

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan mengenai *Klebsiella pneumoniae*

2.1.1 Taksonomi

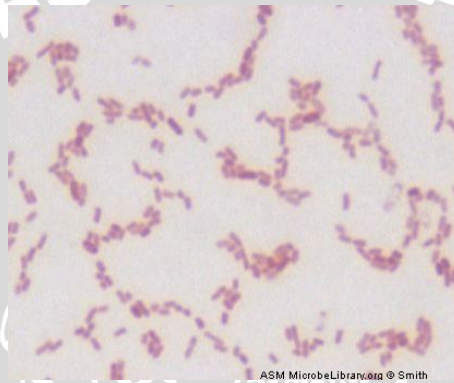
Domain	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gammaproteobacteria
Order	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: Klebsiella
Species	: <i>Klebsiella pneumoniae</i>

(www.microbewiki.kenyon.edu)

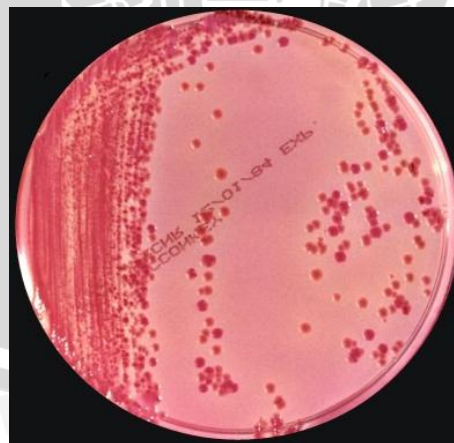
Taksonomi dari *Klebsiella* dikarakterisasi oleh sebuah nomenklatur yang mencerminkan sejarah taksonominya yang beragam. Sebenarnya, kepentingan medis dari genus *Klebsiella* (Family *Enterobacteriaceae*) adalah penyebab dibaginya genus ini menjadi tiga spesies sesuai dengan penyakit yang mereka sebabkan: *K. pneumoniae*, *K. ozaenae*, dan *K. rhinoscleromatis*. Semenjak taksonomi semakin diperbaharui akibat berkembangnya metode baru seperti taksonomi numerikal, klasifikasi spesies pada genus ini terus menerus diperbaiki. Seiring berjalannya waktu, munculah tiga klasifikasi utama, yaitu Cowan, Bascomb dan Ørskov (Podschun dan Ullman, 1998).

2.1.2 Karakteristik Umum dan Reaksi Biokimia

Klebsiella pneumoniae adalah bakteri Gram negatif, nonmotil, dan bersifat fakultatif anaerob yang termasuk dalam famili *Enterobacteriaceae* dari kelas *Gammaproteobacteria* pada filum *Proteobacteria*. Bakteri ini berbentuk batang silinder dengan panjang 1-2 μm (mikrometer) yang dikelilingi oleh kapsul yang tebal. Ketika dikultur, spesies ini menghasilkan bau ragi yang khas dan koloni bakteri tampak kental dan berlendir (Greenwood et al., 2002).



Gambar 2.1 Pengecatan Gram bakteri *K. pneumoniae*
Bakteri berbentuk batang, Gram negatif (Levan dan Jacob, 2005)



Gambar 2.2 Pertumbuhan Koloni *K. pneumoniae* pada MacConkey agar
Bakteri berwarna merah, mukoid dan berlendir (Greenwood et al., 2002)

Untuk meyakinkan tidak adanya struktur motil seperti flagela, dilakukan sebuah tes motilitas, yang melibatkan inokulasi dan inkubasi pada tabung semi solid agar. Hasil tes membuktikan bahwa bakteri tetap berada pada tempat inokulasi. Pewarnaan flagela juga dilakukan, dan ditunjukkan tidak adanya struktur motilitas (Forbes *et al.*, 2002).

Hasil percobaan menunjukkan hasil sitrat positif pada *K. pneumoniae*. Bakteri yang memiliki *citrate-permease* dapat menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon melalui transpor molekul ke dalam sel dan secara enzimatis mengubah mereka menjadi piruvat. Piruvat kemudian dapat diubah menjadi berbagai produk, tergantung dari pH lingkungan. *Simmons Citrate Agar* adalah medium diferensial yang mengandung sodium sitrat sebagai sumber karbon utama dan amonium fosfat sebagai sumber nitrogen utama. Perubahan warna dari hijau ke biru adalah akibat alkalinisasi dari agar oleh produksi amonia dan amonium hidroksida, dan hal ini mengindikasikan bahwa *K. pneumoniae* dapat menggunakan sitrat (Leboffe and Pierce, 2010).

Ciri metabolik lain dari *K. pneumoniae* adalah kemampuannya untuk mendekarboksilasi asam amino, hal ini dapat diuji dengan menginokulasi kaldu dekarboksilase dengan arginin, lisin dan ornitin (Forbes *et al.*, 2002). Bakteri ini menghasilkan lisin dekarboksilase namun bukan ornitin dekarboksilase (Abbott, 2007). Pada kasus ini, *K. pneumoniae* tidak memiliki enzim untuk mendekarboksilasi ornitin, sehingga tidak dapat membasakan medium. Sehingga medium berubah menjadi kuning sebagai indikasi fermentasi glukosa (Leboffe and Pierce, 2010).

Tujuan dari konfirmasi tes urea pada *K. pneumoniae* adalah untuk mendeteksi adanya enzim urease, yang bertanggungjawab pada hidrolisis urea

menjadi amonia dan karbondioksida. Tingginya produksi amonia mengubah warna indikator merah menjadi merah muda. Tes ini menunjukkan tingginya produksi urease dan cepanya hidrolisis urea oleh *K. pneumoniae* (Castaneira, 2011).

Tabel 2.1 Tes Identifikasi *K. pneumoniae*

Tes Biokimia	Hasil
Gram	Negatif (-)
Metabolisme	Fakultatif Anaerob
Katalase/Oksidase	+/-
β -glucoronidase	-
DNase	-
Esculinase	+
Ornithine decarboxylase	-
Indol	-
Urease	+
Citrate	+
Hydrogen sulfide (TSI)	A/A,g(+), H ₂ S(-)
Methyl Red	-
Voges-Proskauer	+
Lysine decarboxylase	+
Arginine dihydrolase	-
Ornithine decarboxylase	-
Nitrate reduction	+
Fermentasi Laktosa	+
Fermentasi Sukrosa	+
Fermentasi D-glukosa	+
Fermentasi D-mannitol	+
Fermentasi D-sorbitol	+
MacConkey Growth	+
Motilitas (36°C)	-

Keterangan: A= Asam, g= gas (www.microbiologyinpictures.com)

2.1.3 Epidemiologi

Meskipun *K. pneumoniae* adalah penyebab umum dari pneumonia komunitas dan bakteremia, mayoritas dari infeksi terjadi secara nosokomial (dari rumah sakit; ~56% dari seluruh infeksi Klebsiella). Spesies Klebsiella dianggap endemik pada bangsal neonatus dan wabah nosokomial, terutama pada bangsal neonatus, yang dianggap umum. Pria dewasa lebih rawan terhadap infeksi Klebsiella daripada wanita dewasa. Bagaimanapun, spesies Klebsiella

menunjukkan tingkat kolonisasi yang lebih tinggi pada neonatus (mampu bertahan hingga berbulan-bulan), bila dibandingkan dengan orang dewasa (selama beberapa hari hingga minggu). Tingkat resiko infeksi dan karier dari spesies *Klebsiella* meningkat seiring dengan durasi rawat inap di rumah sakit, terdapat 11 sampai 42% peningkatan angka karier dalam 14 hari rawat inap berdasarkan sebuah penelitian. Tingkat infeksi dan karier juga meningkat dengan penggunaan antimikroba, hal ini biasanya mengarah pada pembentukan *extended-spectrum-beta-lactamase* (ESBLs) yang menyebabkan resistensi terhadap antibiotik (Janda dan Abbott, 2006).

Klebsiella pneumoniae merupakan spesies paling patogen di antara semua spesies *Klebsiella* lainnya, yang kemudian diikuti oleh *K. oxytoca*, *K. ozaenae* dan *K. rhinoscleromatis* menyebabkan penyakit spesifik pada manusia. *Klebsiella granulomatis* dan *Klebsiella variicola* juga telah diidentifikasi sebagai patogen terhadap manusia. Sedangkan *K. singaporensis* masih sangat baru dan patogenisitas terhadap manusia masih belum ditentukan. Meskipun jumlah infeksi lebih rendah daripada beberapa patogen lainnya, infeksi oleh spesies *Klebsiella* menunjukkan tingginya angka morbiditas dan mortalitas. Pada manusia, *K. pneumoniae* bertindak sebagai saprofit pada nasofaring dan pada saluran usus (Podschun dan Ullman, 1998). Spesies ini merupakan salah satu penyebab utama pneumonia komunitas dan penyebab penting dari abses liver primer dan infeksi fasia oleh mikroba pada pasien diabetes di Asia, terutama di Taiwan (Janda dan Abbott, 2006). Bakteri ini umumnya diisolasi dari infeksi luka bakar dan luka gigitan pada manusia. Baru-baru ini, bakteri ini telah menjadi penyebab peningkatan diare pada dewasa dengan HIV di Afrika. *Klebsiella pneumoniae* dan *Klebsiella oxytoca* adalah agen penyebab penting dari

meningitis komunitas dan abses otak di Asia, terutama di Taiwan. Berdasarkan beberapa laporan, spesies *Klebsiella* bertanggung jawab pada 16 sampai 43% dari infeksi sistem saraf pusat (SSP) dan abses otak. Strain lingkungan dari *K. pneumoniae* telah dibuktikan memiliki virulensi yang sama dengan strain klinis, bagaimanapun apakah hal ini benar atau tidak pada spesies *Klebsiella* lainnya masih belum ditentukan (Podschun dan Ullman, 2001).

2.1.4 Habitat dan Transmisi

Spesies *Klebsiella* terdapat di seluruh dunia, terutama di negara tropis dan subtropis, dan bakteri ini tersebar dimana-mana, termasuk di hutan, lahan perkebunan, air, dan membran mukosa manusia (Janda dan Abbott, 2006). Mereka juga adalah bagian dari flora normal dari saluran usus, namun jumlahnya lebih sedikit dibandingkan dengan *E. coli*. Oleh karena bakteri gram negatif tidak menemukan kondisi bertumbuh yang bagus pada kulit manusia, spesies *Klebsiella* jarang ditemukan di kulit dan dianggap hanya penduduk sementara dari flora (Podschun dan Ullman, 1998). *Klebsiella*, terutama spesies *K. pneumoniae* merupakan patogen oportunistik yang dapat menyebabkan pneumonia, infeksi saluran kemih, dan bakteremia (www.genome.wustl.edu).

Untuk dapat terinfeksi *Klebsiella*, seseorang harus terekspos terhadap bakteri tersebut. Contohnya, *Klebsiella* harus memasuki saluran pernafasan untuk menyebabkan pneumonia, atau ke dalam pembuluh darah untuk dapat menyebabkan bakteremia. Pada lingkungan rumah sakit, bakteri *Klebsiella* dapat menyebar melalui kontak perorangan, seperti tangan yang terkontaminasi, atau lebih jarang, kontaminasi melalui lingkungan. Bakteri tidak menyebar melalui udara. Pasien dengan perawatan kesehatan juga mungkin terekspos terhadap

Klebsiella ketika menggunakan ventilator, atau penggunaan kateter intravena, atau melalui luka (akibat cedera atau operasi). Sayangnya, peralatan medis atau kondisi tersebut dapat menyebabkan Klebsiella masuk ke dalam tubuh dan menyebabkan infeksi (CDC, 2012).

2.1.5 Faktor Virulensi dan Antigen

Patogen ini memiliki banyak faktor virulen yang menyebabkan bakteri ini tidak terdeteksi oleh sistem imun tubuh dan menyebabkan infeksi dalam berbagai cara. Pertama, spesies ini menggunakan reseptor ferric-siderophore pada manusia untuk mengaktivasi sistem sekuesterasi besi yang dimediasi enterobactin, sehingga menyebabkan bakteri dapat bertumbuh. Kapsul polisakaridanya yang tebal mencegah penelanan oleh fagosit dan antigen somatiknya terdeteksi oleh antibodi manusia. Dan juga, aktivasi komplemen serum lebih sulit dengan kapsul tebal yang dimilikinya (Greenwood *et al.*, 2002). Kenyataannya, *K. pneumoniae* menghindari kerusakan oleh protein komplemen oleh panjang ektrim molekul yang menyusun kapsul, secara esensial membiarkan kompleks lisis C5b-9 (komplemen) terbentuk terlalu jauh dari membran. Hal ini mencegah opsonisasi dan pembentukan *membrane attack complex* (MAC), yang dapat membuat lisinya sel bakteri.

K. pneumoniae memproduksi enzim yang disebut *carbapenemase*, yang membuatnya resisten terhadap obat karbapenem. Spesies ini juga memproduksi *bacteriocins*, yang merupakan toksin protein yang dihasilkan bakteri untuk menghambat pertumbuhan galur bakteri yang mirip atau serupa (Greenwood *et al.*, 2002). Karena *K. pneumoniae* secara normal ditemukan sebagai mikroflora dari manusia, produksi *bacteriocins* sebenarnya dapat membahayakan, karena

toksin ini dapat menyingkirkan bakteri esensial atau bakteri 'baik' yang terdapat di dalam usus (Forbes *et al.*, 2002).

Klebsiella pneumoniae dapat menyebabkan penyakit karena memiliki 2 antigen, yaitu antigen kapsular (K) dan somatik (O).

a) Antigen K

Merupakan antigen yang mengandung kapsular polisakarida yang mengelilingi dinding sel. Bersifat *heat labile* dan membungkus antigen O, sehingga menghambat aglutinasi dengan tipe spesifik antiserum O (Delost, 2014). Berdasarkan antigen kapsularnya, antigen pada *Klebsiella* telah dibedakan menjadi 80 serotipe. Anggota antigen kapsular tipe 1-6 merupakan yang paling sering ditemui pada saluran pernafasan manusia. Antigen kapsular biasanya dideteksi oleh reaksi 'swelling', *countercurrent immuno-electrophoresis* dan ELISA (Kumar, 2012).

b) Antigen O

Merupakan antigen yang ditemukan pada bagian luar dinding sel dan merupakan bagian *heat stable* dari dinding sel. Dikenal juga sebagai lipopolisakarida (LPS) dan dilepaskan saat lisis sel sebagai endotoksin (Delost, 2014). Terdapat 5 antigen O berbeda (01-05) yang terdapat dalam berbagai kombinasi dengan antigen kapsular. Empat dari lima antigen O bersifat identik atau berhubungan dengan antigen O pada *E. coli*. Pada strain yang berkapsul, antigen O terbungkus oleh antigen K, dan karena pada akhirnya bakteri bersifat tahan panas pada suhu 100°C selama 2,5 jam, maka dari itu antigen O hanya dapat diidentifikasi pada mutan yang tidak berkapsul (Kumar, 2012).

2.1.6 Patogenesis *Klebsiella pneumoniae*

Spesies *Klebsiella* telah diidentifikasi sebagai patogen penting dari pneumonia nosokomial (7-14% dari semua kasus), sepsisemia (4-15%), infeksi saluran kemih (6-17%), infeksi luka (2-4%), infeksi di ICU (4-17%) dan sepsisemia neonatus (3-20%). Bakteri ini juga merupakan patogen oportunistik yang penting, terutama pada orang dengan daya tahan tubuh rendah. Faktor patogenitas dari spesies *Klebsiella* termasuk adhesin, siderophores, polisakarida kapsular, lipopolisakarida pada permukaan sel (LPS), dan toksin dimana masing-masing memerankan peran spesifik pada patogenesis spesies ini. Berdasarkan tipe dan mode infeksi, sel *Klebsiella* dapat menempel dan menyerang sel epitel saluran pernafasan atas, sel saluran pencernaan, sel endotel, atau sel uroepitelial, diikuti oleh kolonisasi dari membran mukosa. Penyakit yang mendasari biasanya termasuk alkoholisme, diabetes melitus, penyakit liver kronis (sirosis), gagal ginjal kronis, kanker, transplantasi, luka bakar, dan atau penggunaan kateter (Janda dan Abbott, 2006).

Data terbaru dari studi preklinik menyebutkan mengenai peran neutrofil myeloperoksidase dan protein pengikat lipopolisakarida pada pertahanan tubuh melawan infeksi *K. pneumoniae*. Neutrofil peroksidase diduga memediasi inaktivasi oksidatif dari elastase, sebuah enzim yang berimplikasi pada patogenesis dari berbagai penyakit penghancur jaringan. Protein pengikat lipopolisakarida memfasilitasi pengenalan komponen dinding sel bakteri pada sel inflamasi (Qureshi, 2015).

Bakteri mengalahkan imunitas alamiah tubuh melalui beberapa cara. Mereka memiliki kapsul polisakarida, yang merupakan determinan utama dari patogenitasnya (Qureshi, 2015). Kapsul bersifat esensial terhadap virulensi

Klebsiella. Materi kapsul membentuk untaian tebal struktur fibril yang membungkus permukaan bakteri dengan lapisan masif. Hal ini memproteksi bakteri dari fagositosis oleh granulosit PMN dan mencegah kematian bakteri oleh faktor serum bakterisidal. Kemungkinan mekanisme molekular yang terjadi adalah melalui inhibisi aktivasi atau pengambilan komponen komplemen, terutama C3b. Diluar fungsi antifagositosisnya, kapsul polisakarida Klebsiella telah dilaporkan menghambat diferensiasi dan kapasitas fungsional dari makrofag *in vitro* (Podschun dan Ullman, 1998). Bakteri juga memproduksi berbagai adhesin, bisa fimbrial maupun nonfimbrial, masing-masing dengan spesifisitas reseptor yang berbeda-beda. Hal ini membantu mikroorganisme untuk menempel pada sel manusia, yang bersifat penting dalam proses infeksi (Qureshi, 2015).

Lipopolisakarida (LPS) adalah faktor patogenitas lainnya. LPS mampu mengaktivasi komplemen, yang menyebabkan deposisi selektif C3b pada molekul LPS di tempat yang jauh dari membran sel. Hal ini menghambat pembentukan *membrane attack complex* (C5b-C9), yang mencegah kerusakan membran dan kematian sel bakteri (Qureshi, 2015).

Pertumbuhan bakteri pada jaringan manusia dibatasi tidak hanya melalui mekanisme pertahanan manusia, namun juga melalui adanya ketersediaan besi. Besi adalah faktor esensial pada pertumbuhan bakteri, berfungsi terutama sebagai katalis redoks pada protein yang berperan pada proses transpor elektron dan oksigen (Podschun dan Ullman, 1998). Bakteri Klebsiella mampu untuk berkompetisi secara efektif dalam mengikat besi dari protein tubuh manusia (baik intraseluler maupun ekstraseluler), yang diakibatkan oleh adanya sekresi pengikat besi berafinitas tinggi, dengan berat molekul rendah, yang dikenal

sebagai siderophores (Qureshi, 2015).

2.1.7 Manifestasi Klinis

Klebsiella adalah bakteri yang umumnya tinggal pada usus dari sepertiga seluruh orang sehat. Bakteri ini dapat menyebabkan infeksi menyeluruh pada manusia, dari pneumonia hingga infeksi pada kantung kemih. Perhatian terbesar pada bakteri ini adalah beberapa bentuk dari bakteri ini bersifat resisten terhadap standar pengobatan anti bakteri. Setiap tipe infeksi memiliki kumpulan gejala yang memang harus diwaspadai (Levison, 2008).

Pneumonia adalah salah satu penyebab kematian tersering di dunia, yang membutuhkan diagnosa dan pengobatan secepatnya (Bartlett, 2008). Kebanyakan penyakit paru-paru yang disebabkan oleh *K. pneumoniae* bermanifestasi sebagai bronkopneumonia ataupun bronkitis (Qureshi, 2015). Gejala dari pneumonia serupa dengan flu atau demam, sehingga sulit untuk dibedakan pada awalnya. Gejala yang mirip berupa menggigil atau gemetar, demam dan batuk berdarah. Warna dahak pada pneumonia beragam, mulai dari kuning oranye hingga berwarna hitam kenyal seperti jeli, yang disebabkan oleh adanya darah di dalam dahak. Dahak berdarah lebih sering dijumpai pada orang dengan kondisi kesehatan lain seperti diabetes atau alkoholisme. Gejala tambahan meliputi nafas pendek, nyeri dada yang meningkat dengan pernafasan dalam atau batuk, dan juga ditemukannya keringat malam (Vermillion, 2011).

Gejala infeksi saluran kemih dimulai tiba-tiba dengan keinginan akan kebutuhan berkemih yang sering didapati bahkan setelah mengosongkan kantung kemih. Rasa nyeri atau terbakar saat berkemih juga merupakan hal yang umum ditemukan. Gejala tambahan meliputi perasaan tidak nyaman atau

kembung pada perut bawah, punggung bawah atau nyeri pada pelvis dan urin keruh berbau kuat akibat meningkatnya sel darah putih. Bila infeksi saluran kemih tidak diobati, infeksi dapat menyebar lebih jauh ke ginjal (Simon, 2012).

Komplikasi lain dari infeksi *Klebsiella* adalah masuknya bakteri ke dalam aliran darah. Sekali bakteri tersebut masuk ke dalam aliran darah, bakteri ini dapat menyebabkan infeksi menyeluruh pada darah atau sepsis. Diagnosa dari sepsis membutuhkan 2 dari gejala berikut: demam dengan suhu lebih dari 38,3°C atau lebih rendah dari 36°C, denyut jantung 90 kali/menit atau lebih tinggi, tingkat pernafasan 20 kali/menit atau lebih tinggi, dan infeksi yang terkonfirmasi dimanapun di dalam tubuh. Sepsis umum ditemukan pada mereka yang sudah dalam perawatan di rumah sakit, namun bila ada kekhawatiran mengenai sepsis, maka dibutuhkan pengobatan dan perawatan secepatnya (Vermillion, 2011).

2.1.8 Pengobatan

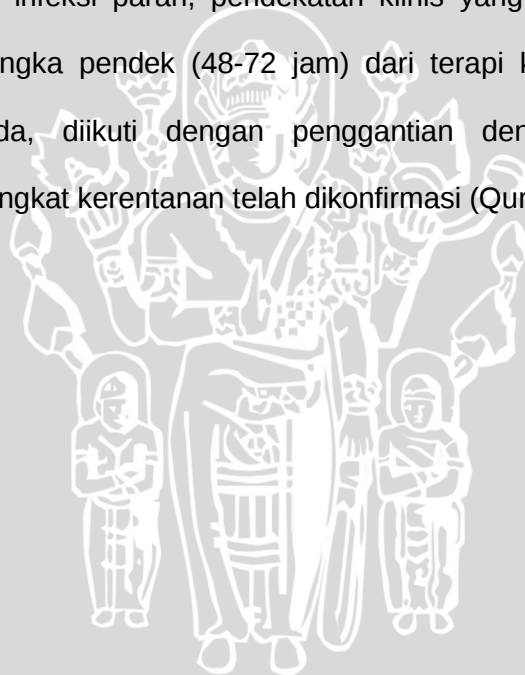
Organisme *Klebsiella* bersifat resisten terhadap berbagai antibiotik. Hal ini diperkirakan akibat adanya plasmid dalam bakteri. Pengobatan bergantung pada sistem organ yang terlibat. Pada umumnya, terapi inisial dari pasien dengan kemungkinan bakteremia adalah terapi empiris. Pemilihan agen antimikroba spesifik bergantung pada pola kerentanan lokal. Setelah bakteremia terkonfirmasi, pengobatan dapat dimodifikasi (Qureshi, 2015).

Agen dengan aktivitas intrinsik tinggi terhadap *K. pneumoniae* harus dipilih pada pasien dengan sakit parah. Contoh dari agen tersebut termasuk sefalosporin generasi ketiga (cth. cefotaxime, ceftriaxone), karbapenem (cth. imipenem/cilastatin), aminoglikosida (cth. gentamicin, amikacin), dan kuinolon. Agen-agen tersebut dapat digunakan sebagai monoterapi atau terapi kombinasi.

Beberapa ahli merekomendasikan menggunakan kombinasi dari aminoglikosida dan sefalosporin generasi ketiga sebagai pengobatan terhadap isolat yang tidak memproduksi ESBL, namun beberapa ahli yang lain tidak setuju dan merekomendasikan monoterapi (Qureshi, 2015).

Aztreonam dapat digunakan pada pasien yang alergi terhadap antibiotik beta-laktam. Kuinolon juga merupakan pilihan pengobatan efektif pada pasien dengan alergi karbapenem atau alergi beta-laktam (Qureshi, 2015).

Pengobatan terhadap *K. pneumoniae* memiliki hasil yang berbeda-beda. Untuk pasien dengan infeksi parah, pendekatan klinis yang bijaksana adalah penggunaan inisial jangka pendek (48-72 jam) dari terapi kombinasi dengan sebuah aminoglikosida, diikuti dengan penggantian dengan sefalosporin spektrum luas ketika tingkat kerentanan telah dikonfirmasi (Qureshi, 2015).



2.2 Tinjauan mengenai Kemangi (*Ocimum sanctum*)

2.2.1 Taksonomi Kemangi

Adapun sistematika penamaan (taksonomi) dari tanaman kemangi adalah sebagai berikut (Singh *et al.*, 2012):

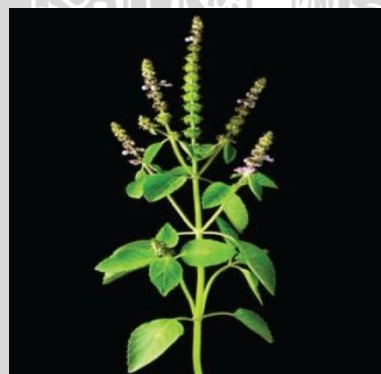
Kingdom	: Plantae
Division	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Order	: Lamiales
Family	: Lamiaceae
Genus	: <i>Ocimum</i>
Species	: <i>Ocimum sanctum</i>
Synonim	: <i>Ocimum tenuiflorum</i>
Nama umum	: Holy basil (Inggris); Tulsi, Vishnu priya (India)

Di Indonesia tanaman kemangi mempunyai nama yang berbeda di daerah tertentu, antara lain, (1) Sumatera: ruku-ruku, ruruku; (2) Jawa: klampes, lampes, kemangen, ko-roko; (3) Nusa Tenggara: uku-uku; (4) Sulawesi: balakama; (5) Maluku: lufe-lufe, kemangi utan.

2.2.2 Morfologi Tanaman Kemangi

Ocimum sanctum termasuk dalam famili Labiaceae. Tanaman ini ditemukan sepanjang regio tropis dan semitropis dari India dan berbagai negara Asia lainnya (Godhwani *et al.*, 1988). Tanaman ini tegak, kebanyakan bercabang semak belukar dengan tinggi 30-60cm, dengan daun berselingan hijau-ungu yang berbau kuat dan batang yang berambut. Daunnya memiliki tangkai dan

berbentuk bulat telur, dengan panjang hampir mencapai 5 cm, yang kadang-kadang bergerigi (Pattanayak *et al.*, 2010). Dan apabila daun dihancurkan, maka akan diperoleh aroma *minty-grassy*. Ciri lainnya adalah ujung bagian bawah kelopak bunga yang menggulung ke belakang, tangkai bunga yang dimiliki sama panjang dengan kelopak bunga dan terletak hampir melintang ke sumbu perbungaan majemuk. Kelopak bunganya kecil, dengan panjang 3,5 sampai 4 mm, dan warna ungu kemerahan atau putih, dalam bentuk gerombolan padat kecil atau silindris tajam. Buahnya kecil dan berwarna kuning kemerahan. Sifat utama yang membedakan spesies ini dari *Ocimum americanum* atau *Ocimum basilicum* terletak pada tangkai bunganya yang terletak melintang pada sumbu utama perbungaan majemuk. Berbagai bagian tanaman secara tradisional digunakan pada sistem Ayurveda dan Siddha untuk pengobatan beberapa penyakit seperti infeksi, penyakit kulit, kelainan hati, flu dan batuk, demam malaria dan sebagai antidot terhadap gigitan ular dan sengatan kalajengking (Godhwani *et al.*, 1988; Tan, 2005).



Gambar 2.3 Tanaman Kemangi (Pattanayak *et al.*, 2010)



Gambar 2.4 Gambar daun Kemangi

.... Daun muda dan ranting dengan karakter berambut (Tan, 2005)

2.2.3 Kandungan Kimia Tanaman Kemangi

Kekayaan nutrisi dan farmakologi dari seluruh tumbuhan dalam bentuk alaminya telah digunakan secara tradisional, yang merupakan hasil interaksi sinergistik dari berbagai kandungan fitokimia aktif di dalamnya. Akibatnya, komponen isolasi atau ekstrak dari tanaman kemangi tidak dapat meniru efek dari tanaman kemangi secara utuh. Minyak astiri pada daunnya mengandung *eugenol*, *euginal*, *urosolic acid*, *carvacrol*, *linalool*, *limatrol*, *caryophyllene*, *methyl carvicol*, sedangkan minyak astiri pada bijinya mengandung asam lemak dan *sitosterol*. Selain itu, getah bijinya mengandung beberapa kandungan gula dan juga didapatkan antosianin yang didapatkan pada daun hijau. Gula tersebut tersusun atas silose dan polisakarida (Pattanayak *et al.*, 2010).

Meskipun kemangi diketahui sebagai *vitalizer* umum dan meningkatkan ketahanan fisik, tanaman ini tidak mengandung kafein atau stimulan lainnya. Batang dan daun dari kemangi mengandung berbagai unsur yang dapat memiliki aktivitas biologis, yaitu *saponin*, *flavonoid*, *triterpenoid*, dan *tannin*. Selain itu,

bahan fenolik aktif juga telah diidentifikasi, yang juga bermanfaat sebagai antioksidan dan antiinflamasi, yaitu *rosmarinic acid*, *propanoic acid*, *apigenin*, *cirsimaritin*, *isothymusin*, dan *isothymonin*. Terdapat 2 flavonoid larut air: *Orientin* dan *Vicenin*, yang telah terbukti memberi proteksi terhadap kerusakan kromosom akibat radiasi pada limfosit darah manusia . Dari uraian di atas, didapatkan bahwa kandungan *eugenol*, *carvacrol*, *saponin*, *flavonoid* dan *tannin* pada daunnya merupakan penyebab efek antimikroba pada tanaman ini (Pattanayak *et al.*, 2010).

2.2.3.1 Eugenol

Eugenol adalah unsur yang ditemukan pada tanaman tertentu, seperti kemangi, kayu manis, *lemon balm*, dan buah pala, namun senyawa ini paling banyak diekstrak dari tanaman cengkeh. Oleh sebab itu *eugenol* kadang-kadang disebut minyak cengkeh karena senyawa ini adalah unsur aktif di dalam cengkeh. Senyawa ini menyebabkan aroma khas cengkeh yang kemudian sering digunakan sebagai aroma di dalam parfum (Rayment, 2014).

Eugenol merupakan rantai alil pengganti *guaiacol* (2-methoxyphenol). Senyawa ini tampak sebagai cairan bening atau kuning pucat berminyak. Selain itu, *eugenol* juga sedikit larut dalam air dan larut dalam larutan organik. Bidang medis memanfaatkan penggunaan *eugenol*. Sifat yang dimilikinya membuatnya mampu menjadi antiseptik dan analgesik lokal yang bagus. Bahan ini sering digunakan dalam praktek dokter gigi untuk membuat pasta *zinc-oxide eugenol* untuk pengisian sementara pada gigi, dan juga sebagai anestesi yang bagus untuk meredakan nyeri gigi. Dalam bidang lainnya, *eugenol* juga digunakan dalam pembuatan *isoeugenol* dalam produksi *vanillin*, sebagai

pengganti buatan vanila (Rayment, 2014). Eugenol adalah materi yang larut pada etanol 100%, eter, minyak, alkohol 70%, asam asetat glasial, kloroform, dan sodium hidroksida encer, namun materi ini tidak larut dalam air (Fujisawa, 2002).

Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa *eugenol* mungkin memiliki nilai medis yang jauh lebih tinggi. Seperti, pada beberapa penelitian menunjukkan bahwa *eugenol* melawan bakteri dan menghambat pertumbuhan dari banyak jamur, termasuk *Candida albicans* patogen yang bertanggung jawab terhadap kebanyakan infeksi jamur pada manusia (Broadhurst dan Duke, 1997). *Eugenol* meningkatkan permeabilitas dari membran, yang dibuktikan dalam *cristal violet* assay. Analisis pengukuran dari pelepasan sinar ultraviolet 260 nm yang menyerap materi intraseluler, SDS –PAGE, SEM dan AFM mengkonfirmasi aksi disruptif *eugenol* pada membran sitoplasma. Perubahan bentuk makromolekul pada membran, setelah pemberian pengobatan dengan *eugenol* telah diverifikasi dengan FT-IR spektroskopi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri pada *eugenol* adalah akibat interaksi *eugenol* dengan membran sel bakteri (Devi *et al.*, 2010).

2.2.3.2 Carvacrol

Carvacrol ditemukan dari berbagai tanaman dan herbal seperti *wild bergamot*, *thyme* dan *pepperwort*, namun kandungan ini paling banyak ditemukan pada *oregano*, dimana senyawa ini termasuk dalam kelompok kimia *monoterpenes*. *Carvacrol* memberikan rasa hangat pada lidah, yang bertanggungjawab terhadap rasa sedikit pedas pada *oregano*, sehingga tanaman ini sering digunakan dalam memasak. Bagaimanapun, selain membuat lidah

terasa menggelitik, senyawa ini memiliki keuntungan biologis lainnya (Lambert, 2001; Si, 2006). Senyawa ini larut dalam etanol, eter, dan alkalis, sangat larut pada aseton, namun hanya sedikit larut dalam air (Weast, 1979).

Carvacrol memiliki kemampuan bakteriostatik dan bakterisidal pada sejumlah besar galur bakteri, termasuk *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* (termasuk E.coli O157:H7 and Staph. aureus). Bakteri ini adalah dikenal sebagai patogen, dan memproduksi toksin berbahaya yang dapat menyebabkan penyakit parah seperti gastroenteritis, diare berdarah, gagal ginjal dan enteritis. *Carvacrol* menghambat bakteri ini dengan merusak integritas sel membran bakteri, yang kemudian mengganggu homeostasis pH di dalam sel dan keseimbangan ion inorganik, sehingga mencegah sel bereproduksi dan akhirnya menginduksi apoptosis. Hal yang paling menarik adalah kemampuan bakteriostatik dan bakterisidal ini sangatlah minimal pada spesies probiotik yang ditemukan pada usus, seperti spesies lactobacilli dan bifidobacteria. Pada konsentrasi yang menyebabkan inhibisi 97-100% pada patogen, hanya ditemukan inhibisi 3-5% pada probiotik. Hal ini menunjukkan bahwa *carvacrol* sangat baik untuk kesehatan sistem pencernaan (Si, 2006; Lambert, 2001).

2.2.3.3 Saponin

Saponin memperoleh namanya dari tanaman *soapwort* (akar saponaria) yang dulunya digunakan sebagai sabun. *Saponin* adalah senyawa fitokimia yang dapat ditemukan pada kebanyakan sayuran, kacang-kacangan (kacang polong, kacang kedelai) dan tanaman herbal dengan nama yang menunjukkan kemampuan untuk berbusa seperti *soapwort*, *soaproot*, *soapbark* dan *soapberry*. Kandungan ini pada umumnya diidentifikasi melalui rasanya yang pahit,

kemampuannya mengiritasi tenggorokan, membentuk busa dalam larutan air, toksisitas pada ikan, dan kemampuannya dalam melisiskan eritrosit (Mahato *et al.*, 1988; Cheeke, 1998). Beberapa *saponin* bahkan telah digunakan sebagai peningkat rasa dan pemanis pada makanan dan rokok (Olezek *et al.*, 1992; Tanaka *et al.*, 1996).

Saponin adalah glukosida dengan karakter berbusa, yang terdiri dari polisiklik *aglycone* yang menempel pada satu atau lebih rantai gula. Bagian *aglycone*, yang juga disebut *sapogenin*, dapat berupa *steroid* (C27) atau *triterpene* (C30) (Price *et al.*, 1987; Hostettmann *et al.*, 1991). Kemampuan berbusa dari *saponin* disebabkan oleh kombinasi bagian hidrofobik (*fat-soluble*) pada *sapogenin* dan bagian hidrofilik (*water-soluble*) pada rantai gula. Pelarut yang paling sering digunakan untuk ekstraksi *saponin* adalah air, alkohol (metanol, etanol) dan alkohol encer, namun kelarutan dari beberapa *saponin* pada eter, kloroform, benzen, etil asetat, atau asam asetat glasial juga telah dilaporkan (Hostettmann and Marston, 1995). Prinsip umum dari aksi *saponin* pada mikroorganisme adalah interaksinya dengan membran sterol. Sehingga, bakteri tidak akan sensitif pada *saponin*, bila membrannya memiliki kadar kolesterol yang rendah. Sejumlah *saponin*, baik triterpene maupun steroid, menunjukkan aktivitas antibakteri. Efek utama *saponin* pada bakteri adalah bocornya protein dan enzim tertentu pada selnya. Komponen β -aescin, *glycyrrhetic acid* dan *medicagenic glycosides* meningkatkan bocornya protein ekstraseluler dari bakteri. Data ini mengindikasikan dengan jelas bahwa membran bakteri dapat dipengaruhi oleh *saponin*, yang menghasilkan hilangnya aktivitas vital bakteri secara signifikan (Naidu, 2000).

2.2.3.4 Flavonoid

Flavonoid ditemukan pada kebanyakan materi tanaman. Sumber makanan yang terutama adalah buah-buahan, teh, dan kacang kedelai. Teh hijau dan teh hitam mengandung sekitar 25% *flavonoid*, sumber penting lain dari *flavonoid* termasuk apel (*quercetin*), dan buah jeruk (*rutin* dan *hesperidin*) (Mukund *et al.*, 2013).

Flavonoid merupakan molekul polifenol larut air yang mengandung 15 karbon atom. *Flavonoid* termasuk dalam famili polifenol, yang dapat divisualisasikan sebagai 2 cincin benzen yang bergabung bersama-sama dengan 3 rantai karbon pendek. Satu karbon dari rantai pendek selalu berhubungan dengan karbon dari salah satu cincin benzen, baik secara langsung maupun melalui jembatan oksigen, sehingga membuat cincin ketiga ditengah, yang dapat berisi 5-6 anggota. *Flavonoid* terdiri dari 6 subgrup utama: *chalcone*, *flavone*, *flavonol*, *flavanone*, *anthocyanins* dan *isoflavonoid*. Bersama dengan *carotene*, *flavonoid* juga bertanggung jawab terhadap pemberi warna pada buah-buahan, sayur, dan tanaman herbal (Mukund *et al.*, 2013). *Flavonoid* pada umumnya larut dalam pelarut polar, kecuali *flavonoid* bebas seperti *isoflavan*, *flavon*, *flavanon* dan *flavonol* termetoksilasi lebih mudah larut dalam pelarut semipolar. Oleh karena itu pada proses ekstraksinya, pada umumnya digunakan pelarut metanol atau etanol. Hal ini disebabkan karena pelarut ini bersifat melarutkan senyawa-senyawa mulai dari yang kurang polar sampai dengan polar (Monache, 1996).

Komponen ini telah dikenal sebagai sumber alami potensial sebagai obat antimikroba, yang dapat menghambat pertumbuhan dan replikasi dari berbagai bakteri patogen yang menyebabkan penyakit pada manusia, seperti genus

Escherichia, *Gingiva*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, and *Candida* (Friedman, 2007). Beberapa laporan menyebutkan bahwa *flavonoid* biasanya memiliki beberapa mekanisme kerja (Otsuka *et al.*, 2008; Gordon dan Wareham, 2010). *Flavonoid* mengerjakan aktivitas antibakterinya melalui beberapa mekanisme, seperti merusak membran sitoplasmik, inhibisi sintesis asam nukleat, inhibisi metabolisme energi, inhibisi sintesa dinding sel, dan inhibisi sintesa membran sel (Cushnie dan Lamb, 2011). Bagaimanapun, target antibakteri secara luas tetap tidak dikenal pada kebanyakan flavonoid (Lu *et al.*, 2013).

2.2.3.5 Tannin

Tannin merupakan polifenol tanaman alamiah, yang sifat utamanya adalah mengikat dan mengendapkan protein. Senyawa ini umum ditemukan pada buah-buahan (anggur, kesemek, bluberi, dsb), pada teh, coklat, tanaman polong, dan pada rerumputan. Karakteristik struktur kimia dari *tannin* meliputi komponen oligomer dengan berbagai unit struktur dengan grup fenol bebas, berat molekul berkisar antara 500 hingga lebih dari 20.000, larut dalam air (kecuali pada beberapa struktur dengan berat molekul tinggi), kemampuan untuk mengikat protein dan membentuk kompleks tannin-protein larut atau tidak larut. *Tannin* biasanya dibagi ke dalam 2 grup: *hydrolysable tannin* (HT) dan *proanthocyanidins* (PA) atau *non-hydrolysable tannin* (Cannas, 2014). Serta senyawa ini diketahui larut dalam air, aseton, etil alkohol, etanol dan methanol namun tidak larut pada benzen, kloroform, dan eter (Khoddami *et al.*, 2013).

Mekanisme kerja antibakteri *tannin* yang diajukan selama ini meliputi inhibisi enzim ekstraselular mikroba, sehingga terjadi penurunan substrat yang dipecah sebagai sumber nutrisi untuk pertumbuhan mikroba, atau bekerja

langsung pada metabolisme mikroba melalui inhibisi fosforilasi oksidatif, mekanisme lain termasuk penurunan jumlah besi juga diajukan (Scalbert, 1991).

2.2.4 Penggunaan dalam pengobatan

Beberapa khasiat tanaman kemangi dalam terapi medis antara lain:

2.2.4.1 Antidiabetik

Ekstrak etanol dari tanaman kemangi secara signifikan menurunkan gula darah, hemoglobin terglikosilasi dan urea, serta didapatkan peningkatan glikogen, hemoglobin dan protein pada tikus diabetes dengan induksi streptozotocin. Ekstrak ini juga menghasilkan peningkatan insulin dan level peptida serta toleransi glukosa. Komponen dari ekstrak daun kemangi memiliki efek stimulasi pada jalur fisiologi sekresi insulin, yang mendasari aksi antidiabetik yang dilaporkan (Pattanayak *et al.*, 2010).

2.2.4.2 Kardioprotektif dan Antihipertensif

Transien iskemi serebral dan hipoperfusi serebral jangka panjang (menyebabkan edema seluler, gliosis dan infiltrat inflamasi perivaskular) telah berhasil dicegah oleh tanaman kemangi (Kelm *et al.*, 2000). Kandungan minyak tetap pada tanaman kemangi yang diberikan secara intravena menghasilkan efek hipotensi pada anjing yang dianestesi, yang kemungkinan disebabkan oleh kerja vasodilatasi perifer yang dimilikinya. Asam lemak esensial seperti *linoleic* dan *linolenic acids* yang terdapat pada tanaman kemangi menghasilkan PGE1 dan PGE3 dan menghambat formasi PGE2 (Singh *et al.*, 2001). Pemberian tanaman kemangi jangka panjang memberikan proteksi signifikan terhadap nekrosis

miokard yang diinduksi *isoproterenol* pada tikus wistar melalui peningkatan antioksidan endogen (Sood *et al.*, 2005).

2.2.4.3 Kemampuan penyembuhan luka

Ekstrak etanol daun kemangi diteliti untuk penyembuhan luka normal dan penyembuhan luka yang ditekan *dexamethasone*. Ekstrak secara signifikan meningkatkan kekuatan penyembuhan luka, kecepatan epitelisasi luka, dan kontraksi luka bersamaan dengan meningkatnya berat basah dan kering dari jaringan granulasi dan kemampuan penyembuhan jaringan granulasi. Selain itu, ekstrak juga menurunkan aktivitas anti penyembuhan oleh *dexamethasone* secara signifikan pada seluruh model penyembuhan luka (Pattanayak *et al.*, 2010).

2.2.4.4 Radioprotektif

Dua isolat flavonoid, orientin dan vicenin dari daun tanaman kemangi menunjukkan efek radioprotektif yang lebih baik dibandingkan dengan radioprotektor sintetik. Isolat ini telah menunjukkan proteksi signifikan pada limfosit manusia terhadap efek klastogenik dari radiasi pada konsentrasi rendah dan non toksik. Kombinasi ekstrak daun kemangi dengan WR-2721 (radioprotektor sintetik) menghasilkan proteksi sumsum tulang lebih tinggi dan penurunan toksisitas WR-2721 pada dosis yang lebih tinggi, meyakinkan bahwa kombinasi akan memiliki efek radioproteksi yang menjanjikan pada manusia (Gonasoundari *et al.*, 1998).

2.2.4.5 Antioksidan

Telah diamati khasiat antioksidan flavonoid dalam hubungannya dengan proteksi membran. Efek antioksidan dari flavonoid (orientin dan vicenin) secara *in vivo* telah menunjukkan penurunan signifikan dari peroksidasi lipid yang diinduksi radiasi pada liver tikus (Uma, 2001). Ekstrak kemangi memiliki kemampuan signifikan untuk menetralkan radikal bebas yang sangat reaktif (Kelm *et al.*, 2000). Komponen fenolik, cirsilineol, cirsimaritin, isothymusin, apigenin dan rosmarinic acid, serta sejumlah eugenol (komponen utama dalam minyak astiri) dalam ekstrak daun segar dan batang kemangi memiliki efek antioksidan yang baik (Nair *et al.*, 1982).

2.2.4.6 Aktivitas Antistres / Adaptogenik

Adaptogen adalah agen yang membantu tubuh untuk beradaptasi lebih efisien terhadap stres. Adaptogen menurunkan intensitas dan pengaruh negatif dari stres akibat ketegangan, kesulitan emosional, kebiasaan buruk, infeksi dan penyakit, polusi dan faktor-faktor lainnya. Kemangi adalah salah satu adaptogen paling efektif yang diketahui. Kapasitas imunostimulan dari kemangi mungkin bertanggungjawab terhadap aksi adaptogenik pada tanaman (Godhwani *et al.*, 1988). Ekstrak alkohol dari seluruh tanaman kemangi meningkatkan ketahanan fisik dari tikus yang berenang, mencegah *ulcer* akibat stres dan leukositosis yang diinduksi susu, menandakan peningkatan ketahanan non spesifik terhadap berbagai stres akibat perubahan biologis oleh kemangi pada binatang (Bhargava dan Singh, 1981).

2.2.4.7 Antikanker

Ekstrak alkohol dari daun kemangi memiliki pengaruh regulasi pada enzim metabolisme karsinogen seperti sitokrom P-450, sitokrom-b5, *aryl hydrocarbon hydroxylase* dan *glutathione-S-transferase* (GST), yang penting dalam detoksifikasi dari karsinogen dan mutagen (Madhuri dan Pandey, 2010). Telah dilaporkan aktivitas antikanker dari tanaman kemangi terhadap kultur sel fibrosarkoma manusia (Karthikeyan *et al.*, 1999). Ekstrak alkohol dari daun kemangi telah terbukti memiliki efek inhibisi pada papiloma kulit yang diinduksi secara kimia pada tikus (Uma dan Gonasoundari, 1995). Aktivitas serupa juga diamati pada eugenol, senyawa flavonoid yang ada pada berbagai tanaman, termasuk kemangi (Sukumaran *et al.*, 1994). Pengobatan oral dari pasta daun segar kemangi memiliki kemampuan untuk mencegah kejadian dini karsinogenesis pada mukosa pipi yang diinduksi DMBA (Kathiresan *et al.*, 1999). Ekstrak daun dari kemangi menghalangi atau menekan kejadian yang berhubungan dengan karsinogenesis melalui penghambatan aktivasi metabolik dari karsinogen (Prashar *et al.*, 1998).

2.2.4.8 Efek pada Sistem Saraf Pusat (SSP)

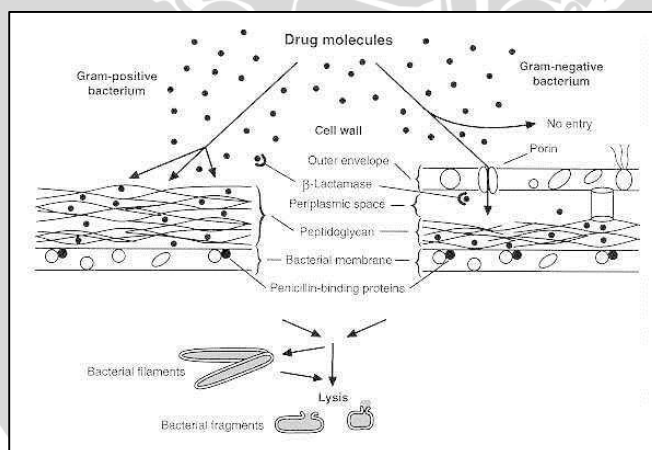
Berbagai ekstrak dari batang, daun dan kalus batang diuji untuk mengetahui adanya aktivitas antikonvulsan dengan model *electroshock* maksimal yang menggunakan *phenytoin* sebagai standar. Diamati bahwa ekstrak etanol dan kloroform dari batang, daun dan kalus batang efektif dalam mencegah konvulsi tonik yang diinduksi melalui *transcorneal electroshock*. Ekstrak etanol dari daun kemangi memperpanjang waktu hilangnya reflek pada tikus akibat *pentobarbital*, serta menurunkan waktu pemulihan dan keparahan derajat

konvulsi akibat *electroshock* (Pattanayak et al., 2010).

2.2.5 Cara Kerja Antimikroba

2.2.5.1 Menghambat Sintesa Dinding Sel

Bakteri diklasifikasikan sebagai organisme Gram positif dan Gram negatif berdasarkan karakteristik pewarnaan. Dinding sel bakteri Gram positif mengandung peptidoglikan dan *teichoic acid*, dan bakteri mungkin dapat dikelilingi oleh protein atau amplop polisakarida atau tidak. Sedangkan dinding sel bakteri Gram negatif mengandung peptidoglikan, lipopolisakarida, lipoprotein, fosfolipid, dan protein. Tempat serangan kritikal dari agen anti dinding sel adalah pada lapisan peptidoglikan. Lapisan ini bersifat esensial terhadap *survival* bakteri pada lingkungan hipotonik: kehilangan atau kerusakan pada lapisan ini merusak rigiditas dinding sel bakteri, yang berujung pada kematian (Neu dan Gootz, 1996).



Gambar 2.5 Dinding luar bakteri Gram positif dan Gram negatif

Agen antimikroba berdifusi dengan mudah pada dinding luar longgar bakteri Gram positif, namun harus melalui terowongan sempit porin pada bakteri Gram negatif. (Neu dan Gootz, 1996).

2.2.5.2 Mengganggu Fungsi Membran Sitoplasma

Membran biologis tersusun secara mendasar oleh lipid, protein, dan lipoprotein. Membran sitoplasma berperan sebagai barier difusi untuk air, ion, nutrisi, dan sistem transport. Kebanyakan peneliti sekarang percaya bahwa membran adalah matriks lipid dengan protein globular yang terdistribusi secara acak untuk penetrasi menembus lipid bilayer. Sejumlah agen antimikroba dapat menyebabkan disorganisasi dari membran. Agen-agen ini kemudian dapat dibagi menjadi kationik, anionik, dan netral. Komponen yang paling terkenal adalah *polymyxin B* dan *colistimethate (polymyxin E)* (Neu dan Gootz, 1996). Molekul L-Dab yang terkandung di dalam *polymyxin* bermuatan positif, sedangkan lipopolisakarida (LPS) yang berada pada dinding sel bakteri Gram negatif, bermuatan negatif. *Polymyxin* memiliki afinitas yang lebih tinggi pada molekul LPS luar membran sel dari bakteri Gram negatif daripada kation divalen seperti magnesium (Mg^{2+}) dan kalsium (Ca^{2+}) yang secara normal menstabilisasi molekul LPS. Hubungan awal *polymyxin* dengan membran bakteri terjadi melalui interaksi elektrostatis antara polipeptida kationik dan molekul anionik LPS pada luar membran bakteri Gram negatif. *Polymyxin* menggeser magnesium (Mg^{2+}) dan kalsium (Ca^{2+}), dari LPS yang bermuatan negatif, sehingga terjadi gangguan lokal pada luar membran. Hasil dari proses ini mengakibatkan peningkatan permeabilitas dari amplop sel yang terdiri dari dinding sel dan membran sitoplasma, kebocoran isi sel dan pada akhirnya kematian sel (Davis *et al.*, 1971). *Polymyxin* secara nyata tidak dapat digunakan sebagai agen sistemik karena ikatannya pada berbagai ligan pada jaringan tubuh. Dan juga *polymyxin* merupakan toksin poten untuk ginjal dan sistem saraf. *Gramicidin* juga antibiotik membran aktif yang tampaknya bekerja dengan memproduksi porus aqueous

pada membran, yang juga hanya digunakan secara topikal (Neu dan Gootz, 1996).

2.2.5.3 Menghambat Sintesa Asam Nukleat

Ada berbagai enzim yang terlibat dalam proses sintesa asam nukleat yang berpotensi sebagai target terapeutik, meliputi sintesa basa purin dan pirimidin, pelepasan untai DNA, dan polimerase DNA atau RNA. Nukleotida adalah penyusun dasar dari DNA dan RNA, yang terdiri dari basa purin adenin dan guanin, dan basa pirimidin sitosin, urasil (RNA saja) dan timin (DNA saja). Basa tersebut dapat diproduksi melalui sintesa *de novo* atau melalui daur ulang. Nukleosida diperlukan untuk mentranslasikan DNA menjadi RNA untuk ekspresi gen, dan nukleotida dibutuhkan untuk proses replikasi DNA saat pembelahan sel. Kehilangan basa purin dan pirimidin akan mencegah proses esensial ini terjadi dan berujung pada kematian sel (Dorman dan Corcoran, 2009).

Dalam kebutuhan proses replikasi DNA, kedua untai DNA butuh dilepaskan. Hal ini dicapai melalui aksi enzim helikase. Bersamaan dengan enzim helikase, grup enzim lainnya yaitu topoisomerase dapat memotong satu untai (tipe I) atau dua untai (tipe II) DNA untuk mengurangi ketegangan belitan untai DNA yang terbentuk dibalik tempat replikasi. Inhibisi pelepasan untai DNA dapat mencegah atau menghentikan replikasi, yang berujung pada kematian sel (Dorman dan Corcoran, 2009).

Polimerase adalah famili enzim yang digunakan untuk mereplikasi DNA, memproduksi RNA mesenger dari DNA, atau mereversi transkripsi DNA dari RNA pada virus. Polimerase juga terlibat dalam memastikan ketepatan kode genetik ketika replikasi DNA. Dari masing-masing proses di atas, terlibat

berbagai enzim dan protein. Enzim spesifik bervariasi antar organisme, terutama bila dibandingkan antar mamalia, protozoa, bakteri, dan virus. Keberagaman enzim antar organisme ini berkontribusi terhadap pendekatan penggunaannya sebagai target terapeutik karena adanya potensial untuk menarget enzim secara selektif dari organisme spesifik (Dorman dan Corcoran, 2009).

2.2.5.4 Menghambat Metabolisme Sel Bakteri

Banyak dari agen sintetik kemoterapeutik (antibiotik sintetik) merupakan inhibitor kompetitif dari metabolit esensial atau faktor pertumbuhan yang dibutuhkan dalam metabolisme bakteri. Oleh karena itu, agen antimikroba tipe ini kadang-kadang disebut sebagai anti-metabolit atau analog *growth factor*, semenjak antibiotik ini dirancang secara spesifik untuk menghambat jalur esensial metabolik pada bakteri patogen. Pada level kimia, inhibitor kompetitif secara struktural serupa dengan metabolit faktor pertumbuhan bakteri, namun tidak memenuhi fungsi metaboliknya di dalam sel. Beberapa bersifat bakteriostatik dan beberapa bakterisidal. Kerja toksisitasnya yang selektif berdasar pada jalur bakteri yang tidak terdapat pada manusia (Todar, 2012).

Enzim yang ditemukan diluar sel dikenal sebagai enzim ekstraseluler. Enzim ini bekerja dengan 2 tujuan: untuk membiarkan mikroba mendapatkan energi dan nutrisi dari polimer kompleks, dan juga mengkatalisa perputaran materi organik di ekosistem. Enzim ekstraselular penting dalam degradasi makromolekul seperti selulose polimer tanaman. Makromolekul harus dipecah menjadi subunit yang lebih kecil diluar sel agar terjadi transpor subunit yang lebih kecil ke dalam sel. Degradasi baik oleh enzim internal maupun ekstraseluler akan berhenti pada tahap manapun jika enzim yang dibutuhkan tidak ada. Tipe kedua

dari degradasi inkomplit adalah kometabolisme, dimana oksidasi parsial dari substrat terjadi, namun energi yang didapat dari oksidasi tidak digunakan untuk mendukung pertumbuhan bakteri (Marier *et al.*, 2009).

Fosforilasi oksidatif adalah jalur metabolik yang menggunakan energi yang dilepaskan oleh oksidasi nutrisi untuk memproduksi adenosin trifosfat (ATP). Meskipun berbagai kehidupan di dunia menggunakan berbagai nutrisi yang berbeda-beda, hampir semua kehidupan menggunakan fosforilasi oksidatif untuk menghasilkan ATP, molekul yang mensuplai energi untuk metabolisme. Selama fosforilasi oksidatif, elektron ditransfer dari pendonor elektron ke penerima elektron, dalam reaksi redoks. Reaksi redoks ini melepaskan energi, yang digunakan untuk membentuk ATP. Pada eukariot, reaksi redoks ini dilakukan oleh serangkaian protein kompleks di dalam mitokondria, sedangkan pada prokariot, protein ini terletak pada permukaan dalam membran sel. Serangkaian protein ini disebut rantai transpor elektron. Enzim yang bekerja pada jalur metabolisme ini juga adalah target dari berbagai obat dan racun yang menghambat aktivitasnya (Mitchell dan Moyle, 1967).

Besi merupakan elemen esensial untuk pertumbuhan bakteri dan jamur. Sehingga, membatasi jumlah besi yang tersedia menjadi dasar dalam menghambat pertumbuhan bakteri (Bezkorovainy, 1980; Lewin, 1984).

2.2.6 Uji Kepekaan Terhadap Antimikroba in Vitro

2.2.6.1 Metode Dilusi Tabung

Cara ini digunakan untuk menentukan KHM (Kadar Hambat Minimal) dan KBM (Kadar Bunuh Minimal) dari obat anti mikroba. Tes ini dikerjakan dengan menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi media cair dan sejumlah tertentu

set mikroba 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 (Kadar Hambat Minimal) dari obat. Selanjutnya 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 (Kadar Bunuh Minimal) dan obat terhadap bakteri uji. Untuk menentukan KHM obat, dapat juga dengan cara menggunakan medium agar padat yang disebut dengan metode *E test* (Dzen *et al.*, 2003).

2.2.6.2 Metode Dilusi Agar

Metode dilusi agar merupakan metode alternatif untuk mengetahui kadar hambat minimal (KHM) dari suatu mikroba. Akan tetapi metode ini tidak dapat digunakan untuk menentukan kadar bunuh minimum (KBM). Prinsip metode ini sama dengan metode dilusi tabung, pada metode dilusi agar perlakuan diberikan dengan cara mencampurkan larutan antimikroba yang sudah diencerkan secara serial kedalam nutrient agar yang masih cair dengan perbandingan konsentrasi tertentu, yang kemudian campuran tersebut dibiarkan hingga agar mulai memadat. Setelah agar memadat, lakukan inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Keesokan harinya, setelah dipastikan tidak ada pertumbuhan bakteri kontaminasi, inokulasikan bakteri dalam bentuk tetesan (1 tetes sama dengan 10 µl atau 10⁴ CFU) pada permukaan agar (Baron dkk, 1994). Kadar hambat

minimum dari sebuah antibiotika digunakan untuk mengetahui sensitivitas dari mikroba terhadap antibiotika. Nilai KHM berlawanan dengan sensitivitas mikroba yang diuji. Semakin rendah nilai KHM dari sebuah antibiotika, maka menunjukkan sensitivitas dari bakteri yang semakin besar (Jawetz dkk, 1996). Pengertian kadar hambat minimal (KHM) itu sendiri pada metode dilusi agar adalah konsentrasi terendah dari antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri yang ditandai dengan tidak didapatkannya pertumbuhan koloni bakteri pada media (Bailey *et al.*, 1994).

2.2.6.3 Metode Difusi Cakram

Prinsip pada metode difusi cakram adalah sebagai berikut. Obat dijenuhkan kedalam kertas saring (cakram kertas). Cakram kertas yang mengandung obat tertentu ditanam pada media perbenihan agar padat yang telah dicampur dengan mikroba yang diuji, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Selanjutnya diamati adanya area (zone) jernih disekitar cakram kertas yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan mikroba (Dzen *et al.*, 2003).

Untuk mengevaluasi hasil uji kepekaan tersebut (apakah isolat mikroba sensitif atau resisten terhadap obat), dapat dilakukan dua cara seperti berikut (Dzen *et al.*, 2003):

1. Cara Kirby Bauer, yaitu dengan cara 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 *sensitive*, *sensitive intermediat* dan *resistant*.

2. Cara Joan-Stokes, yaitu dengan cara 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 .

Kriteria pada metode Joan-Stokes adalah sebagai berikut:

- a. Sensitif: radius zona inhibisi kuman tes lebih luas, sama dengan atau lebih kecil tetapi tidak lebih dari 3 mm terhadap kontrol.
- b. Intermediet: radius zona inhibisi kuman tes lebih besar dari 3 mm, tetapi dibanding kontrol lebih kecil dari 3 mm.
- c. Resisten: radius zona inhibisi kurang atau sama dengan 3 mm (Dzen *et al.*, 2003).

