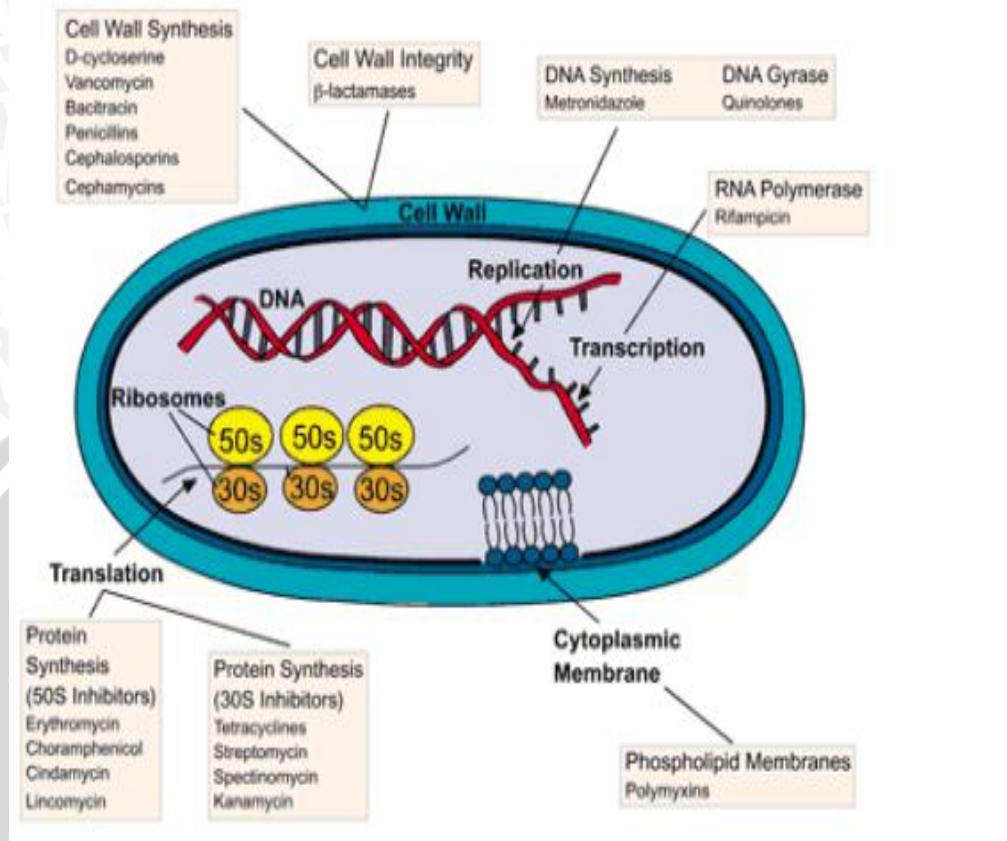


**BAB 2****TINJAUAN PUSTAKA****2.1 Tinjauan Tentang Siprofloksasin****2.1.1 Definisi Antimikroba**

Antimikroba adalah senyawa yang dapat membunuh atau menghambat aktivitas mikroorganisme dengan berbagai macam cara. Senyawa antimikroba terdiri atas beberapa kelompok berdasarkan mekanisme daya kerjanya atau tujuan penggunaannya, yaitu antimikroba yang menghambat pertumbuhan dinding sel, antimikroba yang mengakibatkan perubahan permeabilitas membran sel atau menghambat pengangkutan aktif melalui membran sel, antimikroba yang menghambat sintesis protein, dan antimikroba yang menghambat sintesis asam nukleat sel. Aktivitas antimikroba dibagi menjadi 2 macam, yaitu aktivitas bakterostatik (hanya menghambat pertumbuhan tetapi tidak membunuh patogen) dan aktivitas bakterisidal (dapat membunuh patogen) (Finkel *and* Cubeddu, 2009).



**Gambar 2.1 Mekanisme Kerja Antimikroba (Finkel and Cubeddu, 2009)**

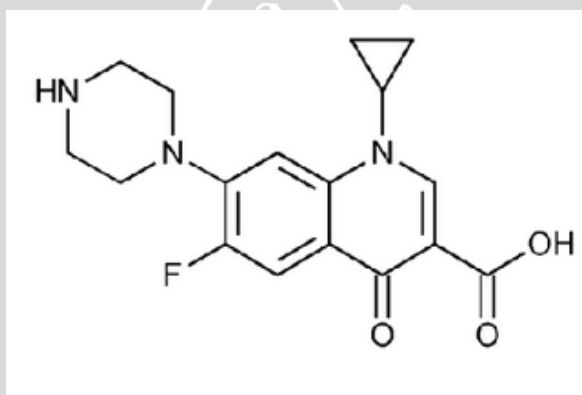
### 2.1.2 Siprofloksasin

Pada tahun 1962 ditemukan antimikroba golongan kuinolon yang pertama, yaitu asam nalidiksat. Asam nalidiksat pertama kali ditemukan oleh George Lesher beserta rekannya dan sejak saat itu asam nalidiksat telah menjadi antimikroba untuk pengobatan infeksi saluran kemih pada manusia. Saat ini asam nalidiksat banyak digunakan sebagai prekursor untuk mensintesis derivat kuinolon lain yang lebih poten (Braunius, 1987).

Derivat kuinolon yang paling banyak digunakan secara klinis adalah fluorokuinolon yang memiliki atom fluor pada sistem cincin pusat, biasanya pada posisi C-6 atau C-7. Norfloksasin adalah antimikroba

kuinolon pertama dengan substitusi atom fluor pada posisi C-6 dan piperazine di posisi C-7. Substitusi ini berguna untuk meningkatkan aktivitas antimikroba norfloksasin dibandingkan dengan kuinolon sebelumnya yaitu asam nalidiksat (Braunius, 1987).

Siprofloksasin merupakan antimikroba golongan fluorokuinolon generasi kedua. Siprofloksasin memiliki nama kimia 1-siklopropil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-okso-7-(1-piperazinyl)-3 kuinolin asam karboksilat dan memiliki rumus empiris  $C_{17}H_{18}FN_3O_3$  merupakan serbuk kristal berwarna kekuningan (Pharmacopeia USP, 2007).



**Gambar 2.2 Struktur Kimia Siprofloksasin (Pharmacopeia USP, 2007)**

Pada Gambar 2.1, sebuah atom nitrogen pada posisi 1 pada struktur cincin aromatik bisiklik dan kelompok asam karboksilat pada posisi 3 penting untuk aktivitas antimikroba dan atom fluor pada posisi 6 berfungsi untuk meningkatkan efektivitas dan aktivitas antimikroba terhadap bakteri Gram negatif dan positif. Gugus alkil pada posisi 1 (R1) membantu dalam aktivitas antimikroba. Optimasi substitusi alkil pada kelompok struktur kuinolon yaitu etil dalam kelompok norfloksasin dan *cyclopropyl* pada siprofloksasin telah meningkatkan aktivitas antimikroba

dalam hal sensitivitas dan konsentrasi hambatan minimum terhadap bakteri (Braunius, 1987).

Siprofloksasin memiliki aktivitas bakterisidal dan termasuk antimikroba spektrum luas. Siprofloksasin bekerja dengan menghambat DNA-girase pada organisme yang sensitif, menghambat relaksasi superkoloid DNA, dan memicu kerusakan untai ganda DNA bakteri sehingga sintesis DNA pada bakteri dapat dicegah. Siprofloksasin dapat digunakan untuk mengobati infeksi saluran kemih, infeksi saluran cerna, infeksi kulit dan jaringan lunak, serta infeksi tulang dan sendi yang disebabkan oleh bakteri patogen (Lacy *et al.*, 2009).

Siprofloksasin mempunyai kelarutan 36 mg/mL dalam air pada suhu 25°C dan dapat larut sebanyak 0,25 g dalam 10 ml asam klorida 0,1 N. Zat ini tidak stabil terhadap udara, cahaya, dan pemanasan sehingga harus disimpan pada wadah kedap dan tahan cahaya pada suhu 25°C dengan toleransi penyimpangan antara 15°C sampai 30°C. Siprofloksasin dalam sediaan tablet disimpan pada wadah yang tertutup baik (Pharmacopeia USP, 2007).

Interpretasi standar untuk diameter zona hambat siprofloksasin sebesar 5 µg berdasarkan *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI) adalah sensitif  $\geq 21$  mm, sensitif sedang 16-20 mm, dan resisten  $\leq 15$  mm (CLSI, 2011).

## 2.2 Generik Berlogo dan Generik Merek Dagang

Berdasarkan Permenkes No. 068/MenKes/Per/I/2010, obat generik berlogo adalah obat dengan nama resmi yang ditetapkan dalam

Farmakope Indonesia untuk zat berkhasiat yang dikandungnya, sedangkan obat generik merek dagang adalah obat generik dengan nama dagang yang menggunakan nama milik produsen obat yang bersangkutan (Depkes RI, 2010).

## 2.3 *Salmonella* Typhi

### 2.3.1 Klasifikasi *Salmonella* Typhi

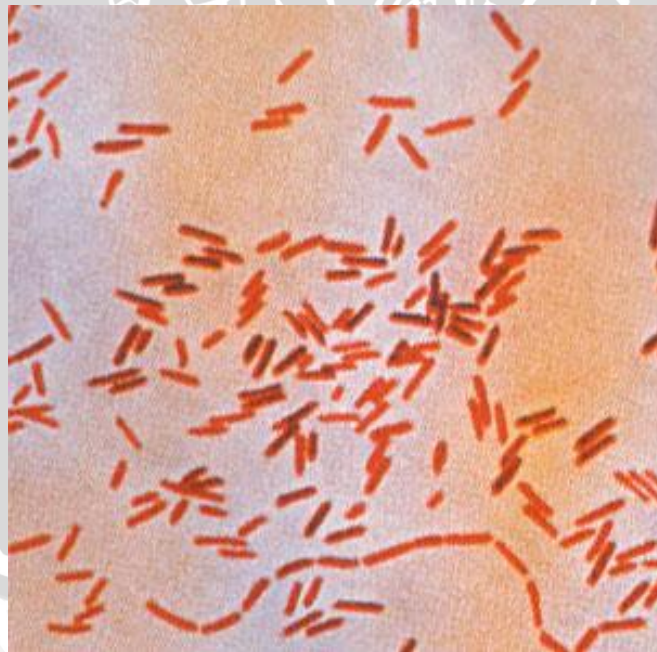
Kingdom	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Class	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Salmonella</i>
Spesies	: <i>Salmonella</i> Typhi

(Todar, 2012)

### 2.3.2 Morfologi dan Perbenihan *Salmonella* Typhi

*Salmonella* Typhi merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang pendek dengan ukuran 0,5-0,8  $\mu\text{m}$  x 1-3,5  $\mu\text{m}$ . *Salmonella* Typhi bergerak dengan flagel yang mudah tumbuh pada perbenihan biasa dan tumbuh baik pada perbenihan yang mengandung empedu. Tumbuh pada suasana aerob dan fakultatif anaerob pada kisaran suhu antara 5°C-47°C dengan suhu optimum untuk pertumbuhan 35°C-37,5°C dan pH pertumbuhan 6-8. *Salmonella* Typhi memproduksi asam dari fermentasi glukosa sehingga dapat dibedakan dari *Salmonella* yang lain

yang memproduksi gas dan asam. Dinding sel terdiri dari peptidoglikan dan membran luar. Sebagian besar bersifat patogen pada binatang dan merupakan sumber infeksi bagi manusia. Pada manusia bakteri ini menimbulkan penyakit *typhus abdominalis* dengan masa inkubasi antara 7–14 hari. Bakteri ini dapat mati pada suhu 56°C, tumbuh subur pada medium yang mengandung garam empedu, dan dalam air biasa bakteri ini dapat bertahan hidup selama kurang lebih 4 minggu. *Bismuth Sulfite Agar* (BSA) merupakan media selektif yang digunakan untuk mengisolasi bakteri *Salmonella Typhi* dari feses. BSA menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif, namun tidak menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif. Pada BSA, *Salmonella Typhi* teridentifikasi membentuk *black jet colony* (Todar, 2012).



Gambar 2.3 *Salmonella Typhi*

### 2.3.3 Identifikasi *Salmonella Typhi*

Pada pewarnaan Gram, *Salmonella Typhi* berbentuk batang dan tercat merah yang menunjukkan bahwa *Salmonella Typhi* merupakan bakteri Gram negatif. Pada *Mac Conkey Agar*, *Salmonella Typhi* teridentifikasi berbentuk koloni dengan permukaan datar dan halus, tepi tidak rata, tidak berbau, dan mediumnya berwarna pucat. Sedangkan pada agar *Wilson Blair*, koloni *Salmonella Typhi* berwarna hitam mengkilat akibat pembentukan H<sub>2</sub>S (Dzen dkk., 2003).

## 2.4 *Staphylococcus aureus*

### 2.4.1 Klasifikasi *Staphylococcus aureus*

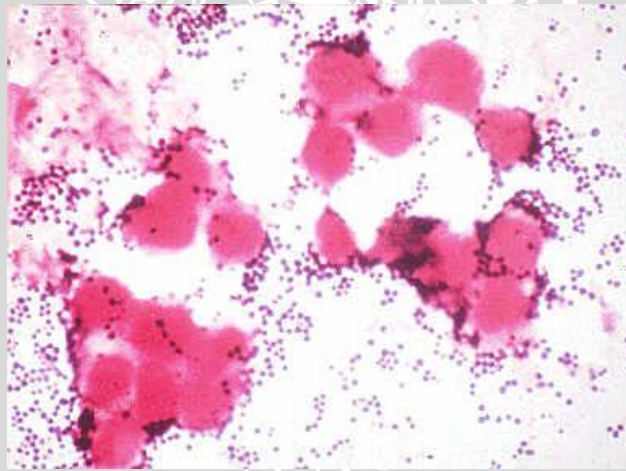
Kingdom	: Eubacteria
Filum	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Famili	: Staphylococcaceae
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Spesies	: <i>Stapylococcus aureus</i>

(Modrick, 2011)

### 2.4.2 Gambaran Umum *Stapylococcus aureus*

*Stapylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif, tidak berspora dan tidak bergerak, bersifat aerob atau anaerob fakultatif, serta tahan hidup dalam lingkungan yang mengandung garam dengan konsentrasi tinggi, misalnya NaCl 10%. *Staphylococcus aureus* berbentuk

bulat dan memiliki diameter 0,7-1,2  $\mu\text{m}$ . Dinding sel bakteri *Staphylococcus aureus* mengandung polimer-polimer yang berikatan silang yang disebut peptidoglikan. Bakteri ini pertama kali diamati dan dibiakkan oleh Pasteur dan Koch, kemudian diteliti secara lebih terinci oleh Ogston dan Rosenbach pada era tahun 1880-an. Nama genus *Staphylococcus* diberikan oleh Ogston karena bakteri ini pada pengamatan mikroskopis berbentuk seperti setangkai buah anggur yang bergerombol, sedangkan nama spesies *aureus* diberikan oleh Rosenbach karena pada biakan murni, koloni bakteri ini terlihat berwarna kuning-keemasan (David dan Rubinstein, 2003).



**Gambar 2.4 *Staphylococcus aureus***

#### **2.4.3 Morfologi dan Sifat Pewarnaan *Staphylococcus aureus***

*Staphylococcus aureus* berbentuk bulat atau kokus dengan diameter 0,4-1,2  $\mu\text{m}$  (rata-rata 0,8  $\mu\text{m}$ ). Hasil pewarnaan yang berasal dari perbenihan padat akan memperlihatkan susunan bakteri yang bergerombol seperti buah anggur, sedangkan yang berasal dari



perbenihan cair bisa terlihat bentukan kuman yang lepas sendiri-sendiri, berpasangan, atau rantai pendek yang pada umumnya terdiri lebih dari empat sel (Dzen dkk., 2003).

#### 2.4.4 Perbenihan *Stapylococcus aureus*

Untuk membiakkan *Stapylococcus aureus* diperlukan suhu optimal antara 28°C-38°C atau sekitar 35°C. Apabila bakteri tersebut diisolasi dari seorang pasien, suhu optimal yang diperlukan adalah 37°C. pH optimal untuk pertumbuhan *Stapylococcus aureus* adalah 7,4. Pada umumnya *Stapylococcus aureus* dapat tumbuh pada medium-medium yang biasa dipakai di laboratorium bakteriologi, misalnya sebagai berikut (Dzen dkk., 2003):

1. *Nutrient Agar Plate* (NAP)

Medium tersebut penting untuk mengetahui adanya pembentukan pigmen dan *Stapylococcus aureus* akan membentuk pigmen warna kuning emas. Koloni yang tumbuh berbentuk bulat, berdiameter 1-2 mm dengan tepi rata, permukaan mengkilat dan konsistensinya lunak.

2. *Blood Agar Plate* (BAP)

Medium tersebut dipakai secara rutin. Koloninya akan tampak lebih besar, dan pada galur yang ganas biasanya memberikan zona hemolisa yang jernih, mirip dengan koloni *Streptococcus β-hemolyticus*.

Pada umumnya, untuk membiakkan *Stapylococcus aureus* perlu medium yang mengandung asam amino, vitamin-vitamin, misalnya asam nikotinat, threonine, dan biotin (Dzen dkk., 2003).

Untuk isolasi primer dari infeksi campuran, terutama yang berasal dari tinja atau luka-luka, maka perlu medium yang mengandung garam NaCl dengan konsentrasi 7,5% atau medium yang mengandung polimiksin (Dzen *dkk.*, 2003).

Pembentukan pigmen paling baik apabila ditanam pada medium NAP pada suhu kamar (20°C). Pigmen ini mempunyai sifat-sifat seperti mudah larut dalam alkohol, eter, dan benzene (Dzen *dkk.*, 2003).

Hubungan antara warna pigmen dengan patogenesis tidak selalu tetap. Sebagai contoh, *staphylococcus* yang menghasilkan pigmen warna kuning emas (*aureus*) tidak selalu menghasilkan tes koagulase yang positif, tetapi terkadang menghasilkan tes koagulase yang negatif. Pada umumnya bakteri yang menghasilkan warna kuning emas (*aureus*) adalah patogen. Pigmen ini tidak terbentuk pada keadaan anaerob dan juga tidak terbentuk pada perbenihan jernih (Dzen *dkk.*, 2003).

#### 2.4.5 Identifikasi *Stapylococcus aureus*

*Stapylococcus aureus* secara mikroskopis morfologinya tidak dapat dibedakan dengan *Stapylococcus epidermidis*. Koloninya bulat, halus, dan pada umumnya tidak menghasilkan pigmen. Perbedaannya adalah *Stapylococcus epidermidis* memberikan hasil negatif pada tes koagulase, tes DNase, dan fermentasi manitol. Cara membedakan antara *Stapylococcus aureus* dengan *Stapylococcus saprophyticus* adalah dengan menggunakan tes novobiosin. Pada tes novobiosin *Stapylococcus saprophyticus* menunjukkan hasil resistensi sedang dan sensitif untuk *Stapylococcus aureus* (Dzen *dkk.*, 2003).

## 2.5 Uji Aktivitas Antimikroba

Uji aktivitas antimikroba secara *in vitro* dapat dilakukan dengan 2 metode, yaitu metode difusi cakram dan metode dilusi atau metode pengenceran. Metode difusi dilakukan dengan mengukur diameter zona bening (*clear zone*) yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antimikroba (Dzen *dkk.*, 2003).

### 2.5.1 Metode Difusi Cakram

Metode difusi cakram kertas yaitu antimikroba dituangkan ke dalam cakram kertas kemudian cakram kertas diletakkan pada media perbenihan agar padat yang telah ditanami mikroba yang akan diuji. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Lalu diamati zona jernih sekitar cakram kertas yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan mikroba (Dzen *dkk.*, 2003).

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 CLSI (*Clinical Laboratory Standart Institute*). Melalui tabel CLSI ini dapat diketahui apakah bakteri uji tersebut masuk dalam kriteria sensitif, sensitif sedang, atau resisten (Dzen *dkk.*, 2003).

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 *dkk.*, 2003).

Faktor-faktor yang mempengaruhi metode difusi agar antara lain (British Pharmacopeia Commission, 1993):

- a) Pradifusi, perbedaan waktu pradifusi mempengaruhi jarak difusi dari zat uji.
- b) Ketebalan medium agar penting untuk memperoleh sensitivitas yang optimal. Perbedaan ketebalan media agar mempengaruhi difusi dari zat uji ke dalam agar sehingga akan mempengaruhi diameter hambat. Makin tebal media yang digunakan akan makin kecil diameter hambat yang terjadi.
- c) Kerapatan inokulum, ukuran inokulum merupakan faktor terpenting yang mempengaruhi lebar daerah hambat, jumlah inokulum yang lebih sedikit menyebabkan obat dapat berdifusi lebih jauh, sehingga daerah yang dihasilkan lebih besar, sedangkan jika jumlah inokulum lebih besar maka akan dihasilkan daerah hambat yang kecil.
- d) Komposisi media agar, perubahan komposisi media dapat merubah sifat media sehingga jarak difusi berubah. Media agar berpengaruh terhadap ukuran daerah hambat dalam hal

mempengaruhi aktivitas beberapa bakteri, mempengaruhi kecepatan difusi antimikroba dan mempengaruhi kecepatan pertumbuhan antimikroba.

- e) Suhu inkubasi, sebagian besar bakteri tumbuh baik pada suhu 37°C.
- f) Waktu inkubasi disesuaikan dengan pertumbuhan bakteri, karena luas daerah hambat ditentukan beberapa jam pertama, setelah diinokulasikan pada media agar, maka daerah hambat dapat diamati segera setelah adanya pertumbuhan bakteri.
- g) Pengaruh pH, adanya perbedaan pH media yang digunakan dapat menyebabkan perbedaan jumlah zat uji yang berdifusi, pH juga menentukan jumlah molekul zat uji yang terion. Selain itu, pH berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri.

### 2.5.2 Metode Dilusi

Prinsip metode dilusi atau metode pengenceran adalah senyawa antimikroba diencerkan hingga diperoleh beberapa macam konsentrasi, kemudian masing-masing konsentrasi ditambahkan suspensi bakteri uji dalam media cair. Perlakuan tersebut akan diinkubasi pada 37°C selama 18-24 jam dan diamati ada atau tidak adanya pertumbuhan bakteri yang ditandai dengan terjadinya kekeruhan. Larutan uji senyawa antimikroba pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan bakteri uji, ditetapkan sebagai Kadar Hambat Minimal (KHM). Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya diinokulasi pada media agar padat tanpa penambahan bakteri uji ataupun senyawa antimikroba, dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media agar padat yang tetap terlihat

jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai Kadar Bunuh Minimal (KBM)  
(Dzen *dkk.*, 2003).

