

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Uraian mengenai tumbuhan

2.1.1 Sawo

Sawo manila (*Manilkara zapota* L.) adalah pohon buah yang dapat berbuah sepanjang tahun. Sawo manila 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 (Morton, 1987).

2.1.2 Morfologi Tanaman

2.1.3.1 Batang

Tanaman Sawo memiliki batang besar dan rindang, dapat tumbuh dengan ketinggian 30-40 m bahkan lebih, berwarna kecoklatan muda dan tua, berbatang kasar, memiliki ukuran diameter sedang tergantung dengan varietes. Batang tanaman ini memiliki kandungan latek yang sangat tinggi, terdapat bercak atau garis kehitaman yang terdapat di batang utama atau cabang.

2.1.3.2 Daun

Daun Sawo tumbuh berselang-seling dengan tepi daun yang rata dan sedikit berbulu. Bentuk daunnya bulat telur. Ukuran daunnya sekitar 7-15 cm.

2.1.3.3 Bunga

Bunga tunggal terletak di ketiak daun dekat ujung ranting, bertangkai 1-2 cm, kadang kali menggantung, diameter bunga sampai dengan 1,5 cm, berwarna putih, bentuknya seperti lonceng. Tiga sepal luar berwarna kecoklatan dan berambut,

sedangkan tiga sepal bagian dalam disertai mahkota berwarna hijau pucat dan 6 stamen (benang sari).

2.1.3.4 Buah

Tanaman Sawo dapat berbuah sepanjang tahun, buah Sawo memiliki rasa manis yang disebabkan kandungan gula dalam daging buah, yang kadarnya berkisar 16-20 persen. Daging buah Sawo juga mengandung lemak, protein, vitamin A, B, dan C, serta mineral besi, kalsium, dan fosfor. Buah Sawo juga mengandung asam folat, 14 mkg/100 g yang diperlukan tubuh manusia untuk pembentukan sel darah merah. Asam folat juga membantu pencegahan terbentuknya homosistein yang sangat berbahaya bagi kesehatan (Astawan, 2010), selain itu, buah ini juga baik untuk kesehatan jantung dan pembuluh darah (Astawan, 2008).

2.1.3.5 Biji

Biji Sawo berwarna hitam mengkilat, lonjong, keras dan pipih. Dalam satu buah terdapat 2 sampai 10 biji.

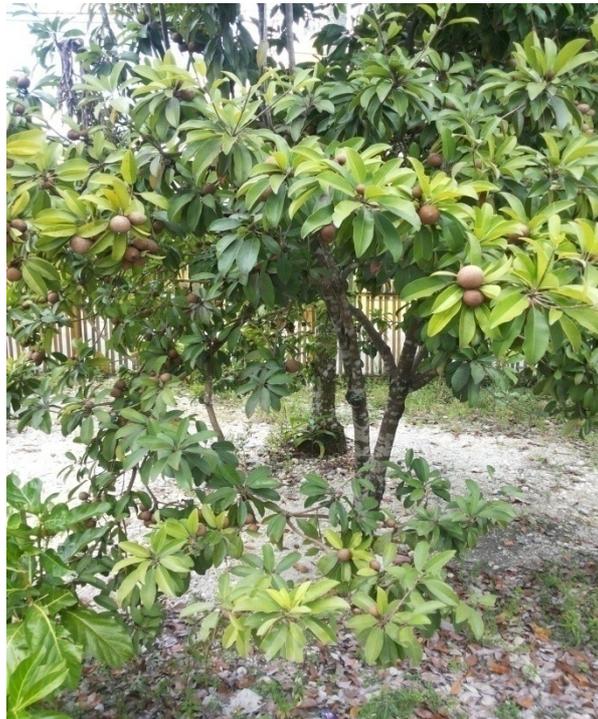
2.1.3.6 Akar

mempunyai akar tunggang dan akar samping (akar-akar cabang yang telah membesar, disebut juga akar lebar yang kuat sekali (Sunarjono, 2008).

2.1.3 Klasifikasi

Klasifikasi tanaman Sawo menurut Samini (2008) :

Kerajaan	: Plantae (tumbuh-tumbuhan)
Divisi	: Spermatophyta (tumbuhan berbiji)
Sub Divisi	: Angiospermae (berbiji tertutup)
Kelas	: Dicotyledoneae biji berkeping dua)
Bangsa	: Ebenales
Suku	: Sapotaceae
Marga	: Manilkara
Jenis	: <i>Manilkara zapota</i> (L.) P. Royen <i>Achras zapota</i> L.



Gambar : 2.1 Pohon Sawo *Manilkara zapota* (L.)

(Sumber : Foto pribadi)

2.2 Simplisia

Simplisia dalam *Materia Medica Indonesia* (1995) diartikan sebagai bahan alamiah yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia berdasarkan sumbernya dapat dibedakan menjadi tiga yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan (mineral).

Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan (isi sel) yang secara spontan keluar dari tumbuhan atau isi sel yang dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia pelikan adalah simplisia yang berupa bahan pelikan yang belum diolah dengan cara sederhana atau belum berupa zat kimia murni (Departemen kesehatan, 1995).

2.3 Kandungan Kimia

2.2.1 Tanin

Tanin dapat menyebabkan denaturasi protein dengan membentuk kompleks dengan protein melalui kekuatan non-spesifik seperti ikatan hidrogen dan efek hidrofobik sebagaimana ikatan kovalen, menginaktifkan adhesin kuman (molekul untuk menempel pada sel inang), dan menstimulasi sel-sel fagosit yang berperan dalam respon imun seluler (Chisnaningsih, 2006).

2.2.2 Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman hijau, kecuali alga. Flavonoid yang lazim ditemukan pada tumbuhan tingkat tinggi (Angiospermae) adalah flavon dan flavonol dengan C- dan O-glikosida, isoflavon C- dan O- glikosida, flavanon C- dan O-glikosida, khalkon dengan C- dan O-glikosida, dan dihidrokhalkon, proantosianidin dan antosianin, auron O-glikosida, dan dihidroflavonol O- glikosida (Markham, 1988). Golongan flavon, flavonol, flavanon, isoflavon, dan khalkon juga sering ditemukan dalam bentuk aglikonnya. Flavonoid termasuk senyawa fenolik alam yang potensial sebagai antioksidan dan mempunyai bioaktifitas sebagai obat (Rohyami, 2008).

Menurut Sabir (2005) disebutkan bahwa flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri. Adapun menurut Naim (2004), flavonoid memiliki sifat lipofilik sehingga dimungkinkan akan merusak membran sel bakteri. Kemudian, senyawa tanin diduga berhubungan dengan kemampuannya dalam menginaktivasi adhesin mikroba (zat perekat yang terdapat pada fimbriae/pili), enzim, dan protein transport pada membran sel.

2.4 Ekstrak

2.3.1 Pengertian Ekstrak

Ekstrak merupakan suatu produk hasil pengambilan dari zat aktif melalui proses ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Kemudian pelarut itu diuapkan kembali sehingga zat aktif ekstrak menjadi kental atau pekat. Bentuk dari ekstrak itu sendiri berupa ekstrak kental atau kering tergantung dari jumlah pelarut yang diuapkan (Marjoni, 2016).

2.3.2 Tujuan Ekstraksi

Tujuan dari ekstraksi adalah untuk menarik semua zat aktif beserta komponen kimia yang terdapat dalam simplisia. Dalam menentukan tujuan dari suatu proses ekstraksi, perlu diperhatikan beberapa kondisi dan pertimbangan yaitu :

2.3.2.1 Senyawa kimia yang telah diketahui identitasnya.

2.3.2.2 Mengandung kelompok senyawa kimia tertentu. Proses ekstraksi bertujuan untuk menemukan kelompok senyawa kimia metabolit sekunder tertentu dalam simplisia seperti alkaloid, flavonoid dan lain-lain.

2.3.2.3 Organisme (tanaman atau hewan) yang biasanya digunakan dalam pengobatan tradisional.

2.3.2.4 Penemuan senyawa baru untuk isolasi senyawa kimia baru yang belum diketahui sifatnya dan belum pernah ditentukan sebelumnya dengan metode apapun (Marjoni, 2016).

2.3.3 Metode Pembuatan Ekstrak

Menurut Marjoni (2016) ada beberapa metode ekstraksi yaitu:

2.3.3.1 Cara dingin

a. Maserasi

Maserasi adalah proses ekstraksi sederhana yang dilakukan hanya dengan cara merendam simplisia dalam satu atau campuran pelarut selama waktu tertentu pada temperatur kamar dan terlindung dari sinar atau cahaya.

b. Perkolasi

Perkolasi adalah proses penyarian zat aktif secara dingin dengan cara mengalirkan pelarut secara kontinu pada simplisia selama waktu tertentu.

2.3.3.2 Cara panas

a. Refluks

Refluks merupakan proses ekstraksi dengan pelarut pada titik didih pelarut selama waktu dan jumlah pelarut tertentu dengan adanya pendingin balik (kondensor). Proses ini umumnya dilakukan 3-5 kali pengulangan pada residu pertama, sehingga termasuk proses ekstraksi yang cukup sempurna.

b. Soxhlet

Soxhlet merupakan proses ekstraksi panas menggunakan alat khusus berupa ekstraktor soxhlet. Suhu yang digunakan lebih rendah dibandingkan dengan suhu pada metode refluks.

c. Digesti

Digesti adalah proses ekstraksi yang cara kerjanya hampir sama dengan maserasi, hanya saja digesti menggunakan pemanasan rendah pada suhu 30-40°C. Metode ini biasanya digunakan untuk simplisia yang tersari baik pada suhu biasa.

d. Infus

Infus merupakan sediaan cair yang dibuat dengan cara menyari simplisia nabati dengan air pada suhu 90°C selama 15 menit kecuali dinyatakan lain.

e. Dekok

Dekok merupakan proses penyarian yang hampir sama dengan infusa. Perbedaan hanya terletak pada lama waktu pemanasan. Waktu pemanasan pada dekokta yaitu 30 menit dihitung setelah suhu mencapai 90°C.

2.3.4 Macam-Macam Ekstrak Menurut Marjoni (2016), ekstrak dapat dibedakan berdasarkan konsistensinya:

2.3.4.1 Ekstrak Cair

Ekstrak cair adalah hasil penyarian bahan alam dan masih mengandung pelarut.

2.3.4.2 Ekstrak Kental

Sediaan kental adalah ekstrak yang telah mengalami proses penguapan dan sudah tidak mengandung cairan pelarut lagi, tetapi konsistensinya tetap cair pada suhu kamar.

2.3.4.3 Ekstrak Kering

Ekstrak kering adalah ekstrak yang telah mengalami proses penguapan dan tidak lagi mengandung pelarut dan berbentuk padat (kering).

2.5 Etanol

Etanol disebut juga etil alkohol dengan rumus kimia C_2H_5OH atau CH_3CH_2OH dengan titik didihnya $78,4^\circ C$. Etanol memiliki sifat tidak berwarna, volatil dan dapat bercampur dengan air (Kartika *et al.*, 1997). Ada 2 jenis etanol menurut Rama (2008), etanol sintetik sering disebut metanol atau metil alkohol atau alkohol kayu, terbuat dari etilen, salah satu derivat minyak bumi atau batu bara. Bahan ini diperoleh dari sintesis kimia yang disebut hidrasi, sedangkan bioetanol direkayasa dari biomassa (tanaman) melalui proses biologi (enzimatik dan fermentasi).

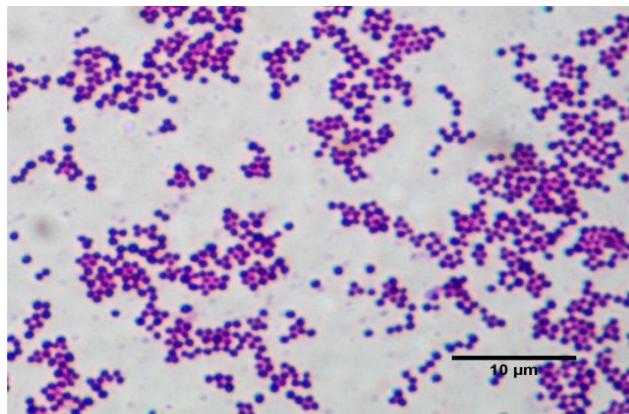
Mengingat pemanfaatan bioetanol atau etanol beraneka ragam, sehingga *grade* etanol yang dimanfaatkan harus berbeda sesuai dengan penggunaannya. Untuk etanol yang mempunyai *grade* 90-96,5% dapat digunakan pada industri, sedangkan etanol yang mempunyai *grade* 96-99,5% dapat digunakan sebagai campuran untuk miras dan bahan dasar industri farmasi. Besarnya *grade* etanol yang dimanfaatkan sebagai campuran bahan bakar untuk kendaraan sebesar 99,5-100%. Perbedaan besarnya *grade* akan berpengaruh terhadap proses konversi karbohidrat menjadi gula (glukosa) larut air (Indyah, 2007).

2.6 Bakteri *Staphylococcus epidermidis*

Bakteri adalah sel prokariotik yang dikelompokkan menjadi dua kelompok besar, yaitu eubakteri yang merupakan bakteri sejati dan archaea yang secara morfologi serupa dengan eubakteri, namun memiliki perbedaan dalam hal ciri-ciri fisiologis. Kelompok bakteri terdiri atas semua organisme prokariotik patogen dan nonpatogen yang terdapat didaratan dan perairan, serta organisme prokariotik yang bersifat fotoautotrof. Kelompok archaea meliputi organisme prokariotik yang tidak memiliki peptidoglikan pada dinding selnya, dan umumnya hidup pada lingkungan yang bersifat ekstrem (Pratiwi, 2008).

Sel bakteri ada yang berbentuk bulat, batang atau spiral umumnya bakteri memiliki diameter antara 0,5-2,5 μm (Pelczar dan Chan, 2007). Bakteri tersebar (berada dimana-mana) di tanah, air dan sebagai simbiosis dari organisme lain.

Staphylococcus epidermidis merupakan bakteri oportunistik yang menyerang individu ketika sistem tubuh lemah. Ciri-ciri penting dari bakteri *Staphylococcus epidermidis* yaitu berbentuk kokus, berdiameter 0,5-1,5 μm . *Staphylococcus epidermidis* berkoloni menggerombol menyerupai buah anggur, koloni biasanya berwarna putih atau krem. Bakteri ini merupakan Gram positif (Pramasanti, 2008). *Staphylococcus epidermidis* bersifat aerob fakultatif. Kuman ini tidak memiliki protein A pada dinding selnya. Bersifat koagulasi negatif, dalam keadaan anaerob tidak meragi manitol (Todar, 2011).



Gambar : 2.2 Bakteri *Staphylococcus epidermidis*
(Sumber : Lenny, 2006)

Staphylococcus epidermidis merupakan flora normal pada kulit manusia, pada umumnya bakteri ini tidak menyebabkan masalah pada orang yang sehat dan normal. Akan tetapi organisme ini menjadi patogen oportunistik yang menyebabkan infeksi nosokomial pada pembuluh darah dan persendian. *Staphylococcus epidermidis* memproduksi sejenis toksin atau zat racun.

Bakteri ini juga memproduksi semacam lendir yang memudahkan untuk menempel dipermukaan alat-alat yang terbuat dari plastik dan kaca. Lendir ini pula yang membuat bakteri ini lebih tahan terhadap fagositosis (salah satu mekanisme pembunuhan bakteri oleh sistem kekebalan tubuh) dan beberapa antibiotika tertentu (Sinaga, 2004).

Staphylococcus epidermidis biasanya dapat menyebabkan penyakit seperti infeksi kulit, infeksi saluran kemih, pembengkakan (abses) jerawat, dan infeksi ginjal (Radji, 2011). Selain itu bakteri ini juga menyebabkan infeksi pada neonatus, orang-orang yang sistem kekebalannya rendah dan pada penderita yang menggunakan alat yang dipasang didalam tubuh (Hart dan Shears, 2004).

Klasifikasi dari *Staphylococcus epidermidis* sebagai berikut :

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Firmicutes
Class	: Bacili
Ordo	: Bacillales
Family	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Species	: <i>Staphylococcus epidermidis</i> (Salle, 1961)

2.7 Mekanisme Kerja Antimikroba

2.7.1 Antimikroba yang menghambat metabolisme sel mikroba

Antimikroba yang termasuk kedalam kelompok ini adalah sulfonamid, trimetoprim, asam p- aminosalisilat (PAS) dan sulfon, dengan mekanisme kerja ini diperoleh efek bakteriostatik. Mikroba membutuhkan asam folat untuk kebutuhan hidupnya. Berbeda dengan mamalia yang mendapatkan asam folat dari luar, kuman patogen harus mensintesis sendiri asam folat dari asam amino benzoat (PABA) untuk kebutuhan hidupnya.

Apabila sulfonamid dan sulfon menang melawan PABA untuk diikutsertakan dalam pembentukan asam folat, maka terbentuk analog asam folat yang nonfungsional, akibatnya kehidupan mikroba akan terganggu. Berdasarkan sifat kompetisi, efek sulfonamid dapat diatasi dengan meningkatkan kadar PABA. Untuk dapat bekerja, dihidrofolat harus diubah menjadi bentuk aktifnya yaitu asam tetrahidrofolat. Enzim dihidrofolat reduktase yang berperan disini dihambat oleh trimetoprim, sehingga asam dihidrofolat tidak dapat direduksi menjadi asam tetrahidrofolat yang fungsional. P-aminosalisilat merupakan analog PABA, dan bekerja dengan menghambat sintesis asam folat pada *M. tuberculosis*. Sulfonamid tidak efektif terhadap bakteri yang sensitif terhadap *M. tuberculosis* dan sebaliknya p-aminosalisilat tidak efektif terhadap sulfinamid.

2.7.2 Antimikroba yang menghambat sintesis dinding sel mikroba

Obat yang termasuk kedalam kelompok ini adalah basitrasin, vankomisin, penisilin, vankomisin, dan sikloserin. Dinding sel bakteri terdiri dari polipeptidoglikan yaitu suatu kompleks polimer mukopeptida. Sikloserin menghambat reaksi yang paling dini dalam proses sintesis dinding sel yang diikuti basitrasin, vankomisin dan diakhiri oleh penisilin dan sefalosporin, yang menghambat reaksi terakhir dalam rangkaian tersebut. Oleh karena itu tekanan osmotik dalam sel kuman lebih tinggi dibandingkan diluar sel maka kerusakan dinding sel kuman akan menyebabkan terjadinya lisis, yang merupakan dasar efek bakterisidal pada kuman yang peka.

2.7.3 Antimikroba yang mengganggu keutuhan membran sel mikroba

Obat yang termasuk kedalam kelompok ini adalah polimiksin, polien serta berbagai antimikroba kemoterapeutik, umpamanya antiseptik *surface active agents*. Polimiksin sebagai senyawa ammonium-kuaterner dapat merusak membran sel setelah bereaksi dengan fosfat pada membran sel mikroba.

2.7.4 Antimikroba yang menghambat sintesis protein sel mikroba

Obat yang termasuk kedalam kelompok ini adalah golongan obat aminoglikosida, makrolid, linkomisin, tetrasiklin dan kloramfenikol. Sintesis protein berlangsung di ribosom, dengan bantuan mRNA dan tRNA. Pada bakteri, ribosom terdiri atas dua subunit yaitu berdasarkan konstanta sedimentasi dinyatakan sebagai ribosom 30S dan 50S. Untuk berfungsi akan bersatu pada pangkal rantai mRNA menjadi ribosom 30S.

2.7.5 Antimikroba yang menghambat sintesis asam nukleat sel mikroba

Obat yang termasuk kedalam kelompok ini adalah obat golongan rifampisin dan golongan kuinolon. Yang lainnya walaupun bersifat antimikroba, karena sitotoksitasnya, pada umumnya hanya digunakan sebagai obat antikanker, tetapi dalam beberapa obat ini juga digunakan sebagai antivirus.

2.8 Metode Pengujian Antimikroba

Uji aktivitas antimikroba dapat dilakukan dengan menggunakan tiga metode, yaitu metode difusi, dilusi, dan bioautografi. Metode difusi dan bioautografi merupakan teknik secara kualitatif karena metode ini hanya akan menunjukkan ada atau tidaknya senyawa dengan aktivitas antimikroba. Disisi lain, metode dilusi digunakan untuk kuantitatif yang akan menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) (Jawet *et al.*, 2007).

2.6.1 Metode Difusi

Metode yang paling luas digunakan adalah metode difusi cakram. Cakram kertas filter yang mengandung sejumlah tertentu obat ditempatkan diatas medium padat yang telah diinokulasi pada permukaan dengan organisme uji. Setelah diinkubasi, diameter zona jernih inhibisi disekitar cakram diukur sebagai ukuran kekuatan inhibisi obat melawan organisme uji tertentu.

Metode difusi dipengaruhi banyak faktor fisik dan kimia selain interaksi sederhana antara obat dan organisme (misal, sifat medium dan kemampuan difusi, ukuran molekular, dan stabilitas obat) (Jawet *et al.*, 2007). Metode difusi dibagi menjadi beberapa cara yaitu : (Ratnasari, 2009).

2.6.1.1 Cara Silinder Gelas (Kirby Bauer)

Metode silinder yaitu meletakkan beberapa silinder yang terbuat dari gelas atau besi tahan karat diatas media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri. Tiap silinder ditempatkan sedemikian rupa hingga berdiri diatas media agar, diisi dengan larutan yang akan diuji dan diinkubasi, setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan disekeliling silinder.

2.6.1.2 Metode kertas cakram

Metode kertas cakram yaitu meletakkan cakram kertas yang telah direndam dengan larutan uji diatas media padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan disekeliling cakram.

2.6.1.3 Metode cetak lubang (Sumuran)

Metode cetak lubang yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang diisi dengan larutan yang akan diuji. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan disekeliling lubang.

2.6.2 Metode Dilusi

Sejumlah zat antimikroba dimasukkan ke dalam medium bakteriologi padat atau cair. Biasanya digunakan pengenceran dua kali lipat zat

antimikroba. Medium akhirnya diinokulasi dengan bakteri yang diuji dan diinkubasi.

Tujuan akhir dari metode dilusi adalah untuk mengetahui seberapa banyak jumlah zat antimikroba yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri yang diuji. Uji keretakan dilusi agak membutuhkan waktu yang banyak, dan kegunaannya yang terbatas pada keadaan-keadaan tertentu. Uji dilusi kaldu tidak praktis dan kegunaannya sedikit apabila dilusi harus dibuat dalam tabung pengujian, namun adanya serangkaian preparat dilusi kaldu untuk berbagai obat yang berbeda dalam lempeng mikrodilusi telah meningkatkan dan mempermudah metode (Jawet *et al.*, 2007).

Keuntungan metode dilusi adalah bahwa uji tersebut memungkinkan adanya hasil kuantitatif, yang menunjukkan jumlah obat tertentu yang diperlukan untuk menghambat (membunuh) mikroorganisme yang diuji (Jawet *et al.*, 2007). Metode dilusi dibagi menjadi beberapa cara yaitu, (Ratnasari, 2009).

2.6.2.1 Cara penapisan lempeng agar

Larutan zat antibakteri dibuat pengenceran kelipatan dan sehingga didapat berbagai variasi konsentrasi. Hasil pengenceran larutan tersebut dicampur dengan media agar yang telah dicairkan kemudian dijaga pada suhu 45°C-50°C, dengan perbandingan antara larutan zat antibakteri dengan media adalah suatu bagian untuk larutan zat antibakteri dan sembilan bagian untuk media. Setelah itu, media campuran tersebut dituang kedalam cawan petri steril dan dibiarkan dingin hingga membeku. Lalu pada tiap cawan petri ditanamkan dengan suspensi bakteri yang mengandung kira-kira 10^5 - 10^6 CFU/ml, kemudian media cawan petri tersebut dalam posisi terbalik dan diinokulasi pada suhu 37°C selama

18-24 jam. Untuk setiap pengenceran digunakan kontrol negatif. Hasil pengamatan konsentrasi hambat minimal (KHM) dibaca sebagai konsentrasi terendah yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme, jika terlihat pertumbuhan bakteri tidak jelas atau kabur maka pertumbuhan bakteri dapat dibiakkan.

2.6.2.2 Cara pengenceran tabung

Larutan zat antibakteri dilarutkan dengan pelarut yang sesuai, kemudian diencerkan dengan medium cair berturut-turut pada tabung yang disusun dalam satu deret hingga konsentrasi terkecil yang dikehendaki. Tiap tabung ditanami dengan suspensi bakteri yang mengandung kira-kira 10^5 - 10^6 sel bakteri CFU/ml. Selanjutnya dibiakkan dalam media tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Pertumbuhan bakteri diamati dengan cara melihat kekeruhan didalam tabung tersebut, yang disebabkan oleh inokulum bakteri. Larutan uji agen antimikroba pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM. Larutan yang ditetapkan sebagai tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media baru tanpa penambahan mikroba uji ataupun agen antimikroba, dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media yang tetap terlihat jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai KBM.

2.6.2.3 Turbidimetri

Metode ini dilakukan dengan suatu turunan protein yang dimurnikan dan dibiakkan dalam satuan tuberkulin. Reaksi pada metode ini adalah mengerasnya jaringan yang dengan mudah dapat dirasakan dengan garis tengah 10 mm atau lebih yang terjadi dalam waktu 48-72 jam setelah penyuntikan

didalam kulit. Uji ini diukur dengan spektrofotometer UV-VIS dengan panjang gelombang 530 nm.

2.6.3 Metode Bioautografi (Akhyar, 2010)

Bioautografi adalah suatu metode pendeteksian untuk menemukan suatu senyawa antimikroba yang belum teridentifikasi dengan cara melokalisasi aktivitas antimikroba tersebut pada suatu kromatogram. Metode ini memanfaatkan pengerjaan Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

Pada bioautografi ini didasarkan atas efek biologi berupa antibakteri, antiprotozoa, antitumor dan lain-lain dari substansi yang diteliti. Ciri khas dari prosedur bioautografi adalah didasarkan atas teknik difusi agar, dimana senyawa antimikrobanya dipindahkan dari lapisan KLT ke medium agar yang telah diinokulasikan dengan merata bakteri uji yang peka. Dari hasil inkubasi pada suhu dan waktu tertentu akan terlihat zona hambatan disekeliling spot dari KLT yang telah ditempelkan pada media agar. Zona hambatan ditampakkan oleh aktivitas senyawa aktif yang terdapat didalam bahan yang diperiksa terhadap pertumbuhan mikroorganisme uji. Bioautografi dapat dibagi atas tiga kelompok, yaitu :

2.6.3.1 Bioautografi langsung

Adalah dimana mikroorganismenya tumbuh secara langsung diatas lempeng Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Prinsip kerja dari metode ini adalah suspensi mikroorganisme uji yang peka dalam medium cair disemprotkan pada permukaan KLT yang telah dihilangkan sisa-sisa eluen yang menempel pada lempeng kromatogram. Setelah itu dilakukan inkubasi pada suhu dan waktu tertentu.

2.6.3.2 Bioautografi kontak

Senyawa antimikroba dipindahkan dari lempeng KLT ke medium agar yang telah diinokulasikan bakteri uji yang peka secara merata dan melakukan kontak langsung. Metode

ini didasarkan atas difusi dari senyawa yang telah dipisahkan dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) atau kromatografi kertas.

2.6.3.3 Bioautografi pencelupan

Bioautografi pencelupan, dimana medium agar telah diinokulasikan dengan suspensi bakteri dituang diatas lempeng Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

2.6.4 Faktor-faktor yang mempengaruhi aktivitas antimikroba

Faktor yang mempengaruhi aktivitas antimikroba yaitu : (Jawet *et al.*, 2007)

1. pH lingkungan

Beberapa obat lebih aktif pada pH asam (misal nitrofurantoin), obat lainnya lebih aktif pada pH basa (misal sulfonamide dan aminoglikosida).

2. Komponen medium

Natrium polinetosulfat (dalam medium biakan darah) dan deterjen anion lain menghambat aminoglikosida. PABA dalam ekstrak jaringan bersifat antagonis terhadap sulfonamide.

Protein serum mengikat penisilin dalam berbagai derajat, berkisar dari 40% untuk metisilin sampai 98% untuk diklosasilin. Penambahan NaCl ke medium meningkatkan deteksi resistensi metisilin pada *Staphylococcus epidermidis*.

3. Stabilitas obat

Pada suhu inkubator, beberapa agen antimikroba kehilangan aktivitasnya.

4. Ukuran inokulum

Pada umumnya, semakin besar inokulum bakteri semakin rendah keretakan bakteri tersebut. Inhibisi pada populasi bakteri yang besar lebih lambat dan kurang sempurna dibandingkan pada

populasi yang kecil. Selain itu, mutan yang resisten lebih mungkin timbul dalam populasi besar.

5. Lama inkubasi

Pada banyak keadaan, mikroorganisme tidak dimatikan tetapi hanya dihambat dengan pajanan singkat kea gen antimikroba. Semakin lama inkubasi berlangsung, semakin besar kemungkinan resisten timbul atau anggota populasi antimikroba yang kurang rentan mulai memperbanyak diri seiring dengan berkurangnya obat.

6. Aktivitas metabolik mikroorganisme

Pada umumnya, organisme yang tumbuh secara aktif dan cepat lebih rentan terhadap kerja daripada organisme pada fase istirahat. Organisme tidak aktif secara metabolik yang bertahan terhadap pajanan obat dalam jangka lama dapat mempunyai keturunan yang benar-benar rentan terhadap obat yang sama.

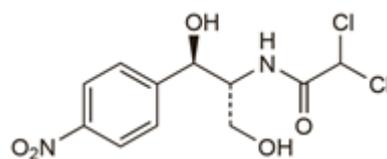
2.9 Kloramfenikol

Kloramfenikol merupakan antibiotik bakteriostatik berspektrum luas yang aktif terhadap organisme-organisme aerobik dan anaerobik Gram positif maupun negatif. Sebagian besar bakteri Gram positif dihambat pada konsentrasi 1-10 µg/ml sementara kebanyakan bakteri Gram negatif dihambat pada konsentrasi 0,2-5 µl/ml.

Rumus molekul : $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$

Berat molekul : 323,13

Rumus Bangun :



- Pemerian : Hablur halus berbentuk jarum atau lempeng memanjang, putih, sampai putih kelabu atau putih kekuningan, tidak berbau, rasa yang pahit.
- Kelarutan : Larut lebih kurang 400 bagian air, dalam 2,5 bagian etanol (95%) P dan dalam 7 bagian propilenglikol P: sukar larut dalam kloroform P dan dalam eter P.
- Penyimpanan : dalam wadah tertutup baik, terlindung dari cahaya.
- Penggunaan : Antibiotik (Farmakope IV, 1995)

2.10 Kadar Hambat Minimal dan Kadar Bunuh Minimal

2.9.1 Kadar Hambat Minimal

Aktivitas antibakteri ditentukan oleh spektrum kerja, cara kerja dan ditentukan pula oleh konsentrasi Kadar Hambat Minimal (KHM). Kadar Hambat Minimal adalah konsentrasi minimal dari suatu zat yang mempunyai efek daya hambat pertumbuhan mikroorganisme (ditandai dengan tidak ada kekeruhan pada tabung reaksi), setelah diinkubasi dengan suhu 37° C selama 18-24 jam.

Penetapan KHM dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu :

a. Cara cair

Pada cara ini digunakan media cair yang telah ditambahkan zat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri atau jamur dengan pengenceran tertentu kemudian diinokulasikan biakan bakteri atau jamur dengan jumlah yang sama. Respon zat uji ditandai dengan kejernihan atau kekeruhan pada tabung reaksi setelah diinkubasi.

b. Cara padat

Pada cara ini digunakan media padat yang telah dicampur dengan larutan zat uji dengan berbagai konsentrasi. Dengan cara ini satu cawan petri dapat digores lebih dari satu jenis mikroba untuk memperoleh nilai KHM.

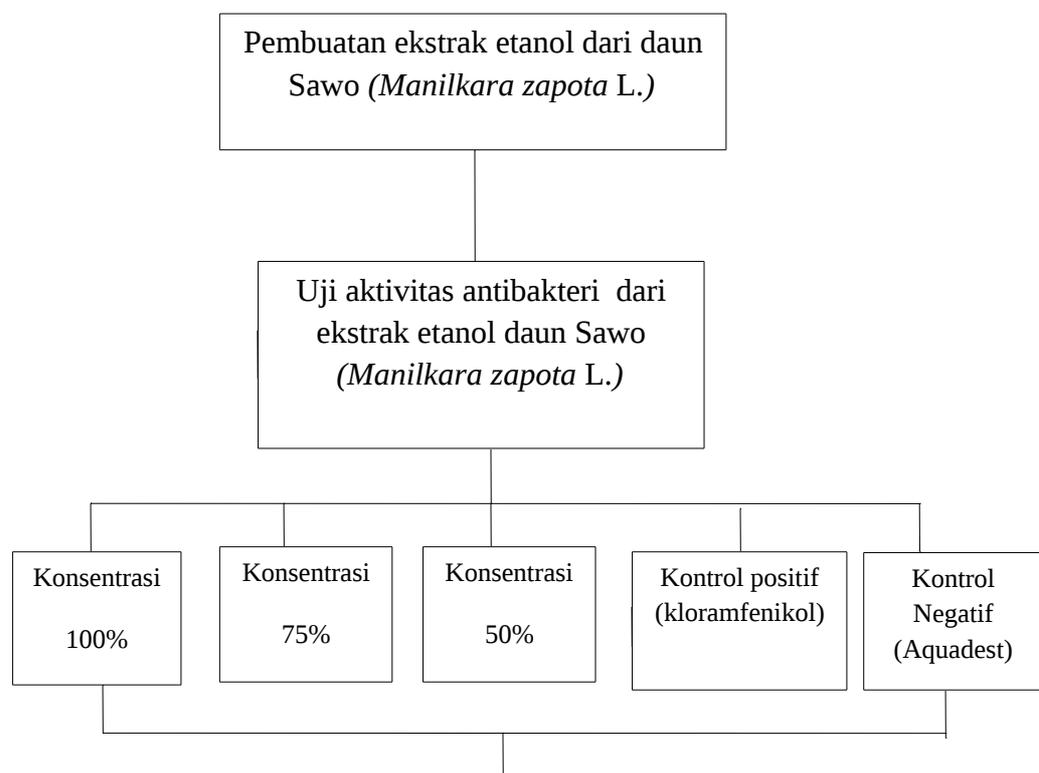
Aktivitas antimikroba dari ekstrak tanaman diklasifikasikan kuat jika nilai KHM < 100 µg/ml, sedang jika $100 > \text{KHM} \leq 625$ µg/ml dan lemah jika $\text{KHM} > 625$ µg/ml.

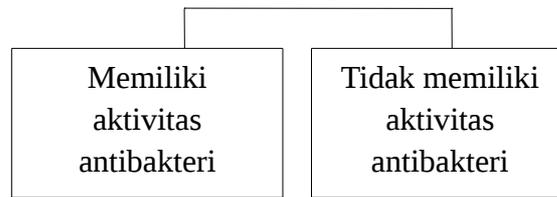
2.9.2 Kadar Bunuh Minimal

Kadar Bunuh Minimal (KBM) merupakan kadar terendah dari antimikroba yang dapat membunuh bakteri (ditandai dengan tidak ada tumbuhnya kuman pada medium padat) atau pertumbuhan koloninya kurang dari 0,1% dari jumlah koloni inokulum awal (Original inokulum/OI) pada medium padat yang telah dilakukan penggoresan sebanyak satu ose sebelumnya.

2.11 Kerangka konsep

Kerangka konsep merupakan abstraksi yang terbentuk oleh generalisasi dari hal-hal khusus, serta model konseptual yang berkaitan dengan bagaimana seorang peneliti menghubungkan secara logis beberapa faktor yang dianggap penting dalam penelitian (Notoatmodjo, 2010).





Gambar 2.3 Kerangka Konsep