

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Uraian Mengenai Tumbuhan

Tinjauan mengenai tumbuhan ini meliputi klasifikasi tumbuhan, nama daerah, deskripsi tumbuhan, khasiat dan kegunaan serta kandungan kimia.

2.1.1. Nama Tanaman

Berdasarkan daerahnya suruhan memiliki beberapa nama yaitu sasaladahan (Sunda); range-range; sladanan,; suruhan (Jawa); tumpangan air (Sumatera, Jakarta); gofu goroho (Ternate); rumput ayam (Pasan Ratahan); ulasiman bato, olasiman ihalas, tangon-tangon (Filipina); cao hu jiao (Cina); ketumpangan air (Malaysia); chaa kruut, phak krasang, phak hak kluai (Thailand) (Hariana, 2013).

2.1.2. Klasifikasi

Klasifikasi tanaman herba suruhan adalah sebagai berikut (Majumder *et al*, 2011)

Kingdom	:	Plantae
Subkingdom	:	Tracheobionta
Super divisi	:	Spermatophyta
Divisi	:	Magnoliophyta
Kelas	:	Magnoliopsida
Subkelas	:	Magnoliidae
Ordo	:	Piperales
Famili	:	Piperaceae
Genus	:	Peperomia Ruiz & Pavon
Spesies	:	<i>Peperomia pellucida</i> L. Kunth
Sinonim	:	Peperomia exigua Miq



Gambar 2.1. Tanaman Suruhan

2.1.3. Morfologi Tanaman

Mathieu *et. al.* (2011) menyebutkan bahwa *Peperomia* jenis ini merupakan tumbuhan liar yang berakar serabut. Batangnya memiliki ketinggian 20-40 cm, berair, bercabang, berbentuk bulat, berdiameter 5 mm, berwarna hijau pucat. Daunnya tunggal, berbentuk hati dengan permukaan licin, letaknya berseling, bentuknya bulat telur melebar dengan ujung meruncing, pangkalnya membentuk jantung, tepi rata, panjang daun 1-3 cm, permukaan atas daun hijau mengkilap, dan permukaan bawah daun lebih muda serta kelabu. Bunganya tipe bulir dengan panjang 1-6 cm, warnanya hijau, bunga tumbuh di ujung tangkai atau di ketiak daun. Buahnya tipe buni berbentuk bulat, berwarna hijau, ujungnya runcing, sangat kecil dengan diameter 1 mm, berbentuk bujur dan warna hijau saat muda dan berwarna cokelat apabila sudah matang (Gunawan, 2016).

2.1.4. Habitat dan Penyebaran

Tanaman herba suruhan berasal dari Amerika tropis. Penyebarannya melalui Amerika Tengah, Amerika Selatan, dan Asia Tenggara. Tumbuh dengan mudah pada kondisi tanah yang lembab atau dibawah naungan tanaman tinggi dengan cahaya matahari yang cukup. Biasanya tumbuh sebagai gulma bersamaan dengan tanaman

lain dalam satu lingkungan yang sering dicabut/dibuang diwaktu penyiangan tanaman utama (Hariana, 2013).

2.1.5. Kandungan Kimia

Kandungan senyawa yang ada dalam *Peperomia pellucida* [L.] adalah alkaloid, *Peperomia pellucida* juga mengandung beberapa minyak esensial, terutama dillapiole, β -caryophyllene dan carotol yang memiliki aktivitas larvisida tinggi. Senyawa lainnya adalah flavonoid seperti acacetin, apigenin, isovitexin dan pellucidatin, pitosterol, yaitu, campesterol, stigmasterol, dan arylpropanoids. Glikosida jantung, tanin dan antrakuinon juga telah diisolasi dari tanaman (Salma, 2013).

2.1.5.1. Alkaloid

Alkaloid merupakan golongan zat/senyawa tumbuhan sekunder yang terbesar. Umumnya alkaloid mencakup senyawa yang bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen, biasanya dalam gabungan, sebagai bagian dalam sistem siklik. Alkaloid sering kali beracun bagi manusia dan banyak mempunyai kegiatan fisiologi yang menonjol, jadi digunakan luas dalam bidang pengobatan (Pradana *et al.*, 2014).

2.1.5.2. Minyak Atsiri

Minyak atsiri/minyak eteris adalah istilah yang digunakan untuk minyak mudah menguap. Umumnya tidak berwarna akan tetapi bila dibiarkan lebih lama warnanya berubah menjadi kecoklatan karena terjadi oksidasi/mencegahnya disimpan di tempat yang sejuk dan kering di dalam wadah tertutup rapat dan berwarna gelap. Umumnya larut dalam pelarut organik dan tidak larut dalam air. Sebagian besar minyak atsiri terdiri dari persenyawaan hidrokarbon asiklik dan hidrokarbon isosiklik serta hidrokarbon yang mengikat oksigen seperti alkohol, fenol dan eter. Komponen minyak atsiri digolongkan menjadi 4 kelompok besar, yaitu terpen

yang ada hubungannya dengan isopren, persenyawaan berantai lurus tidak mengandung rantai cabang, turunan benzene dan bermacam-macam persenyawaan lain, misalnya turunan alkohol, aldehid, keton (Miranti, 2009).

2.1.5.3. Antrakuinon

Antrakuinon merupakan golongan dari senyawa glikosida termasuk turunan kuinon (Sirait, 2007). Antrakuinon merupakan senyawa kristal bertitik leleh tinggi, dan larut dalam pelarut organik dan basa. Antrakuinon mudah terhidrolisis. Senyawa antrakuinon dan turunannya seringkali berwarna kuning sampai merah sindur (oranye). Untuk identifikasi senyawa antrakuinon digunakan reaksi Borntraeger. Semua antrakuinon memberikan warna reaksi yang khas dengan reaksi Borntraeger. Jika larutan ditambah dengan ammonia maka larutan tersebut akan berubah warna menjadi merah untuk antrakuinon dan kuning untuk antron dan diantron. Antron adalah bentuk antrakuinon yang kurang teroksigenasi dari antrakuinon, sedangkan diantron terbentuk dari dua unit antron (Setyowaty, 2014).

2.1.5.4. Glikosida

Glikosida merupakan senyawa yang mengandung komponen gula dan bukan gula. Komponen gula dikenal dengan nama glikon dan komponen bukan gula dikenal sebagai aglikon. Dari segi biologi, glikosida memiliki peranan penting di dalam kehidupan tumbuhan dan terlibat di dalam pertumbuhan dan perlindungan tumbuhan tersebut. Beberapa glikosida mengandung lebih dari satu jenis gula dalam bentuk disakarida atau trisakarida (Stephanie, 2015).

Semua glikosida alam dapat terhidrolisis menjadi gula dan bukan gula dengan cara mendidihkannya bersama asam mineral. Biasanya, glikosida juga dapat terhidrolisis dengan

mudah oleh enzim yang terdapat dalam jaringan tumbuhan yang sama. Penlotionompokan glikosida berdasarkan struktur bukan gula terbagi atas : glikosida jantung, glikosida antrakinon, glikosida saponin, glikosida sianogenik, glikosida isotiosianat, glikosida flavonol, glikosida alkohol, glikosida alkohol, glikosida aldehida, glikosida lakton, glikosida fenol dan tanin (Stephanie, 2015).

2.1.5.5. Flavonoid

Flavonoid merupakan sekelompok besar senyawa polifenol tanaman yang tersebar luas dalam berbagai bahan makanan dan dalam berbagai konsentrasi. Flavonoid memiliki kerangka dasar karbon yang terdiri atas 15 atom karbon, dimana dua cincin benzen (C6) terikat pada suatu rantai propan (C3) sehingga membentuk susunan C6-C3-C6. Flavonoid berfungsi dalam menarik burung dan serangga yang berperan untuk proses penyerbukan bunga. Beberapa fungsi lainnya adalah untuk mengatur fotosintesis, kerja antimikroba dan antivirus serta memiliki kemampuan dalam mengusir serangga (Pradana *et al.*, 2014).

2.1.5.6. Tanin

Tanin adalah senyawa fenol dengan berat molekul yang cukup tinggi, mengandung gugus hidroksil dan kelompok lain yang cocok (seperti karboksil) untuk membentuk kompleks yang efektif dengan protein dan makro molekul yang lain dibawah kondisi lingkungan tertentu yang telah dipelajari. Tanin merupakan bentuk kompleks dari protein, pati, selulosa dan mineral (Stephanie, 2015).

Tanin dibagi menjadi dua kelompok yaitu tanin yang terhidrolisis dan tanin yang terkondensasi. Tanin yang terhidrolisis merupakan polimer gallic atau ellagic acid berikatan dengan ester dan sebuah molekul gula, sedangkan tanin terkondensasi merupakan polimer senyawa flavonoid dengan ikatan karbon-karbon (Westendarp, 2006). Secara garis besar tanin terbagi menjadi dua golongan: tanin dapat terhidrolisis, yang terbentuk dari esterifikasi gula (misalnya glukosa) dengan asam fenolat sederhana yang merupakan tanin turunan sikimat (misalnya asam galat), dan tanin tidak terhidrolisis yang kadang disebut tanin terkondensasi, yang berasal dari reaksi polimerasi (kondensasi) antar flavanoid (Heinrich *et al.*, 2009).

2.1.6. Kegunaan dan Khasiat

Tumbuhan suruhan (*Peperomia pellucida* L.) secara tradisional telah dimanfaatkan dalam mengobati beberapa penyakit, seperti abses, bisul, jerawat, radang kulit, penyakit ginjal, dan sakit perut (Hariana, 2006). Masyarakat di beberapa daerah di Sulawesi Utara telah juga memanfaatkan tanaman ini untuk penurunan kolesterol darah. Tarigan *et al.* (2012) melaporkan bahwa ekstrak etanol herba suruhan mempunyai efek antihiperurisemia terhadap mencit. Potensi tumbuhan suruhan sebagai senyawa antikanker, antimikroba dan antioksidan telah dilaporkan oleh Wei *et al.* (2011). Kemampuan tanaman suruhan sebagai tanaman obat diduga berkaitan erat dengan kandungan antioksidan pada tanaman tersebut (Erwin Sitorus, 2013).

2.2. Ekstrak

2.2.1. Pengertian Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa

diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Niswah, 2014).

Pada skripsi Niswah (2014) parameter standar umum ekstrak tumbuhan dari Depkes RI (2000) disebutkan bahwa faktor yang berpengaruh pada mutu ekstrak adalah:

a. Faktor Biologi

Mutu ekstrak dipengaruhi dari bahan asal (tumbuhan obat), dipandang secara khusus dari segi biologi yaitu identitas jenis, lokasi tumbuhan asal, periode pemanenan, penyimpanan bahan, umur tumbuhan dan bagian yang digunakan.

b. Faktor Kimia

Mutu ekstrak dipengaruhi dari bahan asal (tumbuhan obat), dipandang secara khusus dari kandungan kimia, yaitu :

- 1) Faktor internal, seperti jenis senyawa aktif dalam bahan, komposisi kualitatif senyawa aktif, kadar total rata-rata senyawa aktif.
- 2) Faktor eksternal, seperti metode ekstraksi perbandingan ukuran alat ekstraksi, pelarut yang digunakan dalam ekstraksi, kandungan logam berat, ukuran kekerasan, dan kekeringan bahan

2.2.2. Macam-macam Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair yang diperoleh dengan cara mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia menggunakan pelarut yang sesuai kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Narulita, 2014).

Ekstrak cair adalah sediaan dari simplisia nabati yang mengandung etanol sebagai pelarut atau sebagai pengawet. Jika tidak dinyatakan lain pada masing-masing monografi tiap millimeter ekstrak

mengandung senyawa aktif dari 1 gram simplisia yang memenuhi syarat. Ekstrak cair yang cenderung membentuk endapan dapat didiamkan dan disaring atau bagian yang bening di enap tuangkan (Narulita, 2014).

Ekstrak kental merupakan massa kental yang mengandung bermacam konsentrasi dan kekuatan bahan berkhasiat serta dapat disesuaikan dengan penambahan bahan aktif alam atau dengan penambahan bahan inert seperti dekstrin, laktosa, dan sebagainya. Ekstrak kental diperoleh dari ekstrak cair yang diuapkan larutan penyaringnya secara hati-hati (Agoes, 2007).

Ekstrak kering adalah sediaan padat yang memiliki bentuk serbuk yang didapatkan dari penguapan oleh pelarut yang digunakan untuk ekstraksi. Ekstrak kering harus mudah digerus menjadi serbuk (Anggraini, 2016).

2.2.3. Metode Pembuatan Ekstrak

Terdapat beberapa metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut yaitu (Narulita, 2014) :

a. Cara dingin

1) Maserasi

Maserasi ialah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruang (kamar). Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang berulang (terus-menerus). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya.

2) Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru

sampai sempurna (exhaustive extraction) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses ini terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetasan/penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan.

b. Cara Panas

1) Refluks

Refluks merupakan ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna.

2) Sokletasi

Sokletasi ialah ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinyu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendinginan balik.

3) Digesti

Digesti merupakan maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinyu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar), yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50°C.

4) Infusa

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air mendidih, temperatur terukur 90°C-98°C selama waktu tertentu (15-20 menit).

5) Dekokta

Dekokta adalah infusa dengan waktu yang lebih lama (lebih dari 30 menit) dan temperatur sampai titik didih air.

2.3 Gel

Menurut Farmakope Indonesia IV (1995) gel merupakan sistem semi solid terdiri dari suspensi yang dibuat dari partikelan organik kecil atau molekul organik yang besar, terpenetrasi oleh suatu cairan. Jika massa gel terdiri dari partikel kecil yang terpisah sistem gel disebut system duafase, atau biasa disebut juga magma. Jika makro molekul organik tersebar rata dalam suatu cairan maka sistem gel disebut system satu fase. Makromolekul sintesis yang menyusun gel fase tunggal antara lain adalah carbopol (Wijoyo, 2016).

Gel merupakan sistem semipadat yang pergerakan medium pendispersinya terbatas oleh sebuah jalinan jaringan tiga dimensi dari partikel partikel atau makromolekul yang terlarut pada fase pendispersi (Allen, 2002).

Gel terdiri dari dua tipe yaitu organogel dan hydrogel. Hydrogel adalah gel yang mempunyai ikatan antar molekul jauh lebih lemahs eperti ikatan hydrogen dan tersusun atas bahan yang larut air. Gel ini reversible terhadap panas, transisi dari sol gel yang terjadi pada saat pemanasan atau pendinginan. Biasanya polivinil alkohol yang digunakan sebagai gelling agent untuk aplikasi obat untuk kulit. Pada aplikasinya, gel mongering dengan cepat, meninggalkan film plastic dengan obat yang kontak dengan kulit (Christian, 2016).

Beberapa uji perlu dilakukan untuk mengevaluasi kualitas dari gel yang sudah diformulasi. Beberapa uji yang direkomendasikan oleh USP antarlain adalah minimum pengisian, pH, viskositas, antimikrobial, sertakan dengan alkohol pada kasus tertentu. Beberapa tes lainnya antara lain uji homogenitas, karakt erreologi, daya lekat, dan uji stabilitas (Gad, 2008) serta uji extrudability, uji iritasi, dan uji homogenitas (Kaur dan Guleri, 2013).

2.4 Bakteri

Bakteri adalah salah satu golongan prokariotik (tidak mempunyai selubung inti). Bakteri sebagai makhluk hidup tentu memiliki informasi genetik berupa DNA, tetapi tidak terlokalisasi dalam tempat khusus (nukleus) dan tidak ada membran inti. Bentuk DNA bakteri adalah sirkuler, panjang dan biasa disebut nukleoid. Pada 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 (Harniza, 2009).

2.4.1 Struktur

- 2.4.1.1 Inti/nukleus : Badan inti tidak mempunyai dinding inti/membran inti.
- 2.4.1.2 Sitoplasma : Tidak mempunyai mitokondria atau kloroplast.
- 2.4.1.3 Membran sitoplasma : Terdiri dari lapisan peptidoglikan.
- 2.4.1.4 Kapsul : Disintesis dari polimer ekstrasel yang berkondensasi dan membentuk lapisan disekeliling sel.
- 2.4.1.5 Flagel : Berbentuk seperti benang, yang terdiri dari protein berukuran 12-30 nanometer.
- 2.4.1.6 Pili/Fimbriae : Berperan dalam adhesi bakteri dengan sel tubuh hospes dan konjugasi 2 bakteri.
- 2.4.1.7 Endospora : Beberapa genus dapat membentuk endospora.

2.4.2 Bakteri *Staphylococcus aureus*

Berikut klasifikasi dari *Staphylococcus Aureus*

- Divisio : Protophyta
- Subdivisio : Schizomycetea
- Classis : Schizomycetes
- Ordo : Eubacteriales
- Familia : Micrococcaceae
- Genus : *Staphylococcus*
- Species : *Staphylococcus aureus* (Salle, 1961).



Gambar 2.2 Bakteri *Staphylococcus aureus* (Micronaut, 2013)

Nama *Staphylococcus aureus* berasal dari kata “*Staphyle*” yang berarti kumpulan dari anggur dan kata “*Aureus*” dalam bahasa lain berarti emas. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif berbentuk bulat, berdiameter 0,7- 12 μm , tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, fakultatif anaerob, tidak berbentuk spora dan tidak bergerak. Bakteri ini tumbuh pada suhu optimal 37 °C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar yaitu 20-35 °C. Koloni pada pembenihan padat berwarna kuning abu-abu sampai kuning keemasan, berbentuk bundar, halus, menonjol, dan berkilau. Lebih dari 90% isolat klinik menghasilkan *Staphylococcus aureus* yang mempunyai kapsul polisakarida atau selaput tipis yang berperan dalam virulensi bakteri (Jawert *et al*, 2008).

2.5 Antibakteri

Antibakteri merupakan bahan atau senyawa yang khusus digunakan untuk kelompok bakteri. Antibakteri dapat dibedakan berdasarkan mekanisme kerjanya, yaitu antibakteri yang menghambat pertumbuhan dinding sel, antibakteri yang mengakibatkan perubahan permeabilitas membran sel atau menghambat pengangkutan aktif melalui membran sel antibakteri yang menghambat sintesis asam nukleat sel. Aktifitas antibakteri dibagi menjadi

dua macam yaitu aktifitas bakteriostatik (menghambat pertumbuhan tetapi tidak membunuh patogen) dan aktifitas bakterisidal (dapat membunuh patogen dalam kisaran luas) (Brooks *et al.*, 2005).

2.5.1 Antibiotik

Amoksisilin adalah derivat-hidroksi dengan aktivitas sama seperti ampisilin tapi resorpsinya lebih lengkap dan pesat dengan kadar darah dua kali lipat dan plasmanya lebih kurang sama tetapi difusinya ke jaringan dan cairan tubuh lebih baik. Begitu pula kadar bentuk aktifnya dalam kemih jauh lebih tinggi dari pada ampisilin maka lebih layak digunakan pada infeksi saluran kemih.

2.5.2 Mekanisme Antibiotik (Tina, 2009)

Berdasarkan mekanismenya dikelompokkan dalam lima kelompok :

2.5.2.1 Menghambat sintesis dinding sel bakteri sehingga menghilangkan kemampuan berkembang biak dan menimbulkan lisis, contoh : Penisilin dan Sefalosporin.

2.5.2.2 Mengganggu kebutuhan membran sel, mempengaruhi permeabilitas sehingga menimbulkan kebocoran dan kehilangan senyawa intraseluler, contoh : nistatin.

2.5.2.3 Menghambat sintesis protein sel bakteri, contoh : Tetrasiklin, kloramfenikol dan eritromisin.

2.5.2.4 Menghambat metabolisme sel bakteri, contoh : Sulfonamid

2.5.2.5 Menghambat sintesis asam nukleat, contoh : Rifampisin dan golongan kuinolon.

2.5.2.6 Aktivitas

Pada umumnya aktivitas dinyatakan dengan satuan berat (mg), kecuali zat-zat yang belum dapat diperoleh 100% murni terdiri dari beberapa campuran zat.

2.5.2.7 Daya kerja

Berdasarkan daya kerjanya, antibiotik dibagi dalam dua kelompok, yaitu :

a. Bakteriostatik, yaitu menghambat pertumbuhan dan perkembangan bakteri

- b. Bakterisid, yaitu membunuh bakteri secara langsung.

2.3.1.8 Spektrum Kerja

Berdasarkan spektrum kerjanya, antibiotik terbagi atas :

- a. Spektrum sempit, bekerja terhadap jenis bakteri saja.
Contoh : Penisilin hanya bekerja terhadap bakteri gram positif dan Gentamisin hanya bekerja terhadap bakteri gram negatif.
- b. Spektrum luas, bekerja terhadap lebih banyak bakteri, baik gram negatif maupun gram positif serta jamur. Contoh : Tetrasiklin dan Kloramfenikol.

Sifat antibiotik sebaiknya menghambat atau membunuh mikroorganisme patogen tanpa merusak inang, bersifat bakterisid, tidak menyebabkan resisten pada kuman, tidak bersifat alergenik atau menimbulkan efek samping bila dipergunakan dalam jangka waktu yang lama, larut dalam air serta stabil.

2.6 Uji Aktifitas Antibakteri

Uji aktifitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan pengenceran. *Disc diffusion test* atau uji difusi dilakukan dengan mengukur diameter zona bening (*Clear zone*) yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh senyawa antibakteri dalam ekstrak. Syarat jumlah bakteri untuk uji kepekaan aktifitas yaitu 10^5 - 10^8 CFU/ml (Hermawan *et al.*, 2007).

Metode difusi merupakan salah satu metode yang sering digunakan, metode difusi dapat dilakukan dengan tiga cara yaitu metode silinder, metode lubang/sumuran dan metode cakram. Metode lubang/sumuran yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang diinjeksikan dengan ekstrak yang akan diuji. Setelah dilakukan inkubasi,

pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya hambatan disekeliling lubang (Kusmayati dan Agustini, 2006).

Prinsip metode pengenceran adalah senyawa antibakteri diencerkan hingga diperoleh beberapa macam konsentrasi, kemudian masing-masing konsentrasi ditambahkan suspensi bakteri uji dalam media cair. Perlakuan tersebut akan diinkubasi dan diamati ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri yang ditandai dengan terjadinya kekeruhan larutan uji senyawa antibakteri pada kadar terkecil. Larutan yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan bakteri uji, ditetapkan sebagai Kadar Hambat Minimal (KHM) atau *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC). Larutan yang ditetapkan KHM tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan bakteri uji ataupun senyawa antibakteri dan diinkubasi selama 8-12 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah diinkubasi ditetapkan sebagai Kadar Bunuh Minimal (KMB) atau *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) (Pratiwi, 2008).

2.6.1 Metode Difusi Cakram

Prinsip dari metode cakram adalah bahan uji dijenuhkan kedalam kertas saring (cakram kertas). Cakram kertas yang mengandung bahan tertentu ditanam pada media pembenihan agar padat yang telah dicampur dengan mikroba yang diuji, kemudian diinkubasi 35 °C selama 18-24 jam. Selanjutnya diamati adanya area (zona) jernih sekitar cakram yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan mikroba. Selama inkubasi, bahan uji berdifusi dari kertas saring kedalam media nutrient agar, sebuah zona inhibisi dengan demikian akan terbentuk. Diameter zona sebanding dengan jumlah bahan uji yang ditambahkan ke kertas saring. Metode ini secara rutin digunakan untuk menguji sensitivitas antibiotik untuk bakteri patogen (Madigan dkk, 2003).

Cakram kertas yang berisi sejumlah untuk mengukur kekuatan penghambat antibakteri terhadap bakteri uji antibakteri tertentu,

diletakkan pada media agar yang telah ditanami bakteri uji. Setelah inkubasi, diameter zona hambat diukur. Metode ini dipengaruhi oleh beberapa faktor fisika dan kimia, selain faktor obat dan organisme misalnya sifat medium dan kemampuan difusi, ukuran molekular dan stabilitas obat (Melinda, 2014).

Pembacaan hasil pada metode kirby-bauer dan modifikasinya adalah :

2.6.1.1 *Radikal zone* yaitu suatu daerah disekitar disk dimana sama sekali tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri. Potensi antibakteri diukur dengan mengukur diameter dari zona radikal (Melinda, 2014).

2.6.1.2 *Iradikal zone* yaitu suatu daerah disekitar disk dimana pertumbuhan bakteri dihambat oleh antibakteri, tetapi tidak dimatikan (Melinda, 2014).

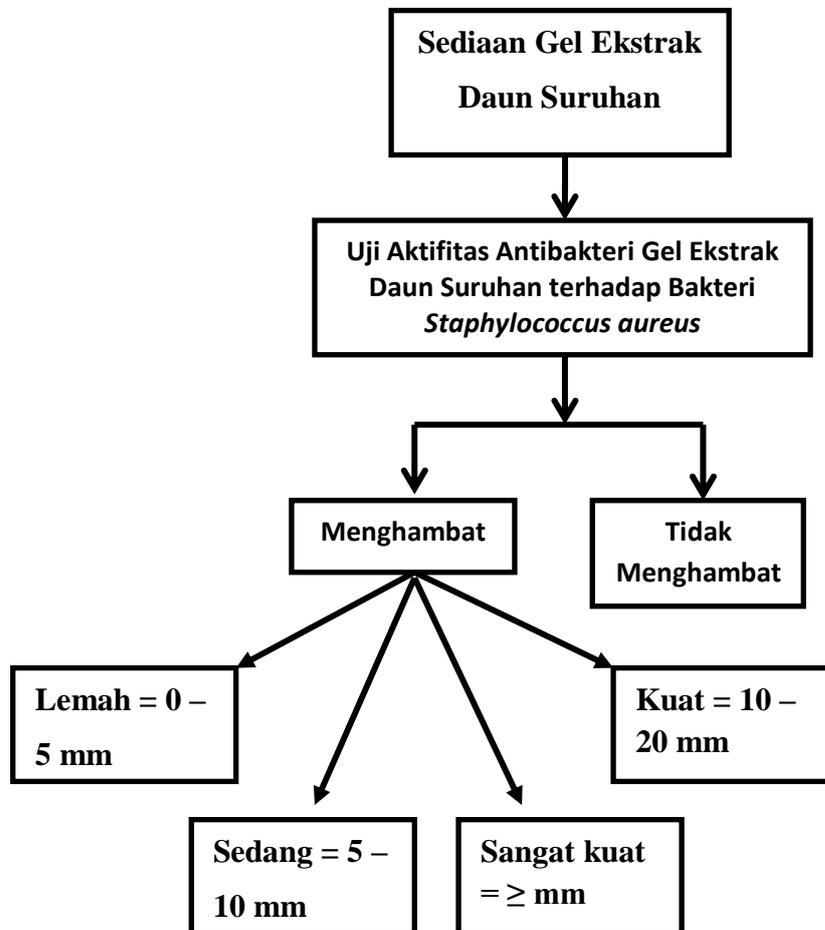
2.6.2 Metode Dilusi

Antibakteri dibuat seri kadar konsentrasinya yang menurun secara bertahap menggunakan media padat atau media cair, selanjutnya media diinokulasi bakteri uji dan diinkubasi, kemudian ditentukan KHM (Kadar Hambat Minimum) antibakteri tersebut (Melinda, 2014).

Cara ini digunakan untuk menentukan KHM (kadar hambat minimal) dan KBM (kadar bunuh minimal) dari bahan antimikroba. Prinsip dari metode dilusi ini adalah menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi media cair dan sejumlah tertentu sel mikroba yang diuji. Kemudian masing-masing tabung diisi dengan bahan yang telah diencerkan secara serial. Selanjutnya seri tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan diamati terjadinya kekeruhan pada tabung. Konsentrasi terendah bahan pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan mikroba) adalah KHM dari bahan uji. Selanjutnya biakan dari semua tabung yang jernih diinokulasikan pada media agar padat, diinkubasi dan keesokan harinya diamati ada tidaknya koloni mikroba yang tumbuh. Konsentrasi terendah obat pada biakan padat yang ditunjukkan

dengan adanya pertumbuhan koloni mikroba adalah KBM dari bahan terhadap bakteri uji (Anonim, 2003).

2.7 Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 2.3 Kerangka Konsep