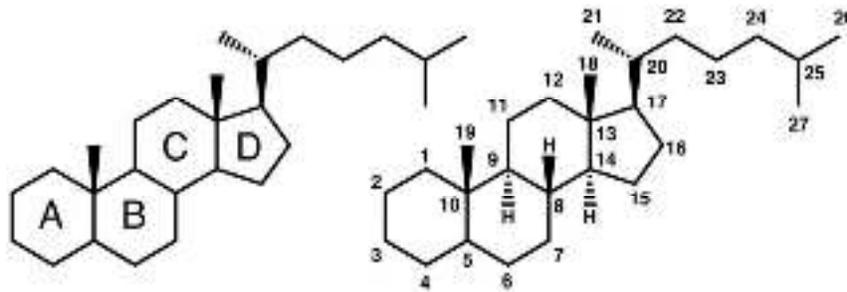
Senyawa alkaloid dapat terjadi dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak sempurna, yang selanjutnya akan menyebabkan kematian dari sel bakteri.



Gambar 2.7 Struktur Alkaloid³⁵

Mekanisme lain antibakteri alkaloid yaitu komponen alkaloid diketahui sebagai interkelator DNA dan menghambat enzim topoisomerase sel bakteri.⁷

Aktivitas antibakteri pada steroid berkaitan dengan membran lipid dan sensitivitas atas komponennya yang mengakibatkan kebocoran liposom.



Gambar 2.8 Struktur Steroid³⁶

Senyawa ini dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid sel dengan sifat permeabel terhadap senyawa-senyawa lipofilik yang mengakibatkan integritas membran menurun dan morfologi membran sel berubah sehingga sel akan rapuh dan lisis.⁷

2.3.5. Ekstraksi

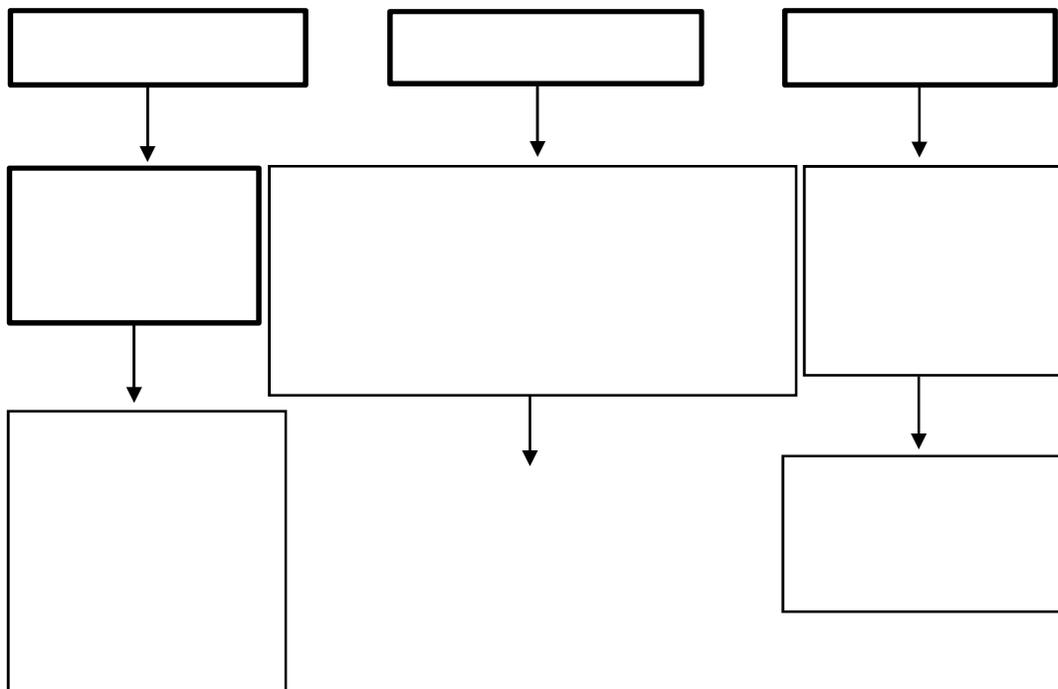
Salah satu cara yang dapat digunakan untuk mendapatkan kandungan senyawa aktif pada suatu tanaman dengan teknik ekstraksi. Ekstraksi merupakan sari yang diambil dari zat aktif yang diinginkan dari bahan mentah dengan menggunakan pelarut tertentu yang dipilih. Ekstrak adalah suatu sediaan yang kental yang didapatkan dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia menggunakan pelarut yang sesuai.³⁷

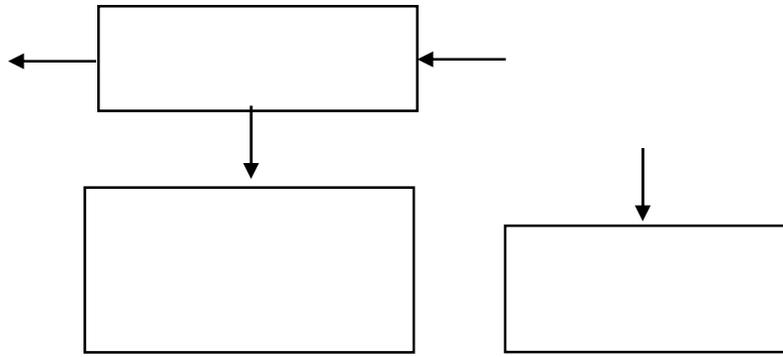
Metode ekstraksi dibedakan dengan ada tidaknya proses pemanasan. Dalam pemanasan ini berpengaruh terhadap efektifitas proses ekstraksi juga bergantung pada senyawa target yang diharapkan setelah proses ekstraksi. Teknik ekstraksi senyawa aktif bahan alam yang dapat digunakan salah satunya adalah maserasi. Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan yang bertujuan untuk menarik zat-zat yang tahan pemanasan maupun yang tidak tahan terhadap pemanasan. Maserasi merupakan cara penyarian sederhana yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan pada penyari menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut karena adanya perbedaan antara konsentrasi larutan zat aktif didalam sel dengan yang diluar sel, maka larutan yang terpekat akan disedak keluar. Hal ini berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan.

2.4. Tikus Putih Galur Wistar (*Rattus norvegicus*)

Penggunaan hewan dapat dilakukan dalam suatu penelitian sebagai hewan uji coba. Jika dilakukan percobaan secara langsung pada manusia dapat berisiko mengancam kesehatan fisik maupun psikis hingga dapat mengakibatkan kematian. Oleh karena itu, dapat dilakukan pada hewan yang memberikan gambaran secara ilmiah yang mungkin terjadi pada manusia.³⁸ Tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus*) adalah hewan mamalia yang sering digunakan dalam berbagai penelitian menjadi hewan uji coba karena tikus ini memiliki daya adaptasi yang baik. Tikus yang sering digunakan dalam berbagai penelitian sebagai hewan uji coba salah satunya tikus putih galur wistar karena berbagai keunggulannya seperti tubuh yang kecil, mudah dalam pemeliharaan dan juga penanganannya. Tikus yang paling sering digunakan dalam uji coba suatu penelitian adalah tikus galur wistar jantan karena miliki keadaan emosi yang lebih stabil dibandingkan dengan tikus galur wistar betina.³⁹ Jumlah normal trombosit pada tikus putih galur wistar adalah 638.000 – 1.177.000/ μ L.⁴⁰

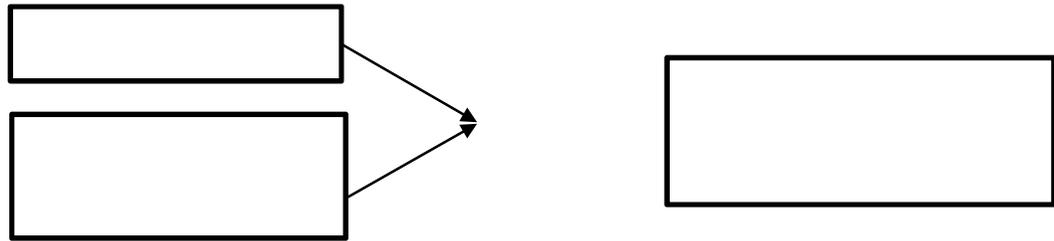
2.5. Kerangka Teori





Gambar 2.9 Kerangka Teori

2.6. Kerangka Konsep



Gambar 2.10 Kerangka Konsep

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1. Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain eksperimental dengan *Post Test Control Group Design*. Penelitian ini melakukan pengamatan terhadap kelompok negatif dan perlakuan setelah diberikan suatu tindakan.

3.2. Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1. Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmasi Universitas Sumatera Utara dan Laboratorium Kesehatan Daerah Medan. Pada Laboratorium Farmasi dilakukan mulai dari pembuatan ekstrak, pemeliharaan sampai dengan memberikan perlakuan terhadap hewan uji. Pada Laboratorium Kesehatan Daerah Medan dilakukan pemeriksaan trombosit setelah selesai pemberian perlakuan di Laboratorium Farmasi Universitas Sumatera Utara.

3.2.2. Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Oktober - Desember 2022

3.3. Populasi Penelitian

3.3.1. Populasi Target

Tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*)

3.4. Sampel, Estimasi Besar Sampel dan Penentuan Jumlah Sampel

3.4.1. Sampel

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang memenuhi kriteria inklusi

3.4.2. Estimasi Besar Sampel

Penentuan besar sampel dilakukan dengan penggunaan rumus *Federer* :

Keterangan :



t = Kelompok perlakuan

n = jumlah sampel untuk 1 kelompok perlakuan

$$(t-1) (n-1) \geq 15$$

$$(3-1) (n-1) \geq 15$$

$$2 (n-1) \geq 15$$

$$2n - 2 \geq 15$$

$$n \geq 8,5 = 9$$

$$n \geq 9$$

$$\text{Besar sampel} = t \times n$$

$$= 3 \times 9$$

$$= 27 \text{ ekor tikus}$$

Keseluruhan tikus yang digunakan dibagi menjadi 3 kelompok dan masing-masing kelompok terdiri dari 9 ekor tikus.

3.4.3. Penentuan Jumlah Sampel Tikus

Dalam penelitian ini penulis menggunakan teknik *purposive sampling*. Subjek pada penelitian ini adalah tikus putih jantan galur wistar. Jumlah tikus yang digunakan sebanyak 27 ekor, yang dibagi menjadi 3 kelompok. Adapun kelompok tersebut sebagai berikut :

- ✓ Kelompok negatif (P1) diinfeksi *Escherichia coli* dengan pemberian pakan standart
- ✓ Kelompok perlakuan 1 (P2) diinfeksi *Escherichia coli* dengan pemberian ekstrak daun kelor dengan dosis sebanyak 150 mg/kgBB dan pakan standart
- ✓ Kelompok perlakuan 2 (P3) diinfeksi *Escherichia coli* dengan pemberian ekstrak daun kelor dengan dosis sebanyak 250 mg/kgBB dan pakan standart

3.5. Kriteria Inklusi dan Eksklusi

3.5.1. Kriteria Inklusi

- Tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*) dengan berat badan 150-250 gram
- Usia tikus 2-3 bulan
- Tidak ada abnormalitas anatomis

3.5.2. Kriteria Eksklusi

- Tikus yang mati selama perlakuan

3.6. Alat dan Bahan

3.6.1. Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain alat *hematology analyzer*, gelas ukur, blender, kain lap, wadah, batang pengaduk, *rotary vacuum evaporator*, corong, kertas saring, pipet tetes, tabung reaksi, ose, *erlenmeyer*, rak tabung reaksi, spuit, sonde oral, *container box*, label penanda dan timbangan digital.

3.6.2. Bahan

Daun kelor (*Moringa oleifera*), etanol 96%, bakteri *Escherichia coli*

3.7. Prosedur Kerja

Untuk mendapat gambaran secara jelas bagaimana jalannya penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Peneliti meminta izin dengan mengurus *ethical clearance* yang diajukan ke institusi pendidikan Fakultas Kedokteran Universitas HKBP Nommensen Medan.

2. Peneliti juga meminta izin permohonan pelaksanaan penelitian pada laboratorium yang akan diajukan kepada ke institusi pendidikan Fakultas Kedokteran Universitas HKBP Nommensen Medan

3. Peneliti mengajukan surat izin penelitian kepada laboratorium tempat penelitian.

4. Penyiapan hewan uji

Dilakukan adaptasi terhadap hewan selama 7 hari di animal house. Hewan uji yang dipakai sebanyak 27 ekor kemudian akan dikelompokkan menjadi 3 kelompok. Masing-masing kelompok terdiri dari 9 ekor yang kemudian akan di letakkan dalam satu kandang.

5. Pembuatan ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*)

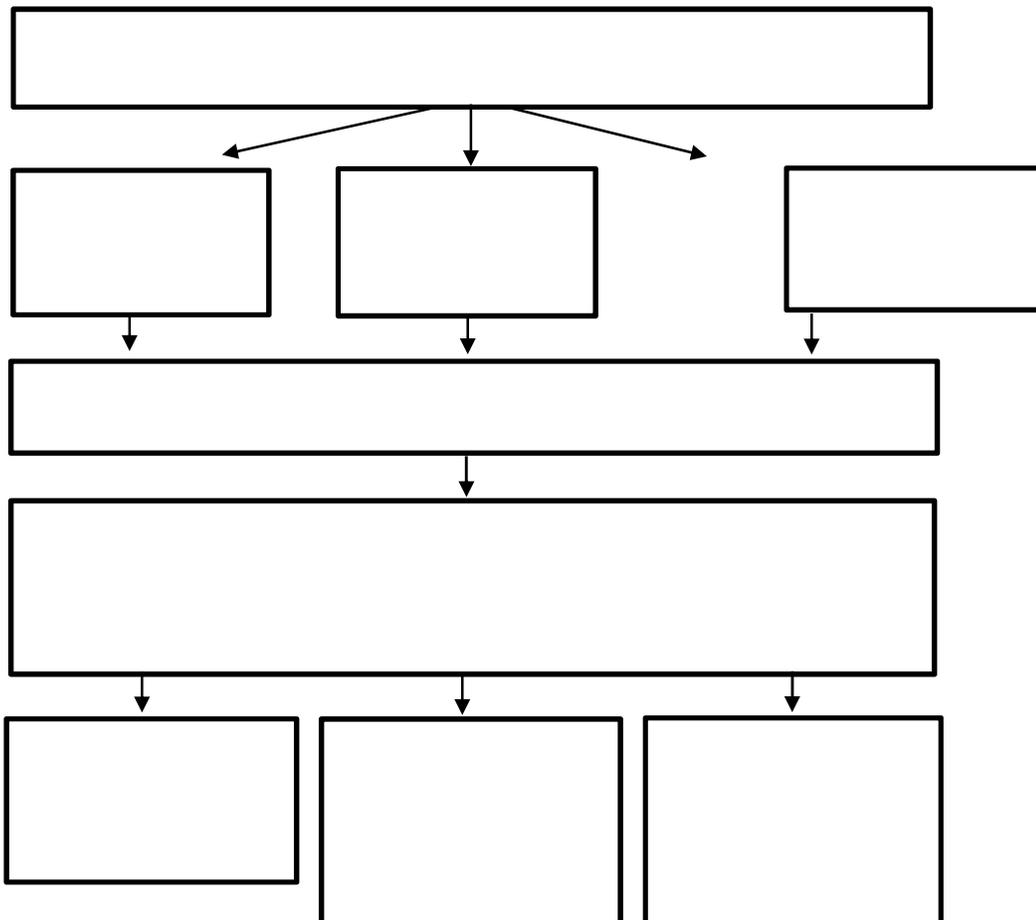
Pembuatan ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) dibuat dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Daun kelor dibersihkan dari kotoran dengan cara dicuci dibawah air mengalir sampai bersih lalu diiris-iris tipis kemudian dijemur hingga kering. Setelah kering daun kelor akan dihaluskan menjadi serbuk dengan menggunakan blender. Kemudian daun kelor yang telah halus dimaserasi dengan mencampurkan etanol 96% ke dalam bejana kemudian di tutup rapat dan didiamkan selama 3 hari sambil diaduk sesekali. Selanjutnya larutan dari daun kelor disaring sehingga diperoleh filtrat dan ampas lalu akan dilakukan perendaman kembali terhadap sisa ampas tersebut dengan etanol yang baru. Setelah itu akan disaring dengan menggunakan corong dan kertas saring dan ditampung. Semua filtrat yang telah terkumpul akan dimasukkan ke dalam *rotary vacuum evaporator* dengan suhu 40°C, kemudian filtrat yang tersisa diuapkan dengan *waterbath* sehingga diperoleh ekstrak yang kental.²¹ Pada ekstrak ini dilakukan dengan menggunakan konsentrasi 100 %.

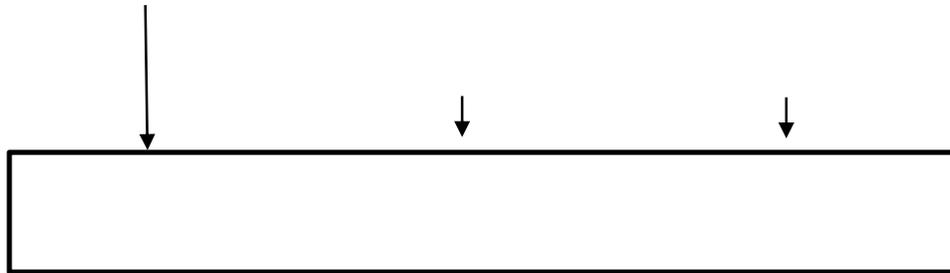
6. Pengambilan sampel darah dan pembacaan hasil

Tikus putih jantan galur wistar ini dipegang bagian tubuhnya kemudian dilakukan proses pengambilan sampel darah dimulai dengan memposisikan tikus dengan posisi terlentang di baki pembedahan lalu menusuk pada jantung dengan jarum suntik untuk mendapatkan sampel darahnya. Darah yang didapatkan dimasukkan ke dalam tabung EDTA kemudian darah diperiksa dengan alat *hematology analyzer* di laboratorium untuk dilakukan pembacaan hasil.

7. Percobaan

- Langkah I : tikus yang digunakan 27 ekor yang dibagi menjadi 3 kelompok dimana pada masing-masing kelompok terdiri dari 9 ekor. 1 kelompok negatif dan 2 kelompok perlakuan.
- Langkah II : tikus akan diadaptasi selama 7 hari serta diberikan pakan dan minum sebelum dilakukannya perlakuan.
- Langkah III : semua kelompok tikus diinfeksi dengan bakteri *Escherichia coli* menggunakan sonde oral dan dibiarkan selama 4 hari sampai mengalami infeksi. Tanda-tanda infeksi adalah feses yang melembek dan mencair bahkan sampai berdarah.
- Langkah IV : diberikan ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) pada kelompok perlakuan 1 (P2) dengan dosis 150 ml/kgBB/hari dan pakan standart, kelompok perlakuan 2 (P3) dengan dosis 250 ml/kgBB/hari dan pakan standart sedangkan kelompok negatif (P1) hanya diberikan pakan standart selama 7 hari.
- Langkah V : setelah 7 hari perlakuan selanjutnya dilakukan pemeriksaan jumlah trombosit tikus.





Gambar 3.1 Alur Penelitian

3.8. Identifikasi Variabel

3.8.1. Variabel Independen

Ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) dan *Escherichia coli*

3.8.2. Variabel Dependen

Jumlah trombosit tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*)

3.9. Defenisi Operasional

| No | Variabel | Definisi Operasional | Alat Ukur | Hasil Ukur | Skala Ukur |
|----|--------------------|--|---------------------------------|---------------|------------|
| 1. | Jumlah trombosit | Nilai trombosit yang dihitung dengan mengambil sampel darah sebanyak 1 ml | Alat <i>hematology analyzer</i> | μL | Rasio |
| 2. | Ekstrak daun kelor | Ekstrak daun kelor merupakan ekstrak yang diperoleh melalui proses ekstraksi dari daun | Sprit | ml | Rasio |

| | | | | | | |
|------------------|-----------|--------------------|-------------------------|------|----|-------|
| Tabel 3.1 | | | kelor melalui proses | | | |
| Defenisi | | | maserasi dengan | | | |
| | | | larutan etanol 96% | | | |
| Operasion | 3. | <i>Escherichia</i> | Mengambil | Sput | ml | Rasio |
| al | | <i>coli</i> | <i>Escherichia coli</i> | | | |
| | | | sebanyak 1 ml dan | | | |
| 3.10. Ana | | | memberikan pada | | | |
| lisa Data | | | tikus percobaan | | | |

Data hasil penelitian ini data dianalisis menggunakan komputer. Data dianalisa dengan uji normalitas menggunakan Uji *Shapiro-Wilk*, Selanjutnya menggunakan uji *One-way Anova* untuk mengetahui perbedaan rata-rata kelompok tikus yang diberi ekstrak daun kelor dengan dosis 150 mg/kgBB, kelompok tikus yang diberi ekstrak daun kelor dengan dosis 250 mg/kgBB dan kelompok negatif yang tidak diberi ekstrak daun kelor.