

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Serai (*Cymbopogon Citratus*)

##### 2.1.1 Klasifikasi Ilmiah Tanaman

Kingdom	: <i>Plantae</i> (Tumbuhan)
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i> (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: <i>Spermatophyta</i> (Tumbuhan menghasilkan biji)
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i> (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: <i>Liliopsida</i> (Berkeping satu/monokotil)
Sub Kelas	: <i>Commelinidae</i>
Ordo	: <i>Poales</i>
Famili	: <i>Poaceae</i> (Suku rumput-rumputan)
Genus	: <i>Cymbopogon</i>
Spesies	: <i>Cymbopogon citratus</i> (Muslihah, 1999).

##### 2.1.2 Definisi dan Morfologi Tanaman

Serai dikenal dengan banyak nama di tiap daerah seperti *sereh* atau *sere* (Jawa), *sarai*, *sorai* atau *sange-sange* (Sumatra), *belangkak*, *senggalau*, atau *salai* (Kalimantan), *see*, *nau sina*, atau *bu muke* (Nusa Tenggara), *tonti* atau *sare* (Sulawesi), *hisa* atau *isa* (Maluku) (Kurniawati, 2010).

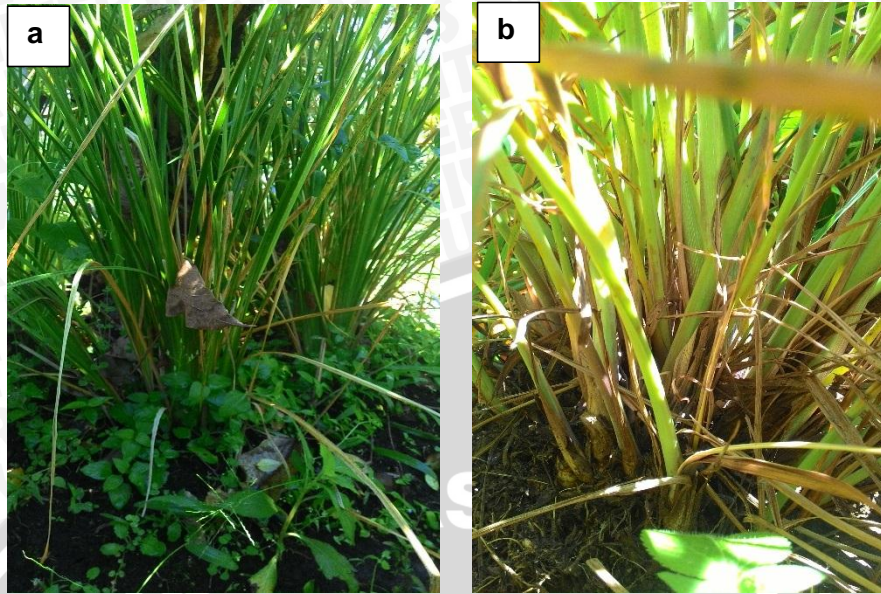
Secara umum serai dibagi menjadi 2 jenis, yaitu serai dapur (*Cymbopogon citratus*) dan serai wangi (*Cymbopogon nardus*), perbedaan keduanya terletak pada aromanya. Minyak serai yang dikenal di Indonesia adalah minyak serai wangi biasanya terdapat dalam minyak tawon dan gandapura, sedangkan minyak serai dapur belum diusahakan secara komersial. Perbedaan aroma tersebut disebabkan

adanya perbedaan komponen utama komposisi kimianya. Serai wangi memiliki kandungan utama citronella sedangkan serai dapur memiliki kandungan utama sitral (Ambarwati, 2011).

Minyak atsiri atau disebut juga *volatil oil* atau *essential oil* adalah istilah yang digunakan untuk minyak mudah menguap dan diperoleh dalam tanaman (daun, bunga, buah, kulit batang dan akar) dengan cara destilasi. Minyak atsiri bukanlah senyawa murni, akan tetapi merupakan campuran senyawa organik yang seringkali tersusun lebih dari 25 senyawa atau komponen yang berlainan. Sebagian komponen minyak atsiri adalah senyawa yang mengandung karbon dan hidrogen, atau karbon, hidrogen, dan oksigen yang tidak bersifat aromatik. Senyawa-senyawa ini secara umum disebut terpenoid (Guenther, 2006).

Minyak atsiri serai wangi (*Cymbopogon nardus*) mempunyai komponen penyusun utama yaitu sitronellal dengan puncak area sebesar 30,58 %, geraniol sebesar 25,45 % dan sitronellol sebesar 13,19%. Minyak atsiri serai dapur (*Cymbopogon citratus*) mempunyai komponen penyusun utama yaitu geraniol dengan puncak area sebesar 42,11 %, nerol sebesar 34,78 % dan mirsen sebesar 13,71% (Arswendiyuma, 2011). Serai (*Cymbopogon citratus*) merupakan tanaman tahunan (*perennial*) yang hidup secara liar dan *stolonifera* (berbatang semu) yang membentuk rumpun tebal dengan tinggi mencapai 1–1,5 meter, mempunyai aroma yang kuat dan wangi. Tanaman serai memiliki akar yang besar. Morfologi akarnya merupakan jenis akar serabut yang berimpang pendek dan akarnya berwarna coklat muda (Sastrapradja, 1978; Kardinan, 2005; Armando, 2009).

Serai mempunyai batang yang bergerombol dan berumbi, lunak dan berongga. Batang tanaman serai berwarna putih, namun ada juga yang berwarna putih keunguan atau kemerahan. Batang tanaman serai bersifat kaku dan mudah patah. Batang ini tumbuh tegak lurus di atas tanah atau condong, membentuk rumpun, pendek, dan bulat (silindris) (Wardani, 2009; Purwanti, 2010).



Gambar 2.1 : a. Serai Wangi , b. Serai Dapur (Dokumen Pribadi, UPT Materia Medica Batu)



Gambar 2.2 Serai (*Cymbopogon citratus*) (Koensoermadiyah, 2010)

Keterangan:

1. Batang tanaman serai dapur berwarna putih
2. Daun tanaman serai dapur berwarna hijau

Tanaman serai jarang sekali memiliki bunga. Bila ada, umumnya bunganya tidak memiliki mahkota dan mengandung bulir. Karena sangat jarang berbunga, tanaman ini juga jarang menghasilkan buah, bahkan biji. Struktur anatomi dari

bunga, buah, dan bijinya tidak diketahui. Karena sangat jarang berbunga dan menghasilkan biji, tanaman ini pada umumnya direproduksi dengan akar/anakan rumpun (Kardinan, 2005).

Serai (*Cymbopogon citratus*) tumbuh pada ketinggian 50–2700 mdpl. Dapat ditanam pada berbagai kondisi tanah di daerah tropis yang lembab, cukup sinar matahari dan dengan curah hujan yang relatif tinggi. Wilayah Indonesia banyak terdapat di Jawa, ditepi jalan atau di persawahan. Serai memerlukan iklim yang panas dengan cahaya matahari yang banyak dan curah hujan yang cukup serta tidak memerlukan tanah yang subur (Dalimartha, 1999).

### 2.1.3 Kandungan Serai (*Cymbopogon citratus*)

Serai mengandung *Tannins*, *flavonoid*, *phlobotannins*, *cardiac glycoside*, (Joshua *et al*, 2012). Serai mengandung minyak atsiri dengan kandungan *citral* ( $\alpha$ -*citral* dan  $\beta$ -*citral*) 68,81%, *myrcene* 10,5%, *geraniol* 3,37%, *methylheptenone* 0,97%, dan *limonene*, *linalool*, *citronellal*, (Soares *et al*, 2013). *Cymbopogon citratus* merupakan satu-satunya jenis *Cymbopogon* yang paling sering dimanfaatkan komponen *tannin*-nya (avoseh *et al*, 2015).

### 2.1.4 Faktor Antibakteri dalam Serai

#### 2.1.4.1 Komponen Minyak Atsiri (*Citral* ( $\alpha$ -*citral* dan $\beta$ -*citral*), dan *Myrcene*, *Geraniol*)

*Citral* merupakan salah satu senyawa minyak atsiri yang telah terbukti sebagai antibakteri terhadap beberapa mikroorganisme patogen. *Citral* adalah aksilik jenuh monoterpen aldehyd yang ditemukan secara alami dalam daun dan buah-buahan dari beberapa spesies tanaman termasuk pohon murad, kemangi Afrika, lemon, limau, serai, jeruk dan bergamots. *Citral* terdiri dari dua isomer yaitu geraniol( $\alpha$ -*citral*) dan neral ( $\beta$ -*citral*). (Somolinos, 2009). Mekanisme antimikroba

*Citral* dan terpena lainnya telah diamati dengan cara merusak dan mengganggu membran sel (Park *et al.* 2009).

*Myrcene* juga merupakan golongan monoterpena yang telah diteliti dan diketahui memiliki aktivitas antibakteri. Aktivitas antibakteri *Myrcene* bekerja pada membran sel dan fungsinya, hal ini disebabkan karena sifatnya yang larut lemak. Interaksi monoterpena pada membran sel menyebabkan ekspansi membran, meningkatkan permeabilitas dan fluiditas membran, mengganggu protein yang tertanam pada membran dan menghambat respirasi dan perubahan pada ion (Rasoul, 2012).

*Geraniol* juga merupakan golongan monoterpena dengan mekanisme antibakteri sama dengan golongan terpen lainnya yang mengganggu membran sel karena sifatnya yang larut lemak (Viljoen *and* Chen, 2010).

#### 2.1.4.2 Komponen Tannin dan Flavonoid

Tannin merupakan salah satu senyawa kimia yang termasuk dalam golongan polifenol yang diduga dapat mengikat salah satu protein yang dimiliki oleh bakteri yaitu adhesin dan apabila hal ini terjadi maka dapat merusak ketersediaan *reseptor* pada permukaan sel bakteri. Tannin telah dibuktikan dapat membentuk kompleks senyawa yang *irreversibel* dengan prolin, suatu protein lengkap, yang mana ikatan ini mempunyai efek penghambatan sintesis protein untuk membentuk dinding sel (Agnol *et al.*, 2003).

Flavonoid memiliki aktivitas antimikroba dengan cara mendenaturasi dinding sel yang terdiri atas lipid dan asam amino (Arini, 2014). Denaturasi tersebut menyebabkan koagulasi protein dan terganggunya fungsi fisiologis bakteri sehingga akan mengakibatkan rusaknya sel bakteri secara permanen (Agustin, 2007). Golongan flavonoid maupun alkaloid tanaman dapat menyebabkan gangguan pada membran sel sehingga berakibat komponen penyusunan

membran akan berubah dan proses fisiologi membran akan terganggu dengan terjadi kerusakan dan pengkerutan pada membran tersebut (Wurlina, 2006).

### 2.1.5 Manfaat Serai (*Cymbopogon citratus*)

Serai memiliki efek farmakologis rasa pedas dan bersifat hangat, antiradang (*antiinflamasi*), sebagai obat pengurang nyeri, menghilangkan rasa sakit (*analgetik*), melancarkan sirkulasi cairan limpa dan darah. Tanaman ini juga dapat digunakan untuk mengobati encok, saraf terkilir, demam, mencegah muntah, melancarkan kencing, melancarkan keringat, melancarkan haid, menghilangkan bau mulut, menghilangkan sakit gigi dan gusi bengkak, mengobati masuk angin, menghilangkan nyeri otot dan sendi (*rematik arthritis*), nyeri lambung, kembung, diare, sakit kepala, mengobati luka memar dan bengkak, serta menghilangkan pegal linu (Suryo, 2010; Wijayakusuma, 2007; Wirakusumah, 2007; Muhlisah, 1999).

Sitronelol dan geraniol merupakan bahan aktif yang tidak disukai dan sangat dihindari serangga termasuk nyamuk, sehingga penggunaan bahan-bahan ini sangat bermanfaat sebagai bahan pengusir nyamuk (Kardinan, 2005)

Serai menghasilkan minyak sitronela yang digunakan dalam sabun, lilin, obat antiserangga, dan aromaterapi. Penelitian juga menunjukkan bahwa minyak serai ini bersifat antifungi (Kurniawati, 2010). Akar serai berkhasiat sebagai peluruh keringat (*diaforetik*), pengencer dahak, obat kumur dan penghangat badan. Daun serai dapat berfungsi sebagai peluruh kentut (*karminatif*), penambah nafsu makan (*stomakik*) dan pereda kejang (*antispasmodik*) (Kurniawati 2010). Lewat studi *in vitro* molekul sitral yang ditemukan dalam serai dapat memicu apoptosis pada sel kanker sementara sel normal tidak terpengaruh, sehingga serai juga dapat digunakan untuk mencegah kanker (Kurniawati, 2010).

Serai juga memiliki sifat detoksifikasi tubuh dengan meningkatkan jumlah dan frekuensi buang air kecil. Hal ini bisa membuat organ pencernaan, hati,

pankreas, ginjal, dan kandung kemih bersih dan sehat karena zat beracun dan asam urat sudah disingkirkan (Kompas, 2011).

Dalam industri kosmetik minyak atsiri serai digunakan dalam pembuatan parfum dan sabun, karena serai juga memiliki manfaat bagi keindahan kulit dan obat antijerawat (Kompas, 2011). Dalam industri lain di Eropa misalnya serai digunakan sebagai bahan pembuat sabun dan sebagai bahan dasar dalam industry wangi-wangian (Ambarwati, 2011).

## 2.2 Karies

### 2.2.1 Definisi

Karies merupakan suatu penyakit jaringan keras gigi, yaitu email, dentin, dan sementum, disebabkan oleh aktivitas suatu jasad renik dalam suatu karbohidrat yang dapat diragikan. Tandanya adalah demineralisasi jaringan keras gigi yang kemudian diikuti oleh kerusakan bahan organiknya. Akibatnya, terjadi invasi bakteri dan kematian pulpa serta penyebaran infeksi ke jaringan periapiks yang dapat menyebabkan nyeri. Walaupun demikian, mengingat mungkin terjadi remineralisasi, pada stadium yang sangat dini penyakit ini dapat dihentikan (Kidd *and* Bechal, 2012).



Gambar 2.3 Karies Gigi (Kidd *and* Bechal, 2005)

## 2.2.2 Etiologi

Ada tiga faktor utama yang memegang peranan dalam proses pembentukan karies yaitu faktor *host* atau tuan rumah, agen atau mikroorganisme, substrat atau diet, dan ditambah faktor waktu (Pintauli *and* Hamada, 2008).

### 2.2.2.1 Faktor *Host* atau Tuan Rumah

Ada beberapa faktor *host* atau tuan rumah yang dapat mempengaruhi gigi untuk terjadinya karies, antara lain hiposaliva, enamel hipoplasia, perkembangan enamel yang tidak lengkap, morfologi gigi, faktor imunologi serta faktor genetik gigi seperti ukuran, permukaan, dan kedalaman *pit* dan *fisurre* (Vadiakas, 2008).

*Pit* dan *fisurre* gigi posterior sangat rentan terhadap karies karena sisa-sisa makanan mudah menumpuk di daerah tersebut terutama *pit* dan *fisurre* yang dalam (Pintauli dan Hamada, 2008). Selain itu, permukaan gigi yang kasar juga dapat menyebabkan plak mudah melekat dan membantu perkembangan karies gigi (Samaranayake, 2006).

Peran saliva juga sangat menentukan kejadian karies gigi. Saliva banyak mengandung ion kalsium dan fosfat yang dapat menghambat pembentukan plak dan menetralkan asam dalam mulut, sehingga mampu remineralisasi karies sejak dini. Penurunan sekresi saliva seperti yang ditemukan pada penderita xerostomia dan aplasia kelenjar ludah dapat menyebabkan peningkatan aktivitas karies (Kidd *and* Bechal, 2012).

### 2.2.2.2 Faktor Agen atau Mikroorganisme

Plak merupakan lapisan lunak yang terdiri atas kumpulan mikroorganisme yang berkembang biak di atas suatu matriks yang terbentuk dan melekat erat pada permukaan gigi yang dibersihkan. Pada awal pembentukan plak, bakteri kokus



gram positif seperti *Streptococcus* dan bakteri basil gram positif *Lactobacillus* banyak dijumpai. Pada penderita karies aktif, jumlah *Lactobacillus* pada plak gigi berkisar  $10^4$ - $10^5$  sel/mg plak (Pintauli *and* Hamada, 2008).

#### 2.2.2.3 Faktor Substrat atau Diet

Faktor substrat atau diet dapat mempengaruhi pembentukan plak karena membantu perkembangbiakan dan kolonisasi mikroorganisme yang ada pada permukaan enamel. Selain itu, dapat mempengaruhi metabolisme bakteri dalam plak dengan menyediakan bahan-bahan yang diperlukan untuk memproduksi asam serta bahan lain yang aktif yang menyebabkan timbulnya karies. Penelitian menunjukkan bahwa orang yang mengkonsumsi karbohidrat terutama gula jenis sukrosa cenderung mengalami kerusakan pada gigi, sebaliknya pada orang dengan diet yang banyak mengandung lemak dan protein hanya sedikit atau sama sekali tidak mengalami karies gigi. Karbohidrat dapat membantu perlekatan plak dan merupakan sumber energi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan dan reproduksi bakteri-bakteri tersebut (Pintauli *and* Hamada, 2008).

#### 2.2.2.4 Faktor Waktu

Secara umum karies dianggap sebagai penyakit kronis pada manusia yang berkembang dalam waktu beberapa bulan atau tahun. Lamanya waktu yang dibutuhkan karies untuk berkembang menjadi suatu kavitas cukup bervariasi, diperkirakan 6-48 bulan (Pintauli *and* Hamada, 2008).

### 2.2.3 Patogenesis Karies

Permukaan enamel yang bersih dalam beberapa detik ditutupi oleh lapisan molekul terabsorpsi yang terdiri dari glikoprotein dari saliva, dan pelikel yang menjadi tempat awal menempelnya mikroorganisme (Carranza, 2012). Setelah

bakteri menempel pada permukaan gigi, mikroorganisme ini melakukan aktivitas dalam pembentukan polisakarida ekstraseluler dan intraseluler. Polisakarida intraseluler berfungsi sebagai penyedia nutrisi untuk organisme, dan terdegradasi untuk melepaskan energi dan asam organik. Mikrokoloni ini bersatu secara bertahap akibat dari adanya koagregasi yang kemudian menghasilkan tiga dimensi yang kompleks (Cowen *et al.*, 2000).

Biofilm yang dihasilkan disebut juga plak gigi, plak yang sudah matang memiliki jumlah dan keanekaragaman spesies yang bertambah. Tesktur yang dimiliki oleh plak tersebut menyebabkan bakteri lain dapat menempel pada plak dan dapat melakukan aktivitas yang dapat merusak struktur gigi (Samaranayake, 2006).

### 2.3 *Lactobacillus*

Secara historis, *Lactobacillus sp* adalah mikroorganisme pertama kali yang terlibat dalam pembentukan karies gigi. Bakteri tersebut muncul selama tahun pertama kehidupan anak-anak dan terdapat pada air liur dalam jumlah yang tinggi, pada dorsum lidah, selaput lendir, palatum durum, di plak gigi dan dalam jumlah yang lebih sedikit pada permukaan gigi (Badet *and* Thebaud, 2008). Dalam keadaan normal, bakteri tersebut tidak menimbulkan penyakit. Akan tetapi, bakteri spesifik tersebut mampu mengubah glukosa dan karbohidrat pada makanan menjadi asam melalui proses fermentasi (Pratiwi, 2007).

### 2.3.1 Taksonomi *Lactobacillus acidophilus*

Taksonomi dari *Lactobacillus acidophilus* adalah (Kahl, 2007):

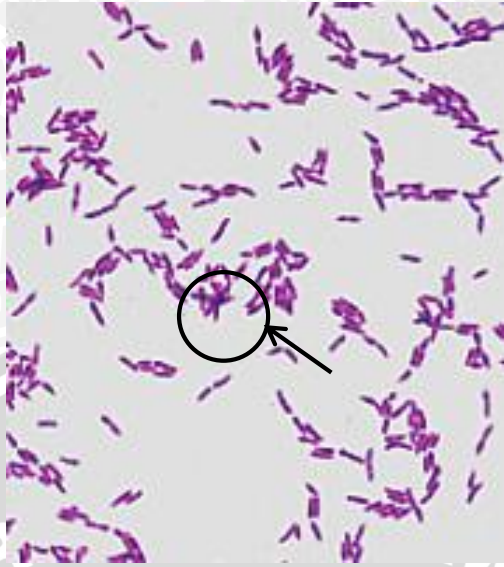
Kingdom	: <i>Bacteria</i>
Divisi	: <i>Firmicutes</i>
Kelas	: <i>Bacilli</i>
Ordo	: <i>Lactobacillales</i>
Famili	: <i>Lactobacillaceae</i>
Genus	: <i>Lactobacillus</i>
Spesies	: <i>Lactobacillus acidophilus</i>

### 2.3.2 Morfologi *Lactobacillus acidophilus*

Bakteri *Lactobacillus acidophilus* merupakan bakteri Gram positif yang tidak berspora dengan selnya berbentuk bacillus (batang) dan bersifat fakultatif anaerob. Bakteri ini dapat memecah glukosa, laktosa atau golongan gula lainnya menjadi asam laktat dan energi melalui proses metabolisme anaerobik dengan bantuan enzim laktat dehidrogenase (Rosiana, 2008).

*Lactobacillus acidophilus* merupakan mikroorganisme normal yang terdapat di rongga mulut, vagina, dan saluran pencernaan. Peningkatan jumlah *Lactobacillus* di dalam rongga mulut berhubungan dengan tingginya prevalensi karies di rongga mulut (Hasslöf, 2013).

*Lactobacillus acidophilus* merupakan *Lactobacilli* yang bersifat fakultatif anaerob, obligat homofermentatif, non motil, menghasilkan DL-asam laktat. Bakteri asam laktat homofermentatif membentuk murni laktat atau hampir (90%) murni. Suhu optimum pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* adalah 35-45°C, tidak terjadi pertumbuhan pada suhu kurang dari 15°C dan pH optimum untuk pertumbuhannya adalah 5,5-6,0 (Siswanti, 2002).



Gambar 2.4 Bakteri *Lactobacillus acidophilus* pada Pewarnaan Gram terdapat gambaran berbentuk batang dan berwarna ungu (Todar,2009)

### 2.3.3 Peran *Lactobacillus acidophilus* terhadap Karies

Beberapa detik setelah penyikatan gigi akan terbentuk deposit selapis tipis yang terutama terdiri dari glikoprotein pada permukaan gigi yang disebut dengan pelikel yang menjadi tempat awal menempelnya mikroorganisme. Dalam waktu beberapa menit, pelikel akan terdeposit dengan bakteri karena glikoprotein adalah nutrisi bagi bakteri sehingga bakteri akan tumbuh dan berkembang membentuk koloni-koloni. Saat mikroorganisme berkembang biak dan melakukan sintesis polisakarida, bakteri-bakteri lain berikatan dengan mikroorganisme tersebut, bukan pada pelikel, sehingga menghasilkan kompleks biofilm dari berbagai spesies berbeda. Perlekatan dari spesies yang berbeda ini memungkinkan untuk terjadinya berbagai interaksi sinergis maupun antagonis (Soames *and* Southam, 2005).

Jumlah mikroorganisme pada plak gigi adalah sekitar  $4 \times 10^8$ /mg dan *Lactobacillus* ditemukan di plak gigi penderita karies sekitar  $10^4$ – $10^5$  sel/mg plak.

Spesies *Lactobacillus* yang umum dijumpai di rongga mulut adalah *Lactobacillus acidophilus* (Pintauli and Hamada, 2008).

*Lactobacillus acidophilus* diyakini sebagai agen penyebab karies gigi karena bakteri ini terdapat pada sebagian besar lesi karies gigi dalam jumlah yang besar (banyak penelitian sekarang ini yang menunjukkan bahwa bakteri ini memiliki prevalensi tinggi pada karies akar gigi). Selain itu jumlah *Lactobacillus acidophilus* yang terdapat dalam plak dan saliva mempunyai hubungan dengan aktivitas karies, kemampuan *Lactobacillus acidophilus* untuk tumbuh dalam lingkungan pH rendah (di bawah pH 5) dan menghasilkan asam laktat (Samaranayake, 2006).

Penurunan pH yang berulang-ulang dalam waktu tertentu akan mengakibatkan demineralisasi permukaan gigi yang rentan dan proses karies pun dimulai (Kidd and Bechal 2005). *Lactobacillus acidophilus* juga memiliki kemampuan untuk mensintesis kedua polisakarida ekstraseluler dan intraseluler sehingga membentuk sukrosa dan kemampuan strain yang menyebabkan karies pada *gnotobiotic* (bebas kuman) tikus (Samaranayake, 2006).

#### **2.4 Uji Kepekaan Bakteri terhadap Antimikroba**

Uji kepekaan antimikroba dapat dikerjakan dengan metode difusi cakram (*Disk Diffusion Test*), metode dilusi tabung (*Tube Dilution Test*), dan metode dilusi agar (*Agar Dilution Test*).

##### **2.4.1 Metode Difusi Cakram (*Disk Diffusion Test*)**

Keunggulan uji difusi cakram agar (metode Kirby-Bauer) mencakup fleksibilitas yang lebih besar dalam memilih obat yang akan diperiksa, kemudahan mengenali biakan campuran, dan biaya yang relatif murah. Tes ini dikerjakan dengan menggunakan cakram kertas saring yang mengandung bahan antimikroba

yang telah ditentukan kadarnya. Cakram tersebut kemudian ditempatkan pada media padat yang telah diberi bakteri uji. Setelah diinkubasi, diameter area hambatan dihitung sebagai daya hambat obat terhadap bakteri uji (Jawetz *et al.*, 2005).

Area hambatan yang terbentuk ditunjukkan sebagai daerah yang tidak memperlihatkan adanya pertumbuhan bakteri di sekitar cakram kertas saring. Diameter zona hambat dipengaruhi oleh tingkat difusi agen antimikroba tersebut. Kadar agen yang diharapkan adalah yang dapat membentuk zona hambat dengan diameter  $\geq 10$  mm (Murray *et al.*, 1999).

Evaluasi dapat dilakukan dua cara seperti berikut ini :

a. Cara Kirby Bauer

Cara ini dilakukan dengan membandingkan diameter dari area jernih (zona hambatan) disekitar cakram dengan tabel standar yang dibuat oleh NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standard*). Dengan tabel NCCLS ini dapat diketahui kriteria sensitif, sensitif intermediet dan resisten (Murray *et al.*, 1999).

b. Cara Joan-Stokes

Cara ini dilakukan dengan membandingkan radius zona hambatan yang terjadi antara bakteri kontrol yang sudah diketahui kepekaannya terhadap obat tersebut dengan isolat bakteri yang diuji. Pada cara Joan-Stokes, prosedur uji kepekaan untuk bakteri kontrol dan bakteri uji dilakukan bersama-sama dalam satu piring agar (Dzen *dkk.*, 2003). Kriterianya adalah:

- Sensitif: yaitu radius zona inhibisi kuman tes lebih luas, sama dengan atau lebih kecil tetapi tidak lebih dari 3 mm terhadap kontrol.
- Intermediet: yaitu radius zona inhibisi kuman tes lebih besar dari 3 mm, tetapi dibanding kontrol lebih kecil lebih dari 3 mm.

- Resisten: yaitu radius zona inhibisi kurang atau sama dengan 3 mm (Dzen dkk., 2003).

#### 2.4.2 Metode Dilusi Tabung (*Tube Dilution Test*)

Metode ini digunakan untuk menentukan konsentrasi minimal, biasanya dalam mg/ml, suatu bahan antimikroba dibutuhkan untuk menghambat atau membunuh mikroorganisme tertentu dengan menggunakan media agar atau *broth* (Dzen dkk., 2003). Prinsip metode dilusi 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<sup>0</sup>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. Kemudian, biakan dari semua tabung yang jernih diinokulasikan pada media agar padat, diinkubasikan dan keesokan harinya diamati ada tidaknya koloni mikroba yang tumbuh. Konsentrasi terendah obat pada biakan padat yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni mikroba adalah KBM dari bahan terhadap bakteri uji (Madigan, 2003).

#### 2.4.3 Metode Dilusi Agar (*Agar Dilution Test*)

Metode dilusi agar (*agar dilution test*) merupakan metode lain untuk menilai Kadar Hambat Minimal (KHM) namun Kadar Bunuh minimal (KBM) tidak dapat dilihat pada metode ini. Metode ini serupa dengan dilusi tabung namun perbedaannya pada media yaitu dengan media padat. Pada dilusi agar tiap konsentrasi antibakteri dicampur dengan media agar, lalu ditanami suspensi bakteri. Kadar terkecil dari enceran ekstrak yang tidak menunjukkan pertumbuhan koloni adalah sebagai Kadar Hambat Minimum (KHM). Keuntungan metode ini

satu konsentrasi agen bakteri dapat digunakan untuk beberapa bakteri uji (Anestya, 2014).

#### 2.4.4 Metode Difusi Sumuran ( *Agar Well Diffusion Test* )

Metode difusi sumuran ( *agar well diffusion test* ) merupakan metode yang dilakukan untuk melihat zona hambat, dimana zona hambat yang terjadi bisa menunjukkan daya antibakteri obat terhadap bakteri uji. Caranya adalah dengan membuat lubang sumuran pada media agar yang telah dicampur dengan bakteri dan lubang yang telah dibuat diberi agen antibakteri sampai memenuhi lubang dan diinkubasi selama 24 jam dalam suhu 37<sup>0</sup>C dan diamati zona hambat yang terjadi. Penentuan kekuatan daya antibakteri sama dengan metode difusi lainnya seperti metode difusi cakram (Ahmad *et al*, 2010).

