

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Buah Apel

2.1.1 Taksonomi Buah Apel



Gambar 2.1

Buah Apel *Malus domestica*

(Jung et al., 2019)

Buah Apel memiliki taksonomi berikut :

Kingdom : *Plantae*

Division : *Tracheophyta*

Class : *Magnoliopsida*

Ordo : *Rosales*

Family : *Rosaceae*

Genus : *Malus*

Species : *Malus domestica*

(ITIS, 2023b)

2.1.2 Deskripsi

Buah Apel (*Malus domestica*) merupakan salah satu buah paling banyak dikonsumsi oleh masyarakat dunia dengan nilai pasar industri produksi apel mencapai \$8-10 Miliar Dollar Amerika Serikat per tahunnya (Guiné et al., 2021; Oyenihini et al., 2022). Konsumsi Buah Apel digemari karena rasa, warna, tekstur, dan kandungan nutrisinya, yaitu makronutrien (seperti serat, lemak, dan protein), asam organik (seperti asam maleat), vitamin (seperti C, E, B6), mineral (seperti kalium, magnesium, kalsium), dan zat elemen lainnya (seperti zinc, besi, tembaga) (Guiné et al., 2021; Oyenihini et al., 2022). Buah Apel juga dikenali sebagai salah satu sumber besar nutrisi senyawa bioaktif yang memiliki beragam manfaat kesehatan seperti antiinflamasi, antioksidan, antikarsinogenik, antidepresan, dan antimikroba (Guiné et al., 2021). Senyawa bioaktif dalam apel sebagian besar terdiri dari flavonoid, polifenol, dan asam fenolat, serta variasi dalam jumlah komposisinya bergantung pada proses kultivasi di pertanian, pemrosesan buah di fasilitas sebelum dikonsumsi, dan proses penyimpanan atau pengawetan buah tersebut, baik oleh distributor maupun konsumen, berikut jumlah komposisinya dalam apel (Francini & Sebastiani, 2013):

Tabel 2.1. Komposisi Fitokimia Buah Apel

Buah Apel <i>Malus domestica</i>	
Senyawa	Jumlah Komposisi
Polifenol	97,9-263,1 mg/apel
Asam Fenolat	10,6-80,3 mg/apel
Flavonoid	19,6-55,8 mg/apel

2.2 Cuka Apel

2.2.1 Deskripsi

Cuka Apel (*Apple Cider Vinegar*) merupakan hasil dari proses fermentasi jus lumatan buah apel oleh bakteri dan khamir yang ditambahkan untuk memproses glukosa yang ada. Proses fermentasi glukosa akan mengubahnya menjadi etil alkohol (*Apple Cider*) yang kemudian akan difermentasi oleh bakteri *Acetobacter* menjadi asam asetat atau Cuka (*Vinegar*) (Gopal et al., 2019; Yagnik et al., 2018). Cuka Apel diproduksi untuk meragamkan produk pengolahan apel dalam meningkatnya penggunaan cuka untuk penambah rasa makanan, pengawet makanan, dan pengobatan alami (Guiné et al., 2021). Manfaat Cuka Apel untuk kesehatan telah tercatat sejak 5000 tahun yang lalu dan salah satu bahan pengobatan tradisional yang digunakan oleh Hippocrates (Gopal et al., 2019). Cuka Apel memiliki beberapa manfaat

farmakologis seperti antidiabetes, antialzheimer, antioksidan, serta antimikroba (Ousaaid et al., 2021).

2.2.2 Proses Fermentasi Cuka Apel

Kriteria pencukaan memiliki perbedaan, namun proses fermentasi cuka apel akan dikatakan berhasil apabila mencapai batas minimal kandungan asam asetat yang umumnya sebanyak 4% (b/v) (Guiné et al., 2021). Dalam proses tradisionalnya, cuka apel diproses dari lumatan apel yang kemudian difermentasikan di dalam tong kayu. Proses fermentasi alkohol serta asam asetat terjadi di dalam tong tersebut setelah ditambahkan mikroflora (khamir dan bakteri asam asetat) dan proses ini dapat berlangsung selama 5-6 bulan (Guiné et al., 2021).

Dalam proses fermentasi alkoholik, fermentasi lumatan apel utamanya dibantu oleh khamir *Saccharomyces cerevisiae* dengan mengubah glukosa yang ada menjadi etil alkohol, serta pada akhir fermentasi umumnya terdapat kadar alkohol 5-10% (Guiné et al., 2021). *Apple Cider* yang merupakan hasil fermentasi alkoholik akan dilanjutkan untuk fermentasi kedua kalinya dengan diinokulasikan kultur bakteri asam asetat, umumnya *Acetobacter*, untuk mengubah etil alkohol menjadi asam asetat dengan komposisi pemberian yaitu 1 bagian kultur untuk 5 bagian *Apple Cider*, dengan hasil akhir berupa Cuka Apel (Guiné et al., 2021).

Proses fermentasi asam asetat memiliki 2 metode yang berbeda, yaitu metode tradisional *Orleans* atau metode permukaan dengan menginokulasikan kultur, atau dengan metode rendam, yaitu dengan juga menambahkan saluran oksigen untuk meningkatkan fermentasi. Metode *Orleans* akan memberikan hasil cuka apel yang beraroma dan metode rendam menitikberatkan pada hasil asam asetat yang banyak serta durasi fermentasi yang lebih pendek (Guiné et al., 2021).

2.2.3 Komponen Antimikroba Cuka Apel

Efek antimikroba Cuka Apel diketahui berasal dari komponen asam organiknya dan senyawa bioaktif, yaitu :

A. Asam Asetat

Asam Asetat mampu merusak struktur dinding sel bakteri dan menyebabkan hilangnya ATP (*Adenosine Triphosphate*) dari sel (Zinn & Bockmühl, 2020). Asam Asetat juga dapat mengganggu potensial hidrogen sel bakteri dan menyebabkan terjadinya difusi yang tidak terkendali di membran plasma sel bakteri (Ousaaïd et al., 2021; Yagnik et al., 2018).

B. Polifenol

Polifenol dapat merusak integritas sel bakteri dengan merusak struktur peptidoglikan dan membran fosfolipid, serta menghambat pembentukan enzim bakteri

dengan menghambat penyusunan rantai amino dan karboksil (Kara et al., 2021; Ousaaïd et al., 2021; Prabowo et al., 2022).

C. Asam Fenolat

Asam Fenolat diketahui mampu memengaruhi pH ekstraseluler menjadi asam sehingga mengganggu kerja pompa natrium pada membran seluler (Lobiuc et al., 2023). Pada intrasel, sifat asam fenolat yang lipofilik mampu menembus membran bakteri dan mampu mengasamkan sitoplasma sel (Kumar & Goel, 2019; Lobiuc et al., 2023).

D. Flavonoid

Senyawa Flavonoid memiliki efek pada sel bakteri berupa mengganggu membrane sel dengan merusak struktur lipopolisakarida, menghambat pompa efluks, serta menghambat sekresi enzim bakteri yang berperan pada resistensi antibiotik (Kara et al., 2021; Prabowo et al., 2022).

2.3 Bakteri *Klebsiella pneumoniae*

2.3.1 Taksonomi *Klebsiella pneumoniae*

Bakteri *Klebsiella pneumoniae* memiliki taksonomi berikut :

Kingdom : *Bacteria*

Phylum : *Proteobacteria*

Class : *Gamma Proteobacteria*

Ordo : *Enterobacteriales*

Family : *Enterobacteriaceae*

Genus : *Klebsiella*

Species : *Klebsiella pneumoniae*

(ITIS, 2023a)

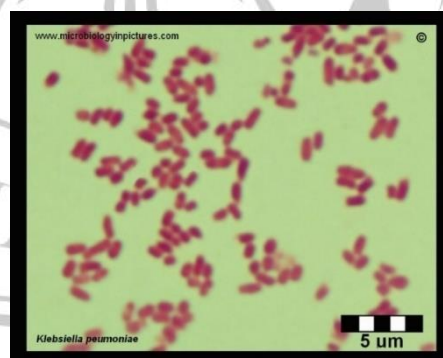
2.3.2 Deskripsi

Klebsiella pneumoniae (*K. pneumoniae*) merupakan bakteri normal flora pada manusia yang berkoloni di mukosa traktus pernafasan atas dan traktus pencernaan (Chang et al., 2021). Namun, bakteri ini juga merupakan patogen oportunistik pada kondisi imun tubuh manusia yang tidak imunokompeten atau mengalami imunodefisiensi sehingga menyebabkan kolonisasi berlebihan dengan komplikasi berat (Chang et al., 2021; Clegg & Murphy, 2016). Infeksi *K. pneumoniae* adalah salah satu penyebab terbesar infeksi terkait pelayanan kesehatan atau *healthcare-associated infection* (HCAI), terutama yang kerap terjadi pada prosedur invasif saat perawatan pasien di rumah sakit seperti intubasi atau kateterisasi, dengan risiko terjangkitnya pasien dengan *lobar pneumonia* atau infeksi saluran kemih (Clegg & Murphy, 2016; Riedel et al., 2019). Risiko infeksi *K. pneumoniae* juga disertai dengan kekhawatiran terkait bermunculannya beberapa strain bakteri ini yang resisten terhadap kelompok antibiotik carbapenem, beta laktam, dan sefalosporin (Murray P et

al., 2020; Riedel et al., 2019). *K. pneumoniae* mewakili sepertiga penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri Gram-Negatif di seluruh dunia sehingga masih merupakan tantangan besar untuk mengendalikan risiko infeksi (Effah et al., 2020).

2.3.3 Morfologi dan Identifikasi *Klebsiella pneumoniae*

Bakteri *K. pneumoniae* merupakan bakteri berbentuk batang (Bacilli) pendek, Gram-Negatif, berkapsul, tidak motil, anaerob fakultatif, fermentasi laktosa, dan berukuran $0,5 \times 1,2 \mu\text{m}$ (Tika et al., 2017). *K. pneumoniae* tidak berspora dan kapsul yang menyelubunginya meningkatkan virulensinya serta memberikan kesan bermukosa pada koloni pembenihannya (Murray P et al., 2020). Pembenihan untuk *K. pneumoniae* dapat menggunakan media selektif untuk bakteri gram negatif seperti media *Eosin Methylene Blue* (EMB) atau media MacConkey, dengan suhu pembenihan idealnya $25-30^{\circ}\text{C}$ selama 1-2 hari (Tika et al., 2017).



Gambar 2.2

Morfologi bakteri *K. pneumoniae* pada pewarnaan gram dengan perbesaran mikroskopis 1000x. (Hans Newman, 2015)



Gambar 2.3

Koloni mucoid bakteri *K. Pneumoniae* pada media MacConkey

Agar. (Hans Newman, 2015)

2.3.4 Patogenesis *K. pneumoniae*

Bakteri *K. pneumoniae* merupakan normal flora yang mendiami permukaan mukosa tubuh manusia, utamanya di permukaan nasofaring dan usus. Infeksi *K. pneumoniae* terpengaruh erat dengan kondisi imunodefisiensi tubuh seperti :

1. Penyakit imun
2. Pengaruh obat-obatan Glukortikoid
3. Penggunaan antibiotik berkepanjangan
4. Usia

Faktor di atas dapat melemahkan mekanisme pertahanan tubuh atau mengganggu *mucosal-barrier* pada koloni bakteri *K. pneumoniae* sehingga terjadi reproduksi berlebihan dan penyebaran koloni bakteri. Penggunaan peralatan invasif seperti

intubasi dan kateter juga dapat membantu perpindahan *K. pneumoniae* (Chang et al., 2021).

2.3.5 Struktur Antigen dan Toksin

Famili *Enterobacteriaceae* memiliki 3 jenis antigen dengan bakteri *K. pneumoniae* memiliki 2 diantaranya, yaitu antigen O dan antigen K (Riedel et al., 2019).

A. Antigen O

Antigen ini merupakan bagian terluar dari lipopolisakarida dinding sel dan tersusun dari satuan polisakarida. Beberapa polisakarida spesifik O mengandung molekul glukosa yang unik. Antigen O mampu tahan dari panas dan alkohol dan umumnya terdeteksi dengan aglutinasi bakteri. Antibodi untuk antigen O banyak berasal dari IgM (Riedel et al., 2019).

B. Antigen K

Antigen K dapat dikaitkan dengan virulensi dan mampu memengaruhi aglutinasi dengan antisera O. Genus *Klebsiella* membentuk kapsul besar yang mengandung polisakarida (Antigen K), yang menyelubungi antigen somatik (Antigen O) dan dapat diidentifikasi dengan uji pengembungan kapsul dengan antisera yang spesifik (Riedel et al., 2019).

Toksin pada *K. pneumoniae* berasal dari kompleks lipopolisakarida yang menyelubungi dinding selnya, dan apabila dilepaskan maka menjadi endotoksin. Pelepasan endotoksin ini

terjadi ketika sel bakteri lisis. Endotoksin ini di peredaran darah akan berikatan dengan protein yang sedang bersirkulasi dan berlanjut pada interaksi dengan reseptor makrofag, neutrophil, dan sel-sel sistem retikuloendotel di tubuh. Interaksi ini mengakibatkan pelepasan sitokin pro-inflamasi dan pengaktifan sistem komplemen dan kaskade koagulasi (Riedel et al., 2019).

2.3.6 Manifestasi Klinis Infeksi

K. pneumoniae sering dikaitkan dengan pneumonia *community-acquired* dan *hospital-acquired*. Bakteri ini juga dapat mengakibatkan pneumonia lobar dengan pendarahan ekstensif karena konsolidasi nekrosis pada jaringan paru, serta bentuk klinisnya yang khas, termasuk keparahannya dan kecenderungannya untuk menyerang lobus paru bagian atas. Produksi sputum “jeli anggur” adalah hasil dari hemoptysis serta pembentukan abses pada paru. *K. pneumoniae* juga menyebabkan infeksi saluran kemih, infeksi jaringan luka dan jaringan lunak, serta bakteremia atau sepsis. Terbaru, sebuah strain *K. pneumoniae* memiliki hipervirulesi yang menyebabkan abses hepar *community-acquired* yang menyerang kebanyakan orang-orang Asia (Riedel et al., 2019).

2.3.7 Diagnosa Laboratorium

A. Spesimen

Spesimen didapatkan berdasarkan lokalisasi infeksi, seperti sampel darah, sputum, nanah (pus), urine, cairan tulang belakang, dan bahan lainnya (Riedel et al., 2019).

B. Apusan (*Smear*)

Famili *Enterobacteriaceae* dalam pengamatan mikrobiologis memiliki banyak kesamaan, namun ketampakan kapsul sel yang besar merujuk pada *K. pneumoniae* (Riedel et al., 2019).

C. Kultur

Famili *Enterobacteriaceae* dapat tumbuh dengan baik pada media umum, namun penggunaan media selektif, contohnya media MacConkey, dapat membantu identifikasi bakteri fermentasi laktosa, seperti *K. pneumoniae*, dengan bakteri non fermentasi laktosa lainnya (Murray P et al., 2020). Pertumbuhan koloni *K. pneumoniae* akan menampakkan koloni mucoid semakin lama akan menyatu seiring berjalannya masa inkubasi (Riedel et al., 2019).

2.4 Uji Mikrobiologis secara In Vitro

2.4.1 Metode Difusi

Metode Difusi memanfaatkan serapan antimikroba pada media pertumbuhan padat. Metode difusi umumnya dilakukan melalui dua teknik, yakni Metode Difusi Cakram atau Metode Difusi Sumuran. Kedua teknik ini merupakan teknik uji

kepekaan antimikroba yang paling umum digunakan dikarenakan keringkasannya dan berbiaya rendah (Balouiri et al., 2016; Gajic et al., 2022).

Metode Difusi Cakram dilakukan dengan menanamkan senyawa antimikroba yang telah difiksasi pada cakram kertas (*filter paper disc*) ke media pertumbuhan yang telah diinokulasi sebelumnya dengan bakteri uji (Balouiri et al., 2016). Kemudian, media akan diinkubasi selama 24 jam dengan suhu $\pm 35^{\circ}\text{C}$ dan selanjutnya hasil uji akan ditemukan melalui pengukuran diameter zona hambat menggunakan mata telanjang atau alat bantu perhitungan (Gajic et al., 2022).

Metode Difusi Sumuran memanfaatkan cara yang sama dengan Metode Difusi Cakram, namun berbeda pada penanaman senyawa antimikroba, yakni dengan membuat lubang (sumur) berukuran 6-8 mm pada media, dan memasukkan cairan antimikroba pada lubang tersebut untuk memulai penyerapannya pada media. (Balouiri et al., 2016).

Metode Difusi dapat digunakan untuk mengetahui kepekaan awal kuman, namun tidak secara akurat dapat mengetahui Kadar Hambat Minimal (KHM) pada pengujian zat antimikroba dikarenakan diameter zona hambat tidak menandakan kematian bakteri dan tidak diketahuinya secara pasti jumlah zat antimikroba yang menyerap ke media pertumbuhan kuman (Balouiri et al., 2016).

2.4.2 Metode Dilusi

Metode Dilusi merupakan metode pengujian antibakteri yang dilakukan pada media pertumbuhan cair. Metode Dilusi dilakukan dengan memasukkan zat antimikroba cair pada media kuman dengan keragaman konsentrasi dua kali lipat (Balouiri et al., 2016; Gajic et al., 2022). Metode ini dapat dilakukan melalui dua teknik, yakni Metode Dilusi Kaldu (*Broth Dilution Method*) atau Metode Dilusi Padat (*Agar Dilution Method*).

Metode Dilusi Kaldu (*Broth Dilution Method*) memanfaatkan media pertumbuhan yang terwadah dalam tabung uji yang kemudian diberikan zat antimikroba dan inokulasi bakteri yang disesuaikan dengan skala McFarland 0.5 (Balouiri et al., 2016). Tabung pengujian kemudian diinkubasi selama 24 jam dengan suhu $\pm 37^{\circ}\text{C}$ yang kemudian akan didapatkan Kadar Hambat Minimal (KHM) dengan mengamati kekeruhan pada media di tabung uji dengan mata telanjang (Gajic et al., 2022). Metode Dilusi Kaldu dapat dilanjutkan untuk mengetahui Kadar Bunuh Minimal (KBM) dengan mengambil sub-sampel hasil KHM dan diinokulasikan pada media agar. KBM ditentukan oleh konsentrasi terendah yang mampu membunuh 99.9% kuman dengan mengamati koloni kuman yang kemungkinan tumbuh (CFU/ml) pada media agar setelah diinkubasi selama 24 jam (Balouiri et al., 2016).

Metode Dilusi Padat (*Agar Dilution Method*) dilakukan dengan menempatkan konsentrat cair antimikroba pada permukaan media agar yang kemudian diinokulasikan kuman. Media agar kemudian akan diinkubasi selama 24 jam dan KHM dapat ditentukan pada media agar yang memiliki konsentrasi terendah antimikroba yang tidak ditemukan pertumbuhan kuman berdasarkan pengamatan mata telanjang (Balouiri et al., 2016; Gajic et al., 2022).

2.5 Hasil Penelitian Sebelumnya

Untuk mengetahui potensi antibakteri cuka apel terhadap pertumbuhan bakteri, telah dilakukannya beberapa penelitian pada beberapa jenis bakteri.

Djuanda et al (2019) pada pengujiannya terkait pengaruh cuka apel terhadap pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis* dengan melakukan pengenceran konsentrasi cuka apel uji sebesar 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, 75%, 100%. Pada metode difusi cakram (*Kirby-Bauer*), ditemukan zona hambat sebesar 0,88 mm pada konsentrasi 6,25%, dengan peningkatan luas zona hambat seiring meningkatnya konsentrasi hingga 100% dengan zona hambat 6,47 mm. Dalam penelitiannya juga dilakukan pengujian kadar hambat minimum (KHM) dan kadar bunuh minimum (KBM), dengan dimulai pada konsentrasi 25% tidak ditemukannya pertumbuhan koloni bakteri.

Terdapat juga penelitian yang dilakukan oleh Prabowo et al. (2022) untuk cuka apel terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acnes*, menggunakan difusi cakram dengan konsentrasi cuka apel uji sebanyak 12,5%, 25%, 50%, 75%, dan 100%. Pada *Propionibacterium acnes*, ditemukan zona hambat mulai terbentuk pada konsentrasi 25% dengan ukuran 2,475 mm dan mencapai zona hambat optimal pada konsentrasi 75% dengan ukuran 8,825 mm. Pada *Staphylococcus aureus*, ditemukan zona hambat mulai terbentuk pada konsentrasi 50% dengan ukuran 3,0 mm dan mencapai optimalnya pada konsentrasi 75% dengan ukuran zona hambat 3,725 mm. Penelitian tersebut menemukan pada konsentrasi 100%, zona hambat lebih kecil daripada konsentrasi 75% dikarenakan terlalu kentalnya cuka apel sehingga senyawa kimianya tidak terserap dengan baik ke agar media.

Masyita (2023) pada penelitiannya terkait pengaruh cuka apel terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* secara In Vitro, dengan menggunakan teknik dilusi untuk menemukan KHM dan KBM pada konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, dan 0%, didapatkan hasil bahwa pada kadar konsentrasi 6,25% menjadi kadar efektif cuka apel pada bakteri tersebut ditandai dengan pengamatan jernih dan pertumbuhan koloni sebanyak 0 CFU/ml.