

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan tentang *Carica papaya L*

2.1.1 Taksonomi

Dalam taksonomi tumbuh-tumbuhan, tanaman papaya diklasifikasikan sebagai berikut:

Divisi : Spermatophyta

Sub Divisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledonae

Ordo : Cistales

Famili : Caricaceae

Genus : *Carica*

Spesies : *Carica papaya L*

(Septiningsih, 2008)

Sinonim : pawpaw tree, papaya, papayer, tinti, pepol, chich put, fan kua, wan shou kuo, kavunagaci, kepaya, kates (Anibijuwon and Udeze, 2009).



Gambar 2.1 Pohon papaya (Astuti, 2009)

Carica papaya L adalah satu-satunya jenis dalam genus *Carica*. Nama papaya dalam bahasa Indonesia diambil dari bahasa Belanda, “papaja”, yang pada gilirannya juga mengambil dari nama bahasa Arawak, “papaya”. Dalam bahasa Jawa papaya disebut kates, dan dalam bahasa Sunda disebut gedang (Wikipedia, 2011).

2.1.2. Morfologi dan Ekologi

Pepaya (*Carica Papaya L*) merupakan tumbuhan yang berbatang tegak dan basah. Pepaya menyerupai palma, bunganya berwarna putih dan buahnya yang masak berwarna kuning kemerahan, rasanya seperti buah melon. Tinggi pohon papaya dapat mencapai 8 sampai 10 meter dengan akar yang kuat. Helaiannya menyerupai telapak tangan manusia. Apabila daun papaya

tersebut dilipat menjadi dua bagian persis di tengah, akan nampak bahwa daun papaya tersebut simetris. Rongga dalam pada buah papaya berbentuk bintang apabila penampang buahnya dipotong melintang. Tanaman ini juga dibudidayakan di kebun-kebun luas karena buahnya yang segar dan bergizi (Santoso, 2003).

Pepaya adalah *monodioecious* (berumah tunggal sekaligus berumah dua) dengan tiga kelamin : tumbuhan jantan, betina, dan banci (hermafrodit). Tumbuhan jantan dikenal sebagai “papaya gantung”, yang walaupun jantan kadang-kadang dapat menghasilkan buah pula secara “parthenogenesis”. Buah ini mandul (tidak menghasilkan biji subur), dan dijadikan bahan obat tradisional. Bunga papaya memiliki mahkota bunga berwarna kuning pucat dengan tangkai atau duduk pada batang. Bunga jantan pada tumbuhan jantan tumbuh pada tangkai panjang. Bunga biasanya ditemukan pada daerah sekitar pucuk (Wikipedia bahasa Indonesia, 2011).

Bentuk buah bulat hingga memanjang, dengan ujung biasanya meruncing. Warna buah ketika muda hijau gelap, dan setelah masak hijau muda hingga kuning kemerahan. Bentuk buah membulat bila berasal dari tanaman betina dan memanjang (oval) bila dihasilkan tanaman banci. Tanaman banci lebih disukai dalam budidaya karena dapat menghasilkan buah lebih banyak dan buahnya lebih besar. Daging buah berasal dari karpela yang menebal, berwarna kuning hingga merah, tergantung varietasnya. Bagian tengah buah berongga. Biji-biji berwarna hitam atau kehitaman dan terbungkus semacam lapisan berlendir (pulp) untuk mencegahnya dari kekeringan. Dalam budidaya, biji-biji untuk ditanam kembali diambil dari bagian tengah buah (Wikipedia bahasa Indonesia, 2011).

Kelamin jantan pepaya ditentukan oleh suatu kromosom Y-primitif, yang 10% dari keseluruhan panjangnya tidak mengalami rekombinasi. Suatu penanda genetik RAPD juga telah ditemukan untuk membedakan pepaya berkelamin betina dari pepaya jantan atau banci (Wikipedia bahasa Indonesia, 2011).

Agar dapat tumbuh dan berkembang biak dengan baik, pepaya perlu ditunjang keadaan lingkungan yang memadai. Faktor lingkungan yang paling dominan dalam pertumbuhannya adalah iklim. Ketinggian yang baik untuk pertumbuhannya antara 1 – 1000 m di atas permukaan laut, curah hujan antara 1000 – 1500 mm/tahun, suhu udara antara 22 – 26 °C, dan dengan penyinaran yang tinggi. Selain itu, kondisi tanah yang baik adalah tanah yang gembur, drainase yang baik, dan kemasaman (pH) antara 6,5 – 7 (Santoso, 2003).

2.1.3 Kandungan Kimia Daun Pepaya (*Carica papaya L.*)

Daun pepaya mengandung banyak senyawa aktif yang dapat meningkatkan tenaga antioksidan total di dalam darah dan mengurangi kadar peroksida, antara lain papain, chymopapain, cystatin, tocopherol, asam askorbat, flavonoid, glikosida sianogenik dan glukosinolat (Baskaran *et al.*, 2012).

Papain dapat dibedakan menjadi papain kasar (*crude papain*), papain bersih (*refined papain*), dan papain murni (*pure papain*). Papain telah diproduksi secara massal dan menjadi komoditas dagang. Daun pepaya juga berkhasiat obat dan perasannya digunakan dalam pengobatan tradisional untuk menambah nafsu makan (Warisno, 2003).

Kegunaan dari papain antara lain untuk pelunak daging, obat gangguan pencernaan (dyspepsia), obat cacing, obat pengendali oedema dan inflamasi, bahan aktif untuk krim, pembersih kulit muka, bahan pembuat pasta gigi, bahan

perenyah pada pembuatan kue kering seperti *cracker*, bahan penggumpal susu pada pembuatan keju, bahan pelarut gelatin, dan bahan pencuci lensa. Bahan aktif dari papain yang dapat merusak membrane bakteri adalah *glucotropaeolin benzyl isothiocyanate* (BITC) (Kalie, 2006).

Dalam 100 gram daun papaya mengandung berbagai macam zat antara lain Vitamin A 18250 SI, Kalori 79 kal, Fosfor 63 mg, Protein 8,0 mg, Besi 0,8 mg, Air 75,4, Lemak 2 g, Vitamin B1 0,15mg, Hidrat arang 11,9 g, Vitamin C 140mg, Kalsium 353 mg (Kalie, 2006).

2.1.4 . Penggunaan tanaman papaya dalam pengobatan

Carica papaya mengandung dua senyawa penting yang aktif secara biologi yaitu chymopapain dan papain dimana telah digunakan secara luas untuk pengobatan kerusakan digestif (Anibijuwon, 2009 dan Ahmad *et al.*, 2011).

Dari pengalaman pengobatan secara tradisional yang telah dilakukan, tanaman ini dapat digunakan sebagai analgesik, amubisid, antibakteri, kardiotonik, cholagogum, digestif, emenagogum, febrifuge, hipotensif, laksatif, pectoral, stomachic, vermifuge dan juga efektif untuk jaundice (Anibijuwon dan Udeze, 2009).

Selain untuk keperluan pengobatan sebagai pengganti antimikroba, ekstrak *Carica papaya* juga dapat digunakan sebagai pestisida nabati untuk pengendalian hama kutu daun (*Aphis gossypii*) pada tanaman cabai (*Capsicum annum L*). Upaya pengendalian hama selama ini menggunakan pestisida sintetis yang dapat meninggalkan efek residu bahan kimia pada hasil pertanian yang mempunyai efek kurang baik bagi kesehatan. Selain itu aplikasi pestisida sintetis yang terus menerus menyebabkan resistensi hama, resurgensi hama, timbulnya

hama sekunder, matinya musuh alami dan pencemaran lingkungan (Nechiyana, 2012).

2.2. Tinjauan tentang *Shigella dysenteriae*

2.2.1. *Shigella*

Shigella adalah bakteri Gram-negatif, berbentuk batang (bacillus), non-motil, tidak membentuk spora, bakteri anaerob fakultatif yang tidak berkapsul. Bakteri ini mampu bertahan hidup di lingkungan yang terkontaminasi keasaman saluran gastro-intestinal manusia. *Shigella* berbahaya karena bisa menimbulkan ancaman kesehatan masyarakat, khususnya di negara-negara terbelakang. Akumulasi bakteri *Shigella* di host menyebabkan kondisi yang dikenal sebagai Shigellosis. Jika tidak diobati dengan benar maka infeksi dapat mematikan. *Shigella dysenteriae* ditemukan pertama kali pada tahun 1896 oleh ahli mikrobiologi Jepang yang bernama Kiyoshi Shiga (Hanif, 2010).

Spesies *Shigella* adalah penyebab utama disentri basiler, suatu penyakit yang ditandai dengan nyeri perut hebat, diare yang sering, dan sakit dengan volume tinja sedikit, disertai lendir dan darah. Kebanyakan penyakit ini terjadi pada anak-anak usia 1 – 10 tahun (Behman *et al.*, 2007).

Shigelosis, adalah penyakit infeksi yang disebabkan spesies bakteri *Shigella*. Shigelosis terdapat dimana – mana tapi yang terbanyak terdapat di negara dengan tingkat kesehatan perseorangan yang sangat buruk. Manusia sendiri merupakan sumber penularan dan hospes alami dari penyakit ini, yang cara penularannya secara *oro-faecal*. Spesies *Shigella* sebagai penyebab disentri basiler merupakan kuman yang unik diantara enteropatogen lainnya. Ambang infeksiya rendah yakni 10 – 100 kuman sudah cukup untuk

menularkan penyakit tersebut kepada orang lain. Dengan demikian dapatlah dimengerti mengapa epidemi penyakit ini bagi penduduk yang kesehatan perorangnya sangat buruk, sulit dicegah. Hal lain yang juga unik adalah sifat basil ini yang rapuh (*fragile*, cepat mati di luar tubuh hospes-nya), menyebabkan penyakit ini lebih banyak tertular dengan cara kontak langsung (*person to person*). Inilah sebabnya penyakit ini disebut *hand washing disease*. Kedua sifat yang kontradiktif yaitu ambang infeksi yang rendah dan sifat rapuh ini mewarnai epidemiologi penyakit ini yakni sulit dicegah di daerah yang kesehatan perorangnya rendah, sedang di daerah yang kesehatan perorangan cukup banyak penyakit ini akan lebih cepat menghilang. *Shigella spp* merupakan penyebab terbanyak dari diare invasif (disentri) dibandingkan dengan penyebab lainnya (Simanjutak dkk, 1991).

2.2.2 Klasifikasi *Shigella dysenteriae*

Kingdom	: Bacteria
Divisi	: Proteobacteria
Kelas	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Shigella</i>
Spesies	: <i>Shigella dysenteriae</i>

(Health Analysis, 2012)

Secara genetik, bakteri *Shigella* tidak dapat dibedakan dari *E.coli*. Kebanyakan ahli taksonomi meyakini bahwa kedua organisme ini merupakan

spesies yang sama. Namun, karena kebanyakan galur *Shigella* menyebabkan disentri basiler, sedangkan *E.coli* tidak, maka mayoritas ahli mikrobiologi klinik tetap menggunakan dua nama genus tersebut. *Shigella* dibagi menjadi empat serogrup, yaitu :

- Serogrup A : *Shigella dysenteriae*,
- Serogrup B : *Shigella flexneri*
- Serogrup C : *Shigella boydii*, dan
- Serogrup D : *Shigella sonnei*

(Behman *et al.*, 2007)

Serogrup A, B, dan C secara biokimia ada kemiripan , sementara serogrup D berbeda (Dzen *et al.*, 2010).

Semua *shigella* dapat menyebabkan disentri basiler, tetapi distribusi geografi dan kepekaan antimikrobanya bervariasi pada tiap spesies. *Shigella dysenteriae* serotipe 1 menyebabkan kejadian epidemic yang mematikan, *Shigella boydii* terbatas pada daerah Indian, sedangkan *Shigella flexneri* dan *Shigella sonnei* sering ditemukan di Negara berkembang (Sureshbabu, 2010).

2.2.3. Morfologi dan Identifikasi

Shigella adalah batang gram–negatif yang ramping; bentuk kokobasil ditemukan pada biakan muda. *Shigella* bersifat fakultatif anaerob tetapi tumbuh paling baik secara aerob. Koloni berbentuk konveks, bulat, transparan, dengan tepi yang utuh dan mencapai diameter sekitar 2 mm dalam 24 jam (Todar, 2008).

Semua *Shigella* memfermentasikan glukosa. Organisme ini membentuk asam dari glukosa tetapi jarang menghasilkan gas, kecuali *Shigella flexneri* serotipe 6. *Shigella* tidak memfermentasikan laktosa apabila ditumbuhkan pada

medium diferensial yang biasa digunakan untuk isolasi bakteri enterik, kecuali *Shigella sonnei* yang memfermentasikan laktosa secara lambat (18-24 jam) (Dzen *et al.*, 2010).

Semua spesies *Shigella* nonmotil dan tidak memproduksi H₂S (Kroser, 2008). Selain berdasarkan kemampuannya memfermentasikan laktosa pada medium diferensial, *Shigella* juga dapat dibagi menjadi organisme yang memfermentasikan manitol dan tidak memfermentasikan manitol (Tabel 2.1) (Annual Summary, 2004).

Tabel 2.1 *Shigella* yang patogen

Identifikasi saat ini	Grup dan Tipe	Manitol	Ornitin Dekarboksilase
<i>S. dysenteriae</i>	A	-	-
<i>S. flexneri</i>	B	+	-
<i>S. boydii</i>	C	+	-
<i>S. sonnei</i>	D	+	+

(Annual Summary, 2004)

Semua faktor ini membedakan genus *Shigella* dari *Salmonella*. Kebalikan dari *E. coli*, *Shigella* tidak memproduksi lisin dekarboksilase dan tidak menggunakan asetat sebagai sumber karbon (Dzen *et al.*, 2010).

2.2.4 Daya Tahan

Shigella kurang tahan terhadap agen fisis dan kimia dibandingkan bakteri lain, dan disinfektan pada umumnya dapat membunuh organisme pada

konsentrasi yang lazim digunakan. Konsentrasi asam tinggi akan mengganggu pertumbuhan bakteri ini, sehingga diperlukan media yang didapat dengan baik untuk transport bahan pemeriksaan dan untuk menumbuhkan mikroorganisme. *Shigella* dapat beradaptasi dengan suhu rendah jika kelembabannya cukup, dan dapat hidup lebih dari 6 bulan dalam air pada suhu kamar (Dzen *et al.*, 2010).

2.2.5 Struktur Antigen

Shigella memiliki struktur antigen yang kompleks. Terdapat banyak tumpang tindih pada sifat serologik berbagai spesies, dan sebagian besar organisme memiliki antigen O yang sama dengan basil enterik lain (Brooks *et al.*, 2004).

Antigen O somatik *Shigella* adalah lipopolisakarida. Spesifisitas serologiknya bergantung pada polisakarida. Ada lebih dari 40 serotipe. Klasifikasi *Shigella* didasarkan pada karakteristik biokimiawi dan antigennya. Spesies yang patogen diperlihatkan pada Tabel 2.1 (Brooks *et al.*, 2004). *Shigella* dibagi empat grup berdasarkan antigen O mayor yang diberi tanda A, B, C, dan D. Saat ini, ada 13 serotipe dari grup A, 6 serotipe dari grup B, 18 serotipe dari grup C, dan 1 serotipe dari grup D (Sureshbabu, 2010).

Beberapa galur memiliki antigen K, yang tidak penting untuk *serotyping*, tetapi dapat mengganggu reaksi serologis dari antigen O. Gangguan ini dapat dihilangkan dengan memanaskan suspensi bakteri sebelum dilakukan reaksi (Dzen *et al.*, 2010).

Fimbria terdapat pada serotipe 1 sampai 5 dari serogrup B tetapi tidak pada serotipe 6 atau *Shigella* yang lain. Semua antigen fimbrial secara

imunologis identik. Karena semua *Shigella* nonmotil, maka bakteri ini tidak memiliki antigen H (Dzen *et al.*, 2010).

2.2.6 Penentu Patogenitas

Virulensi pada spesies *Shigella* melibatkan gen pengkode kromosom dan gen pengkode plasmid. *Shigella* yang virulen memproduksi penyakit setelah menginvasi mukosa intestinal. Organisme ini jarang penetrasi ke bawah mukosa (Sureshbabu, 2010).

Karakteristik virulensi yang disandi dalam plasmid besar (220 kb) berperan dalam sintesis polipeptida yang menyebabkan sitotoksisitas. *Shigella* yang tidak memiliki plasmid virulen tersebut tidak patogenik. Sedangkan gen kromosom berperan menyandi enteroksin dan mengontrol antigen lipopolisakarida di dinding sel bakteri (Sureshbabu, 2010). Patogenitas *Shigella* ditentukan oleh berbagai faktor virulensi, termasuk antigen permukaan, faktor-faktor yang berperan pada invasi, dan toksin.

2.3 Tinjauan Tentang Antimikroba

Antimikroba adalah obat pembasmi mikroba, khususnya mikroba yang merugikan manusia. Obat yang digunakan untuk membunuh mikroba penyebab infeksi pada manusia, ditentukan toksisitas selektif harus memiliki sifat setinggi mungkin. Artinya obat tersebut harus bersifat sangat toksis untuk mikroba, tetapi relatif tidak toksis untuk hospes. Sifat toksisitas selektif yang absolut belum atau mungkin tidak akan diperoleh. Berdasarkan sifat toksisitas selektif, ada antimikroba yang bersifat menghambat pertumbuhan mikroba, dikenal sebagai aktivitas bakteriostatik; dan ada yang bersifat membunuh mikroba, dikenal

sebagai aktivitas bakterisid. Kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan mikroba atau membunuhnya, masing-masing dikenal sebagai Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM). Antimikroba tertentu aktivitasnya dapat meningkat dari bakteristatik menjadi bakterisid bila kadar antimikrobanya ditingkatkan melebihi KHM (Setyabudi, 2008).

2.3.1 Mekanisme Kerja Zat Antimikroba

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antimikroba dibagi dalam lima kelompok, yaitu : menghambat metabolisme sel mikroba, menghambat sintesa dinding sel mikroba, mengganggu keutuhan membran sel mikroba, menghambat sintesa protein sel mikroba, menghambat sintesa asam nukleat sel mikroba. (Setyabudi, 2008).

2.3.1.1 Menghambat metabolisme sel mikroba

Antimikroba yang termasuk dalam kelompok ini adalah Sulfonamid, Trimetoprim, Asam p-aminosalisilat (PAS) dan Sulfon. Mikroba membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya. Berbeda dengan mamalia yang mendapatkan asam folat dari luar, kuman patogen harus mensintesa sendiri asam folatnya dari Asam Amino Benzoat (PABA) untuk kebutuhan hidupnya. Apabila Sulfonamid atau Sulfon menang bersaing dengan PABA untuk diikutsertakan dalam pembentukan asam folat, maka terbentuk analog asam folat yang nonfungsional. Akibatnya, kehidupan mikroba akan terganggu. (Setyabudi, 2008).

2.3.1.2 Menghambat sintesa dinding sel mikroba

Antimikroba yang termasuk kelompok ini adalah Penisilin, Sefalosporin,

Basitrasin, Vankomisin dan Sikloserin. Dinding sel bakteri terdiri polipeptidoglikan, yaitu suatu kompleks polimer mukopeptida (glikopeptida). Sikloserin menghambat reaksi yang paling dini dalam proses sintesa dinding sel; diikuti berturut-turut oleh Basitrasin, Vankomisin, dan diakhiri oleh Penisilin dan Sefalosporin, yang menghambat reaksi terakhir (traspeptidasi) dalam rangkaian reaksi tersebut. Oleh karena tekanan osmotik dalam sel kuman lebih tinggi daripada di luar sel maka kerusakan dinding sel kuman akan menyebabkan terjadinya lisis, yang merupakan dasar efek bakterisidal pada kuman yang peka. (Setyabudi, 2008).

2.3.1.3 Mengganggu keutuhan membran sel mikroba

Antimikroba yang termasuk dalam kelompok ini adalah Polimiksin, golongan polien serta berbagai antimikroba kemoterapeutik, misalnya antiseptik *surface active agents*. Polimiksin sebagai senyawa ammonium-kuartener dapat merusak membran sel setelah bereaksi dengan fosfat pada fosfolipid membran sel mikroba. Polmiksin tidak efektif terhadap kuman Gram-positif karena jumlah fosfor bakteri ini rendah. Kuman Gram-negatif yang menjadi resisten terhadap Polimiksin, ternyata jumlah fosfornya menurun. Antibiotik polien bereaksi dengan struktur sterol yang terdapat pada membran sel fungus sehingga mempengaruhi permeabilitas selektif membran sel tersebut. Bakteri tidak sensitif terhadap antibiotik polien, karena tidak memiliki struktur sterol pada membran selnya. Antiseptik yang mengubah tegangan permukaan (*surface-active agents*), dapat merusakan permeabilitas selektif dari membran sel mikroba. Kerusakan membran sel menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel mikroba, yaitu protein, asam nukleat, nukleotida dan lain-lain. (Setyabudi, 2008).

2.3.1.4 Menghambat sintesa protein sel mikroba

Antimikroba yang termasuk dalam kelompok ini adalah golongan Aminoglikosi, Makrolid, Linkomisin, Tetrasiklin dan Kloramfenikol. Untuk kehidupannya, sel mikroba perlu mensintesis berbagai protein. Sintesa protein berlangsung di ribosom dengan bantuan mRNA dan tRNA. Pada bakteri, ribosom terdiri atas dua sub unit, yang berdasarkan konstanta sedimentasi dinyatakan sebagai ribosom 30S dan 50S. Untuk berfungsi pada sintesa protein, kedua komponen ini akan bersatu pada pangkal rantai mRNA menjadi ribosom 70S. (Setyabudi, 2008).

2.3.1.5 Menghambat sintesa asam nukleat sel mikroba

Antimikroba yang termasuk dalam kelompok ini adalah Rifampisin dan golongan Kuinolon. Rifampisin salah satu derivat Rifampisin berikatan dengan enzim polimerase-RNA (pada sub unit) sehingga menghambat sintesa RNA dan DNA oleh enzim tersebut. Golongan kuinolon menghambat enzim DNA girase pada kuman yang fungsinya menata kromosom yang sangat panjang menjadi bentuk spiral hingga bisa muat dalam sel yang kecil. (Setyabudi, 2008).

2.3.2 Penentuan aktivitas antimikroba

Uji kepekaan kuman terhadap antimikroba secara *in-vitro* diperlukan untuk membantu para klinisi untuk memberikan pengobatan yang sesuai. Pada dasarnya uji kepekaan antimikroba dapat dilakukan melalui dua cara yaitu metode difusi dan metode dilusi.

2.3.2.1 Metode Difusi Cakram (*disk diffusion test*)

Pada uji *in-vitro* ini digunakan cakram kertas yang mengandung antimikroba tertentu dengan konsentrasi tertentu pula. Prinsip dari metode ini yaitu antimikroba dijenuhkan ke dalam cakram kertas kemudian cakram kertas tersebut diletakkan pada medium perbenihan agar padat yang telah ditanami mikroba yang akan diuji. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam kemudian diamati zona jernih sekitar cakram kertas yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan mikroba (Dzen *et al*, 2010). Untuk mengevaluasi hasil uji kepekaan tersebut, dapat dilakukan melalui dua cara yaitu :

a. Cara Kirby Bauer

Prinsip dari cara *Kirby Bauer* ini adalah dengan membandingkan diameter dari area jernih (zona hambatan) di sekitar cakram dengan menggunakan tabel standar yang dibuat oleh NCCLS (*National Committee Centre of Laboratory Standard*). Dengan tabel NCCLS ini dapat diketahui apakah bakteri uji tersebut masuk dalam kriteria sensitif, sensitif sedang atau resisten (Dzen *et al.*, 2010).

b. Cara Joan-Stokes

Prinsip dari cara *Joan-Stokes* ini adalah dengan membandingkan radius zona hambatan yang terjadi antara bakteri kontrol yang sudah diketahui kepekaannya terhadap antimikroba tersebut dengan bakteri yang akan diuji. Pada cara ini, prosedur uji kepekaan untuk bakteri kontrol dan bakteri uji dilakukan bersama – sama dalam satu cawan petri (Dzen *et al.*, 2010).

Untuk interpretasi hasil, Kadar Hambat Minimum (KHM) dihubungkan dengan konsentrasi antimikroba yang diberikan dengan level dosis standar. Kalkulasi ini didasarkan pada rata-rata parameter farmakokinetik dan farmakodinamik yang

telah diketahui. Interpretasi hasil juga dipengaruhi oleh pengalaman klinis yang telah dilakukan. Beberapa data klinis sangat berguna untuk membatasi antara bakteri yang rentan dan yang resisten. Sedangkan Kadar Bunuh Minimum (KBM) merupakan konsentrasi paling kecil dari antimikroba yang dapat membunuh 99,9% sel pada inoculum (Kayser *et al.*, 2005).

2.3.2.2 Metode Dilusi

2.3.2.2.1 Dilusi Tabung

Cara ini digunakan untuk menentukan KHM (Kadar Hambat Minimal) dan KBM (Kadar Bunuh Minimal) dari obat antibakteri (Dzen *et al.*, 2010). Prinsip dari metode dilusi adalah sebagai berikut : Menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi media cair dan sejumlah tertentu sel bakteri yang diuji. Kemudian masing-masing tabung diisi dengan obat yang telah diencerkan secara serial. Selanjutnya, seri tabung diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan diamati terjadinya kekeruhan pada tabung. Konsentrasi terendah obat pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan mikroba) adalah KHM dari obat. Selanjutnya biakan dari semua tabung yang jernih diinokulasikan pada media agar padat, diinkubasikan dan keesokan harinya diamati ada tidaknya koloni bakteri yang tumbuh. Konsentrasi terendah obat pada biakan padat yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan bakteri adalah KBM dari obat terhadap bakteri uji (Dzen *et al.*, 2010).

2.3.2.2.2 Dilusi Agar

Untuk menentukan KHM obat, dapat juga dengan menggunakan medium agar padat yang disebut dengan metode *E test*. *E test* adalah metode dilusi agar yang dapat menentukan KHM tanpa dipengaruhi warna atau kekeruhan larutan. Pada metode tersebut agen antimikroba dicampurkan ke agar kemudian ditambah dengan bakteri *Steers-Foltz replicator* sehingga jumlah bakteri yang digunakan adalah sekitar 0,001 ml. Nilai KHM adalah konsentrasi terendah yang ditumbuhi oleh ≤ 2 CFU. (Baron *et al.*, 2004).

2.4 Metode Isolasi Senyawa Aktif dari Bahan Alam

Isolasi adalah proses pemisahan komponen kimia yang terdapat dalam suatu ekstrak yang didasarkan atas sifat adsorpsi dan partisi dari setiap senyawa yang dipisahkan terhadap adsorben dan cairan penyari yang digunakan. Atau proses pengambilan suatu komponen tertentu dalam keadaan murni dari suatu ekstrak. Terdapat beberapa macam metode isolasi, antara lain maserasi, perkolasi, refluks, sokhlet, dan metode infus. (Desvianto, 2013).

2.4.1 Maserasi

Metode maserasi merupakan cara penyairan yang sederhana, yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari selama beberapa hari pada temperatur kamar terlindung dari cahaya. Metode maserasi digunakan untuk menyari simplisia yang mengandung komponen kimia yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengandung benzoin, tiraks, dan lilin. (Desvianto, 2013).

2.4.2 Perkolasi

Perkolasi adalah cara penyarian yang dilakukan dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Kekuatan yang berperan dalam perkolasi antara lain : gaya berat, kekentalan, daya larut, tegangan permukaan, difusi, osmosa, adesi, daya kapiler, dan gaya gesekan (friksi). (Desvianto, 2013).

2.4.3 Reflux

Metode reflux merupakan metode berkesinambungan dimana cairan penyari secara kontinu akan menyari zat aktif di dalam simplisia. Cairan penyari dipanaskan sehingga menguap dan uap tersebut akan dikondensasikan oleh pendingin balik, sehingga mengalami kondensasi menjadi molekul-molekul cairan dan jatuh ke dalam labu alas bulat sambil menyari simplisia, proses ini berlangsung secara berkesinambungan dan dilakukan 3 kali dalam waktu 4 jam. (Desvianto, 2013).

2.4.4 Sokhlet

Merupakan penyarian simplisia secara berkesinambungan, cairan penyari dipanaskan hingga menguap, uap cairan penyari terkondensasi menjadi molekul cairan oleh pendingin balik dan turun menyari simplisia di dalam klonsong dan selanjutnya masuk kembali ke dalam labu alas bulat setelah melewati pipa siphon, proses ini berlangsung hingga proses penyarian zat aktif sempurna yang ditandai dengan beningnya cairan penyari yang melalui pipa siphon tersebut atau jika diidentifikasi dengan KLT tidak memberikan noda lagi. (Desvianto, 2013).

2.4.5 Metode Infus

Merupakan metode ekstraksi panas yang dilakukan dengan merendam sampel tanaman dalam pelarut dengan suhu 90 °C selama 15 menit. Hal ini sesuai dengan teori bahwa peningkatan suhu berlangsung paling sedikit 15 menit hingga 30 menit. Jika dilakukan selama 30 menit maka metode ekstraksinya disebut dekok. Biasanya alat yang digunakan disebut panci infus. Jika tidak dinyatakan lain prosedur kerja infus dengan merendam sampel darah pelarut yang bersuhu 90 °C selama 15 menit setelah itu didinginkan dan disaring. (Desvianto, 2013).

