

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sawo (*Manilkara zapota*)

Sawo (*Manilkara zapota*) adalah pohon buah yang dapat berbuah sepanjang tahun. Sawo (*Manilkara zapota*) memiliki pohon yang besar dan rindang, dapat tumbuh hingga setinggi 30-40 m. Bunga tunggal terletak di ketiak daun dekat ujung ranting, bertangkai 1-2 cm, kerap kali menggantung, diameter bunga sampai dengan 1,5 cm, sisi luarnya berbulu kecoklatan, berbilangan 6. Kelopak biasanya tersusun dalam dua lingkaran; mahkota bentuk genta, putih, berbagi sampai setengah panjang tabung (Jessy, 2013).

2.1.1 Klasifikasi

Kerajaan	: Plantae
Devisi	: Spermatophyte (tumbuhan berbiji)
Kelas	: Dicotyledonae (biji berkeping dua)
Ordo	: Ebenales
Family	: Sapotaceae
Genus	: <i>Manilkara</i>
Spesies	: <i>Manilkara zapota</i> atau <i>Archas zapota</i> (Dalimartha, 2006).



Gambar 2.1 Sawo (*Manilkara zapota*)

2.1.2 Deskripsi

Sawo (*Manilkara zapota*) merupakan jenis tumbuhan yang besar dan rindang, dapat tumbuh hingga setinggi 30-40 m. Bercabang rendah, batang Sawo (*Manilkara zapota*) berkulit kasar, berwarna abu-abu kehitaman sampai coklat tua. Seluruh bagiannya mengandung lateks (Putra, 2013).

2.1.2.1 Daun

Daun tunggal, terletak berseling, biasanya mengumpul pada ujung ranting. Helaian daun bertepi rata, agak berbulu, berwarna hijau tua mengkilap, berbentuk bulat telur, dan berukuran 1,5-7x3,5-15 cm (Putra, 2013).

2.1.2.2 Bunga

Bunga-bunga tunggal terletak diketiak daun dekat ujung ranting, bertangkai 1-2 cm, diameter bunga 1,5 cm, sisi luarnya berbulu kecoklatan, dan berbilangan 6. Mahkota bunga berwarna putih dan kelopak biasanya tersusun dalam dua lingkaran (Putra, 2013).

2.1.2.3 Buah

Buah berbentuk bulat telur, berukuran 3-6x3-8 cm, berwarna coklat kemerahan sampai kekuningan. Berkulit tipis, dengan daging buah yang lembut, rasanya sangat manis dan mengandung banyak sari buah (Putra, 2013).

2.1.2.4 Biji

Berbiji sampai 12 butir, namun kebanyakan kurang dari 6. Biji berbentuk lonjong pipih, berwarna hitam, panjang 2 cm, keping biji berwarna putih lilin (Putra, 2013).

2.1.2.5 Khasiat

Sawo (*Manilkara zapota*) memiliki khasiat menyembuhkan penyakit diare, radang mulut, disentri, menyerap racun dalam saluran cerna, membersihkan dan memperlancar aliran darah, menghindarkan kanker colon, menjaga kesehatan kulit dan

selaput lender tubuh serta memiliki efek anti-inflamasi (Putra, 2013).

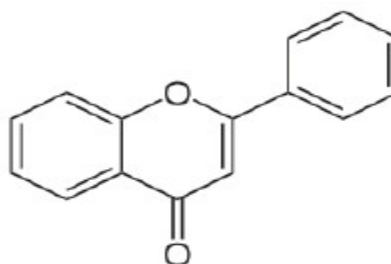
2.1.2.6 Kandungan kimia

Berdasarkan penelitian dari Islam *et al.* (2013) melakukan skrining fitokomia , Daun Sawo (*Manilkara zapota*) ternyata mengandung Alkaloid, flavonoid, saponin dan juga mengandung tanin.

a. Alkaloid

Alkaloid memiliki mekanisme penghambatan dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut. Selain itu, di dalam senyawa alkaloid terdapat gugus basa yang mengandung nitrogen akan bereaksi dan mempengaruhi DNA bakteri. Reaksi ini mengakibatkan terjadinya perubahan struktur dan susunan asam amino, sehingga akan menimbulkan kerusakan dan mendorong terjadinya lisis sel bakteri yang akan menyebabkan kematian sel (Gunawan *et al.*, 2008).

b. Flavonoid



Gambar 2.2 Struktur Flavonoida

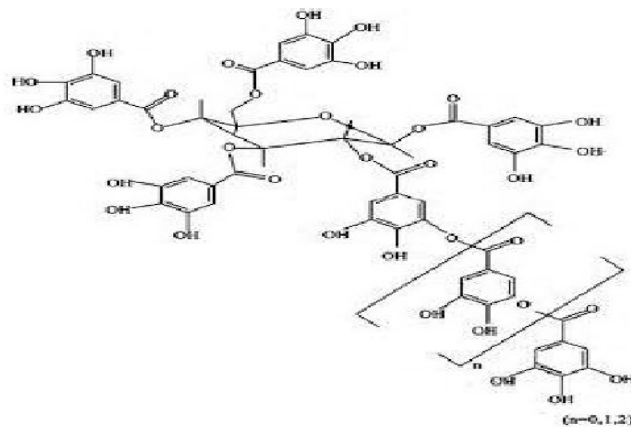
Flavonoid dapat menghambat sintesis asam nukleat, sehingga menyebabkan pertumbuhan sel bakteri terhambat, flavonoid juga bekerja secara langsung pada

membran barier sel bakteri, yang menyebabkan kebocoran sel. Flavonoid pada kadar rendah, akan membentuk kompleks lemah dengan protein bakteri, kemudian menyebabkan presipitasi dan denaturasi protein bakteri. Sedangkan pada kadar yang tinggi, flavonoid akan menyebabkan koagulasi protein bakteri, dan menyebabkan membran sitoplasma lisis (Wardani, 2014).

c. Saponin

Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah menurunkan tegangan permukaan sehingga permeabilitas membrane luar akan naik, kemudian terjadi kebocoran sel. Selain itu saponin juga menyebabkan reaksi saponifikasi yaitu melisiskan struktur lemak pada bakteri (Wardani, 2014).

d. Tanin



Gambar 2.3 Struktur Tanin

Tanin menyebabkan pembentukan dinding sel bakteri menjadi tidak sempurna. Asam tanan yang merupakan tanin *hidrosable*, akan menghambat zat besi yang dibutuhkan mikroorganisme anaerob untuk berbagai

fungsi, seperti reduksi dari *precursor* ribonukleotida DNA (Wardani, 2014).

2.2 Ekstraksi

2.2.1 Simplisia

2.2.1.1 Definisi Simplisia

Simplisia adalah bahan alami yang digunakan untuk obat dan belum mengalami perubahan apapun, dan kecuali dinyatakan lain umumnya berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia tumbuhan obat merupakan bahan baku yang telah dikeringkan. Simplisia tumbuhan obat merupakan bahan baku proses pembuatan ekstrak, baik sebagai bahan obat atau produk. Berdasarkan hal tersebut maka simplisia dibagi menjadi tiga golongan yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, dan pelikan/mineral (Melinda, 2014).

a. Simplisia Nabati.

Simplisia nabati adalah simplisia berupa tanaman utuh, bagian tanaman dan eksudat tanaman. Eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau isi sel tanaman dengan cara yang belum berupa zat kimia murni (Melinda, 2014).

b. Simplisia Hewani.

Simplisia hewani adalah pengelolaan simplisia hewan utuh, bagian hewan, atau belum berupa zat kimia murni (Melinda, 2014).

c. Simplisia Mineral

Simplisia mineral adalah simplisia berasal dari bumi, baik telah diolah atau belum, tidak berupa zat kimia murni (Melinda, 2014).

2.2.1.2 Pengelolaan Simplisia

Proses awal pembuatan ekstrak adalah tahapan pembuatan serbuk simplisia kering (penyerbukan). Dari simplisia dibuat serbuk simplisia dengan perekatan tertentu sampai derajat kehalusan tertentu. Proses ini dapat mempengaruhi mutu ekstrak dengan dasar beberapa hal yaitu makin halus serbuk simplisia proses ekstraksi makin efektif, efisien namun makin halus serbuk maka makin rumit secara teknologi peralatan untuk tahap filtrasi. Selama penggunaan peralatan penyerbukan dimana ada gerakan atau interaksi dengan benda keras (logam, dll) maka akan timbul panas (kalori) yang dapat berpengaruh pada senyawa kandungan. Namun hal ini dapat dikomperasi dengan penggunaan nitrogen cair (Melinda, 2014).

Untuk menghasilkan simplisia yang bermutu dan terhindar dari cemaran industri obat tradisional dalam mengelola simplisia sebagai bahan baku pada umumnya melakukan tahapan kegiatan berikut ini :

a. Sortasi Basah

Sortasi basah dilakukan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing seperti tanah, kerikil, rumput, batang, daun, akar yang telah rusak, serta pengotoran lainnya harus dibuang. Tanah yang mengandung bermacam-macam mikroba dalam jumlah yang tinggi. Oleh karena itu pembersihan simplisia dari tanah yang berikut dapat mengurangi jumlah mikroba awal (Melinda, 2014).

b. Pencucian

Pencucian dilakukan untuk menghilangkan tanah dan pengotor lainnya yang melekat pada bahan simplisia.

Pencucian dilakukan dengan dengan air bersih, misalnya air dari mata air, air sumur dari PDAM. Bahan simplisia yang mengandung zat mudah larut dalam air yang mengalir, pencucian hendaknya dilakukan dalam waktu yang sesingkat mungkin (Melinda, 2014).

c. Perajangan

Beberapa jenis simplisia perlu mengalami perajangan bahan simplisia dilakukan untuk memperoleh proses pengeringan, pengepakan dan penggilingan. Semakin tipis bahan yang akan dikeringkan maka makin cepat penguapan air, sehingga mempercepat waktu pengeringan. Akan tetapi irisan yang terlalu tipis juga menyebabkan berkurangnya/ hilangnya zat yang berkhasiat yang mudah menguap, sehingga mempengaruhi komposisi, bau, rasa yang diinginkan (Melinda, 2014).

d. Pengeringan

Tujuannya untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lama. Dengan mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatis akan dicegah penurunan mutu atau kerusakan simplisia. Air yang masih tersisa pada kadar tertentu dapat merupakan media pertumbuhan kapang dan jasad renik lainnya. Proses pengeringan sudah dapat menghentikan proses enzimatis dalam sel bila kadar airnya dapat mencapai kurang dari 10%. Hal-hal yang perlu diperhatikan dalam proses pengeringan adalah suhu pengeringan, kelembaban udara, waktu pengeringan, dan luas permukaan bahan. Suhu yang terbaik pada pengeringan yaitu tidak lebih dari 60° C, tetapi bahan aktif yang tidak tahan pemanasan atau mudah menguap harus dikeringkan pada suhu serendah mungkin, misalnya 30°C

sampai 45°C. Terdapat dua cara pengeringan yaitu pengeringan alamiah (dengan sinar matahari langsung atau dengan diangin-anginkan) dan pengeringan buatan (dengan instrumen) (Melinda, 2014).

e. Sortir Kering

Sortir setelah pengeringan merupakan tahap akhir pembuatan simplisia. Tujuannya untuk memisahkan dari benda-benda asing seperti bagian-bagian tanaman yang tidak diinginkan atau pengotor yang lainnya yang masih tertinggal pada simplisia kering (Melinda, 2014).

f. Penyimpanan

Simplisia perlu disimpan di wadah tersendiri supaya tidak tercampur dengan simplisia yang lain. Untuk persyaratan wadah yang akan digunakan sebagai pembungkus simplisia harus inert, artinya tidak mudah bereaksi dengan bahan lain, tidak beracun, mampu melindungi bahan simplisia dari cemaran mikroba, kotoran, serangga, penguapan bahan aktif serta dari pengaruh cahaya, oksigen dan uap air (Melinda, 2014).

2.2.2 Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian hampir semua pelarutan diuapkan atau serbuk yang terisi diperlakukan sehingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Istiqomah, 2013).

Ekstrak dikelompokkan atas dasar sifatnya menurut Syamsuni (2007) yaitu :

- a. Ekstrak cair adalah ekstrak yang diperoleh dari hasil penyarian bahan alam masih mengandung larutan penyari.

- b. Ekstrak kental adalah ekstrak yang telah mengalami proses penguapan, dan tidak mengandung cairan penyari lagi, tetapi konsistensinya tetap cair pada suhu kamar.
- c. Ekstrak kering adalah ekstrak yang telah mengalami proses penguapan dan tidak mengandung pelarut lagi dan mempunyai konsistensi padat.

2.2.2.1 Proses Pembuatan Ekstrak

Proses pembuatan ekstrak melalui tahap sebagai berikut :

a. Pembasahan

Pembasahan serbuk dilakukan pada penyarian, dimaksudkan memberikan kesempatan sebesar- besarnya kepada penyarian memasuki pori-pori dalam simplisia sehingga mempermudah penyarian selanjutnya (Istiqomah, 2013) .

b. Penyari/ Pelarut

Cairan penyari yang digunakan dalam proses pembuatan ekstrak adalah penyari yang baik untuk senyawa kandungan yang berkhasiat atau aktif. Dalam hal keamanan untuk manusia atau hewan coba, cairan pelarut harus memenuhi syarat kefarmasian atau dalam perdagangan dikenal dengan kelompok spesifik *pharmaceutical grade*. Sampai saat ini berlaku aturan bahwa pelarut yang diperbolehkan adalah air, alkohol (etanol) atau campuran (air dan alkohol) (Istiqomah, 2013).

c. Pemisahan dan Pemurnian

Tujuannya dalah untuk menghilangkan atau memisahkan senyawa yang tidak dikehendaki semaksimal mungkin tanpa pengaruh pada senyawa kandungan yang dikehendaki, sehingga diperoleh ekstrak yang lebih murni. Proses-proses pada tahap ini adalah pengendapan, pemisahan dua cairan tak bercampur, sentrifugasi,

dekantasi, filtrasi, serta proses adsorpsi dan penukar ion (Istiqomah, 2013).

d. Pemekatan/ Penguatan

Pemekatan berarti peningkatan jumlah partikel solute (senyawa terlarut) dengan cara penguapan pelarut sampai menjadi kering tetapi ekstrak hanya menjadi kental/ pekat (Istiqomah, 2013).

2.2.3 Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstraksi simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Maserasi bertujuan untuk menarik zat-zat yang berkhasiat yang tahan pemanasan maupun yang tidak tahan pemanasan. Secara teknologi maserasi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan, maserasi dilakukan dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar) (Istiqomah, 2013).

Maserasi berasal dari bahasa latin *macerace* berarti mengairi dan melunakkan. Maserasi merupakan cara yang paling sederhana. Dasar dari maserasi adalah melarutnya bahan kandungan simplisia dari sel yang rusak, yang terbentuk pada saat penghalusan, ekstraksi (difusi) bahan kandungan yang masih utuh. Setelah selesai waktu maserasi, artinya keseimbangan bahan yang diekstraksi pada bagian dalam sel dengan masuk kedalam cairan, telah tercapai maka proses difusi segera berakhir. Selama maserasi proses atau perendaman dilakukan pengocokan berulang-ulang. Upaya ini menjamin keseimbangan konsentrasi bahan ekstraksi yang lebih cepat didalam cairan. Sedangkan keadaan diam selama maserasi menyebabkan turunnya perpindahan bahan aktif. Secara teoritis pada suatu maserasi tidak memungkinkan terjadinya ekstraksi absolut. Semakin besar

perbandingan simplisia terhadap cairan pengestraksi, akan semakin banyak hasil yang diperoleh (Istiqomah, 2013).

Kerugiannya adalah pengerjaannya lama dan penyarian kurang sempurna. Secara teknologi termasuk ekstrak dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya (Istiqomah, 2013).

2.2.4 Pelarut

Pelarut adalah medium tempat suatu zat lain melarut. Pelarut juga dikenal sebagai zat pendispersi, yaitu tempat penyebaran nya partikel-partikel zat terlarut (Sumardjo, 2008).

2.2.5 Etanol

Etanol tidak menyebabkan pembengkakan membran dan memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut. Keuntungan lain, etanol mampu mengendapkan albumin dan menghambat kerja enzim. Umumnya yang digunakan sebagai cairan pengestraksi adalah bahan pelarut yang berlainan, khususnya campuran etanol-air. Etanol sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal, dimana bahan pengganggu hanya skala kecil yang turut kedalam cairan pengestraksi (Indraswari, 2008).

Etanol dapat melarut alkohol basa, minyak menguap glikosida, kurkumin, tannin, dan saponin hanya sedikit larut. Dengan demikian zat pengganggu yang terlarut hanya terbatas. Untuk meningkatkan penyarian biasanya menggunakan campuran etanol dan air. Perbandingan jumlah etanol dan air tergantung pada bahan yang disari (Indraswari, 2008).

Menurut Marjoni (2016) keuntungan menggunakan pelarut etanol yaitu :

1. Etanol bersifat lebih selektif
2. Dapat menghambat pertumbuhan kapang dan kuman
3. Bersifat non toksik (Tidak beracun)
4. Etanol bersifat netral
5. Memiliki daya absorpsi yang baik
6. Dapat bercampur dengan air pada berbagai perbandingan
7. Panas yang diperlukan untuk memekatkan lebih sedikit
8. Etanol dapat melarutkan berbagai zat aktif dalam meminimalisir terlarutnya zat pengganggu seperti lemak.

2.3 Bakteri

2.3.1 Pengertian Pengertian Bakteri

Bakteri adalah suatu kelompok mikroorganisme bersel tunggal dengan konfigurasi seluler prokariotik (tidak memiliki selubung inti). Bakteri sebagai makhluk hidup memiliki informasi genetik berupa DNA, tapi tidak terlokalisasi dalam tempat khusus (nukleus) dan tidak ada membran inti. DNA pada bakteri berbentuk sirkuler, panjang dan biasa disebut nucleoid. DNA bakteri tidak mempunyai intron dan hanya tersusun atas ekson saja. Bakteri juga memiliki DNA ekstrakromosomal yang tergabung menjadi plasmid yang berbentuk kecil dan sirkuler (Sutio, 2008).

Berdasarkan pengecatan gram, bakteri ada 2 macam yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Bakteri gram positif yaitu bakteri yang memberikan warna ungu saat diberi warna dengan warna zat pertama (Kristal violet) dan setelah dicuci dengan alkohol, warna ungu tersebut akan tetap kelihatan. Kemudian ditambahkan zat warna kedua (safranin), warna ungu pada bakteri tidak berubah. Bakteri gram negatif yaitu bakteri yang memberikan warna ungu saat

diwarnai dengan zat pewarna pertama (Kristal violet) namun setelah dicuci dengan alkohol warna ungu akan hilang. Kemudian ditambahkan zat warna kedua (safranin) akan menghasilkan warna merah (Pratiwi, 2008).

2.3.2 Jenis Bakteri

2.3.2.1 Bentuk kokus

Kokus kuman berbentuk bulat dapat tersusun sebagai berikut:

- a. Mikrokokus, tersendiri (*single*).
- b. Diplokokus, berpasangan dua-dua.
- c. Pneumokokus adalah diplokokus yang berbentuk lanset, gonokokus adalah diplokokus yang berbentuk biji kopi.
- d. Tetrade, tersusun rapi dalam kelompok empat sel.
- e. Sarsina, kelompok delapan sel yang tersusun rapi dalam bentuk kubus.
- f. Streptokokus, tersusun seperti rantai.
- g. Stafilocokus, bergerombol tak teratur seperti untaian buah anggur (Syahrurachman *et al.*, 2010).

2.3.2.2 Bentuk bulat

Bacillus, kuman berbentuk batang dengan panjang bervariasi dari 2-10 kali diameter kuman tersebut:

- a. Kokobasilus, batang yang sangat pendek menyerupai kokus.
- b. Fusiformis, dengan kedua ujung batang meruncing.
- c. Streptokokus, sel-sel bergandengan membentuk suatu filamen (Syahrurachman *et al.*, 2010).

2.3.2.3 Bentuk spiral

- a. Vibrio, berbentuk batang bengkok.
- b. Spirillum, berbentuk spiral kasar dan kaku, tidak fleksibel dan dapat bergerak dengan flagel.

- c. Spirokheata, berbentuk spiral halus, elastik dan fleksibel, dapat bergerak dengan aksial filamen (Syahrurachman *et al.*, 2010).

Contohnya:

1. Borrelia, berbentuk gelombang.
2. Treponema, berbentuk spiral halus dan teratur.
3. Leptospira, berbentuk spiral dengan kaitan pada satu atau kedua ujungnya (Syahrurachman *et al.*, 2010).

2.3.3 Penggolongan bakteri

2.3.3.1 Bakteri Gram Negatif

- a. Bakteri gram negatif berbentuk batang (*Enterobacteriaceae*).
- b. Pseudomonas, Acinobacter, dan Bakteri Gram-negatif lainnya.
- c. Vibrio, Campylobacter, Heicobacter, dan bakteri lain berhubungan.
- d. Haemophilis, Bordetella, dan Brucella.
- e. Yersinia, Francisella dan Pasteurella.

2.3.3.2 Bakteri Gram Positif

- a. Bakteri Gram-positif berbentuk spora : spesies *Bacillus* dan *Clostridium*,
- b. Bakteri Gram-positif tidak membentuk spora: spesies *corynebacterium*, *Propionibaacterium*, *Listeria*, *Erysipelothrix*, *Actinomycetes*.
- c. *Staphylococcus*.

2.3.4 *Basillus* sp

Basillus sp merupakan bakteri berbentuk batang gram positif (*basillaceae*). Kuman *Basillaceae* adalah kuman batang berspora (endospore) yang bersifat positif gram dan terbagi dalam dua genus yang terkenal yaitu genus *bacillus* yang bersifat aerob dan *clostridium* yang bersifat anaerob berarti batang kecil dengan ukuran $0,3-22 \mu \times$

1,27-7,0 μm . sebagian besar motif, flagellum, khas lateral. Membentuk endospore tidak lebih dari satu dalam satu sel sporangium. Metabolisme dengan respirasi sejati fermentasi sejati, atau keduanya yaitu dengan respirasi dan fermentasi. Aerobik sejati atau aerobik fakultatif. Umum dijumpai didalam tanah (Pelczar dan Chan, 2005).

2.3.4.1 Klasifikasi *Basillus* sp

Kingdom	: Procaryotae
Kelas	: Bacteria
Bangsa	: Scihizomycetes
Suku	: Basillaceae
Marga	: Basillus
Jenis	: <i>Basillus</i> sp (Akoso, 2009).

2.3.4.2 Agen Penyakit *Basillus* sp

Basillus sp merupakan agen penyakit dari beberapa penyakit seperti infeksi kulit, paru, perut dan selaput otak. Selain itu beberapa bakteri *Basillus* sp dipastikan sebagai penyebab suatu kasus keracunan makan yang disebabkan oleh *Basillus* sp (Akoso, 2009).

2.4 Uji Aktivitas Antibakteri

2.4.1 Pengertian Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri digunakan untuk mengukur kemampuan suatu agen antibakteri secara *in vitro* sehingga dapat menentukan potensi antibakteri dalam larutan, konsentrasinya dalam cairan tubuh atau jaringan, dan kepekaan mikroorganisme penyebabnya terhadap obat yang digunakan untuk pengobatan.

Pengujian aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan dua cara yaitu cara difusi dan dilusi (Pratiwi, 2008).

2.4.2 Metode

2.4.2.1 Cara Dilusi

Metode ini menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap, baik dengan media cair atau padat. Kemudian media diinokulasi bakteri uji dan dieramkan. Tahap akhir dilarutkan antimikroba dengan kadar yang menghambat atau mematikan. Uji kepekaan cara dilusi agar memakan waktu dan penggunaannya dibatasi pada keadaan tertentu saja (Jawetz *et al.*, 2005).

2.4.2.1 Cara Difusi

Sebagai pencadangan dapat digunakan cakram kertas, silinder gelas, porselin, logam strip plastic dan pencetak logam (*punch hole*).

a. Cara Tuang

Media agar yang telah diinokulasikan dengan suspensi bakteri uji dituangkan kedalam cawan petri, dan dibiarkan memadat. Kedalam cakram yang digunakan ditetaskan zat antibakteri. Kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Daerah bening yang terdapat di sekeliling cakram kertas atau selinder menunjukkan hambatan pertumbuhan bakteri, diamati dan diukur.

b. Cara Sebar

Media agar dituangkan ke dalam cawan petri kemudian dibiarkan memadat. Lalu disebar suspensi bakteri uji. Media dilubangi dengan alat pencetak lubang (*punch hole*), kedalamnya ditetaskan zat antibakteri, didiamkan, diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Zona hambat diukur yaitu daerah bening disekitar lubang dengan menggunakan jangka sorong.

2.4.3 Difusi cakram

Bahan uji yang dijenuhkan keadaan *blank dish* (cakram kertas). Cakram kertas yang mengandung bahan tertentu ditanam pada media pembenihan agar padat yang telah dicampur mikroba tertentu yang akan diuji, kemudian diinkubasi 35°C selama 18-24 jam. Selanjutnya diamati adanya zona bening disekitar cakram kertas yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan mikroba. Selama inkubasi, bahan uji berdifusi dari cakram kertas ke dalam agar tersebut, sebuah zona inhibisi dengan demikian akan terbentuk. Diameter zona sebanding dengan dengan jumlah bahan uji yang ditambahkan kedalam cakram kertas. Metode ini secara rutin digunakan untuk menguji sensitivitas antibiotik untuk bakteri patogen (Madigan *et al.*, 2011).

Ada 2 macam zona hambat yang terbentuk dari cara *Kirby bauer*

1. *Radical zone* yaitu disuatu daerah disekitar disk dimana sama sekali tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri. Potensi antibakteri diukur dengan mengukur diameter dari zona radical.
2. *Irradical zone* yaitu suatu daerah disekitar disk dimana pertumbuhan bakteri dihambat oleh anti bakteri, tetapi tidak dimatikan.

Metode cakram *disk* atau cakram kertas memiliki kekurangan dan kelebihan. Kelebihannya adalah mudah dilakukan, tidak memerlukan peralatan khusus dan relatif murah. Sedangkan kelemahannya adalah ukuran zona bening yang terbentuk tergantung oleh kondisi inkubasi, inokulum, predifusi, preinkubasi serta ketebalan medium. Apabila keempat faktor tersebut tidak sesuai maka hasil dari metode cakram disk biasanya sulit untuk diinterpretasikan (Madigan *et al.*, 2011).

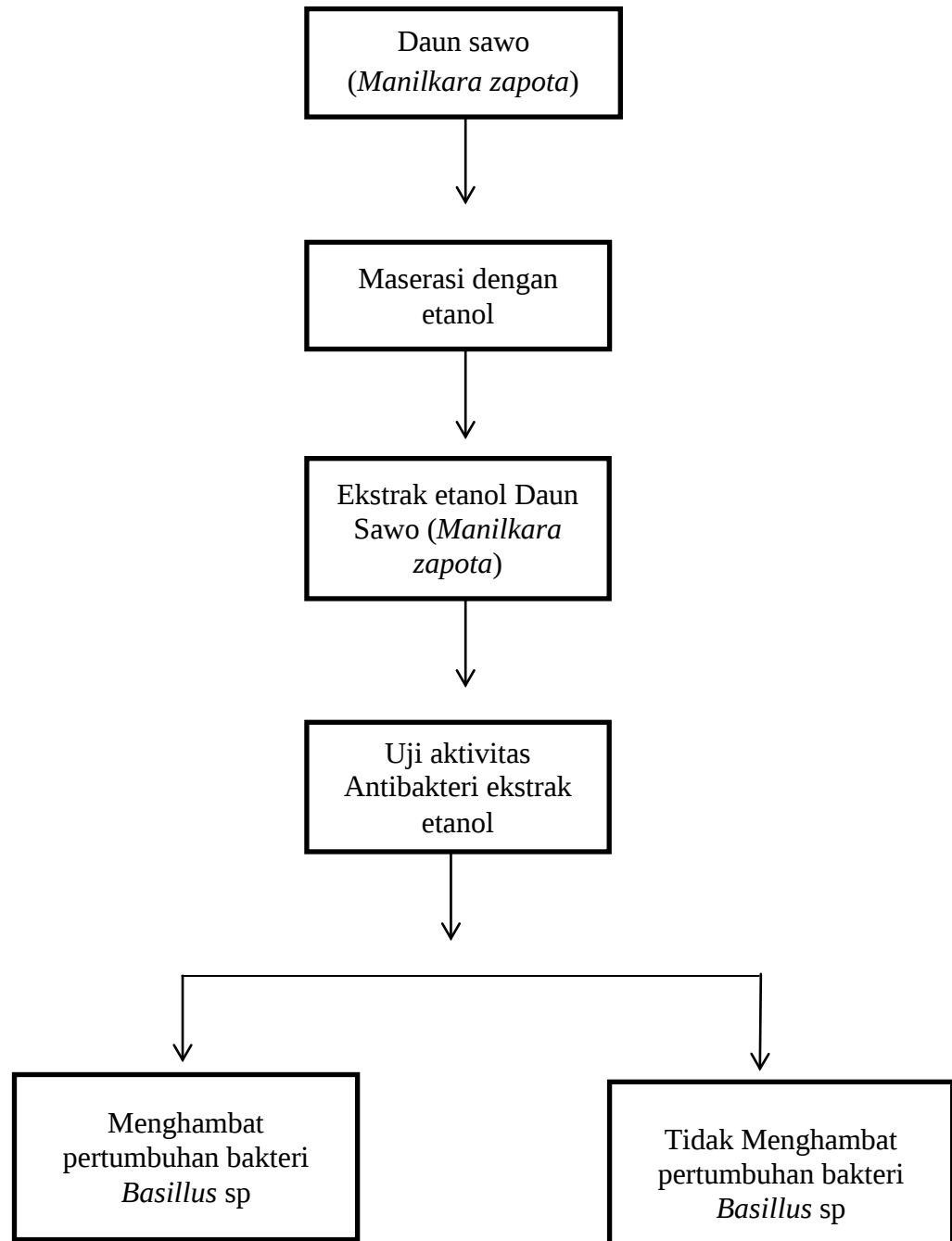
2.4.4 Ketentuan Daya Hambat Antibakteri

Zona hambat merupakan daerah jernih (bening) di sekitar kertas cakram yang mengandung zat antibakteri yang menunjukkan adanya sensitivitas bakteri terhadap zat bekteri. Zona tersebut digunakan sebagai dasar penentuan tingkat resistensi. Tingkat resistensi bakteri dibedakan menjadi 3, yaitu : sensitif , intermediet, dan resisiten. Bakteri ini bersifat sensitif jika terbentuk zona bening pada saat pengujian, bersifat intermediet jika terbentuk zona bening pada saat diuji dengan diameter yang kecil dan bersifat resisten jika tidak terbentuk zona hambat sama sekali pada saat dilakukan pengujian (Green, 2008).

Menurut Davis dan Stout (1971) dalam Rastina *et al.*, (2015) menyatakan bahwa ketentuan kekuatan daya hambat antibakteri sebagai berikut:

- 2.4.4.1 Daerah hambat 20 mm atau lebih termasuk sangat kuat.
- 2.4.4.2 Daerah hambat 10-20 mm kategori kuat.
- 2.4.4.3 Daerah hambat 5-10 mm kategori sedang.
- 2.4.4.4 Daerah hambat 5 mm atau kurang termasuk kategori lemah.

2.5 Kerangka Konsep



Gambar 2.4 kerangka konsep