

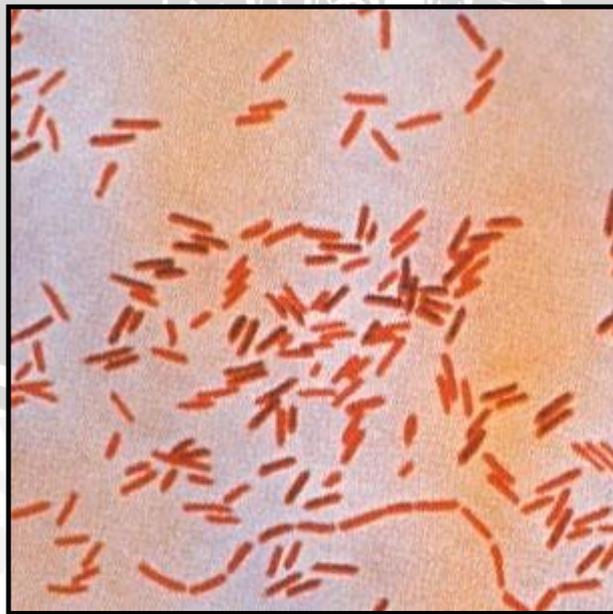
BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Salmonella* Typhi2.1.1 Taksonomi *Salmonella* Typhi

Taksonomi *Salmonella* Typhi adalah sebagai berikut: (Todar, 2008)

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gamma Proteobacteria
Order	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Salmonella</i>
Spesies	: <i>Salmonella enterica</i> subspecies <i>enterica</i> serotipe Typhi atau <i>Salmonella</i> Typhi



Gambar 2.1. *Salmonella* Typhi, pewarnaan Gram negatif, berbentuk batang (Todar, 2008).

2.1.2 Morfologi *Salmonella Typhi*

Salmonella Typhi merupakan bakteri gram negatif. Bakteri ini berbentuk batang dengan diameter 0,7-1,5 μm dan panjangnya 2-5 μm . *Salmonella Typhi* merupakan bakteri fakultatif anaerob (mampu bertahan hidup dengan atau tanpa oksigen). Motilitas bakteri ini bergantung pada *peritrichous flagella* (Hammack, 2012). *Salmonella* resisten terhadap bahan kimia tertentu, misalnya hijau brilian, natrium tetrasetat, natrium deoksikolat, yang dapat menghambat bakteri enterik lain. Oleh karena itu, senyawa-senyawa tersebut berguna untuk inklusi isolat salmonella dari feses pada medium (Brooks *et al.*, 2007). Bakteri ini tidak berspora, tidak berkapsul, memfermentasikan glukosa, mereduksi nitrat menjadi nitrit, dan mensintesis flagella peritrikus dalam keadaan motil (Fox *et al.*, 2006).

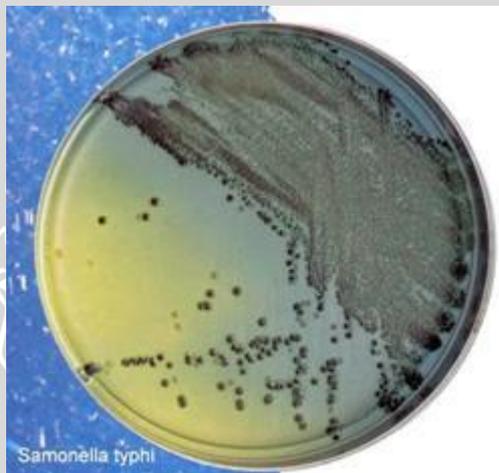
Salmonella digolongkan kedalam bakteri gram negatif sebab *salmonella* adalah jenis bakteri yang tidak dapat mempertahankan zat metal ungu pada pewarnaan gram dan semua gram negatif berwarna merah atau merah muda. Sifat patogen bakteri ini berkaitan dengan komponen pada dinding sel gram negatif terutama lapisan lipopolisakarida atau endotoksin (Hammack, 2012).

2.1.3 Diagnosis Laboratorik *Salmonella Typhi*

Identifikasi *Salmonella Typhi* secara garis besar yaitu jika ada produksi *non-lactose*, tampak koloni pucat pada agar *MacConkey*. Pada medium *Bismuth Sulfite Agar* tampak *black jet colonies* (koloni hitam). Anaerogenik (fermentasi berupa glukosa, manitol, dan maltosa, hanya membentuk asam tanpa ada gas), motil, katalase positif, uji oksidasi negatif, H_2S positif, indole negatif serta mengalami aglutinasi positif dengan antiserum tifoid O (group D) (Parija, 2009).



Gambar 2.2. *Salmonella Typhi*, kultur pada *MacConcey Agar*, *Pale colourless colonies* (E. Jawetz *et al.*, 2002).



Gambar 2.3. *Salmonella Typhi*, kultur pada *Bismuth Sulfite Agar*, tampak *black jet colonies* (E. Jawetz *et al.*, 2002).

2.1.3.1 Reaksi Serologis

Teknik serologis digunakan untuk mengidentifikasi biakan yang tidak diketahui dengan serum yang telah diketahui dan juga dapat menentukan titer antibodi pasien yang tidak diketahui penyakitnya. Ada 2 tes aglutinasi yang dapat dilakukan yaitu tes aglutinasi pada slide dan tes aglutinasi pengenceran tabung (tes widal) (Brooks *et al.*, 2007).

Tes Aglutinasi pada slide, pada pemeriksaan ini serum yang telah diketahui dan dibiakan dengan serum yang tidak diketahui dicampur diatas slide. Bila terjadi gumpalan, dapat dilihat dalam beberapa menit. Terdapat alat yang meng-aglutinasi dan menentukan serogroup dari *Salmonella* melalui antigen O-nya: A, B, C₁, C₂, D, dan E yang dijual bebas di pasaran. Serogroup D merupakan serogroup *Salmonella* Typhi (Brooks *et al.*, 2007). Jika suspek *Salmonella* Typhi adalah bila tidak ada gas yang dibentuk dari glukosa, dan identifikasi *Salmonella* Typhi ditegakkan oleh adanya aglutinasi dengan serum antigen D (Parija, 2009).

Tes aglutinasi pengenceran tabung (tes widal), aglutinasi serum meningkat tajam selama minggu kedua dan ketiga pada infeksi *Salmonella*. Sedikitnya, 2 spesimen serum yang diambil dengan selang waktu 7-10 hari, dibutuhkan untuk membuktikan adanya kenaikan titer antibodi. Tes widal adalah untuk menegakan diagnosa terhadap infeksi yang disebabkan oleh *Salmonella* Typhi (demam tifoid). Pengenceran serial (dua kali lipat) dari serum yang tidak diketahui diuji dengan antigen *Salmonella* (Brooks *et al.*, 2007). Prinsipnya adalah reaksi aglutinasi, yaitu terjadinya penggumpalan antara antibodi di dalam serum penderita dengan reagen yang berisi antigen H dan antigen O dari kuman *Salmonella* Typhi (Parija, 2009).

Interprestasi hasilnya adalah sebagai berikut: (Brooks *et al.*, 2007)

1. Titer O, yang tinggi atau meningkat ($\geq 1:160$) menandakan adanya infeksi aktif.
2. Titer H, yang tinggi atau meningkat ($\geq 1:160$) menunjukkan riwayat imunisasi atau infeksi di masa lampau.

3. Titer antibodi yang tinggi terhadap antigen Vi timbul pada beberapa carrier.

Hasil pemeriksaan serologis pada infeksi *Salmonella* harus diinterpretasikan dengan hati-hati. Kemungkinan adanya antibodi yang bereaksi saling silang, membatasi penggunaan serologi dalam diagnosis infeksi *Salmonella* (Brooks *et al.*, 2007).

2.1.3.2 Reaksi Biokimia

Salmonella Typhi merupakan bakteri gram negatif yang bersifat fakultatif anaerob. Suhu optimal tumbuh adalah 37°C. D-Glukosa dan karbohidrat lainnya dikatabolisme sehingga memproduksi asam dan gas (Bergey's *et al.*, 1994).

Selanjutnya dilakukan tes IMViC (indole, methyl-red, Voges-proskauer, citrate), tes urease, dan tes motilitas. Tes biokimia menunjukkan oksidase negatif, katalase positif, indole dan Voges-Proskauer negatif, methyl red dan Simmons citrate positif. Tes lain menunjukkan lysine dan ornithine decarboxylase positif dan bervariasi pada reaksi arginin dihidrolase. *Salmonella* Typhi memproduksi H₂S, tidak menghidrolisis urea, tumbuh pada KCN (potasium sianida) dan bervariasi dalam penggunaan malonate. Bakteri ini memproduksi nitrat. Karbohidrat yang biasa difermentasikan meliputi L-arabinose, maltose, D-manitol, L-rhamnose, D-sorbitol, dan D-xylose (Bergey's *et al.*, 1994).

2.1.3.3 Perbenihan

2.1.3.3.1 Spesimen

Darah yang diperlukan untuk kultur harus diambil secara berulang. Jika terdapat demam enterik dan septisemia, kultur darah biasanya positif

pada minggu pertama penyakit. Kultur urin biasanya positif dalam minggu kedua (Santoso *et al.*, 2010).

Kultur sumsum tulang sangat sensitif, sebagaimana di beberapa kasus positif tapi bisa saja kultur darah negatif. Hasil positif juga bisa dipengaruhi oleh konsumsi antibiotik (Parija, 2009).

Spesimen tinja juga harus diambil berulang. Pada demam enterik hasil positif didapat setelah dua atau tiga minggu penyakitnya. Kultur positif berasal dari spesimen *duodenal drainage* menunjukkan adanya *Salmonella* dalam saluran cerna (Santoso *et al.*, 2010). Kultur dari spesimen darah sering digunakan dalam prosedur penetapan diagnosis demam tifoid (Parija, 2009).

2.1.3.3.2 Metode Bakteriologi untuk Isolasi *Salmonella*

Pembiakan pada medium diferensial, yaitu menggunakan medium EMB (*Eosin Methylene Blue*), MacConkey, atau deoksikolat memungkinkan deteksi cepat organisme yang tidak memfermentasikan laktosa (*Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, dan lain-lain). Medium ini juga dapat menghambat organisme gram positif. Pada agar MacConcey, *Salmonella* akan memproduksi *pale colourless colonies* (koloni berwarna pucat), karena tidak memfermentasikan laktosa (Brooks *et al.*, 2007; Santoso *et al.*, 2010; Parija, 2009).

Medium *Bismuth Sulfite* (*Wilson and Blair's bismuth sulfite*) memungkinkan deteksi cepat khusus *Salmonella* yang membentuk koloni hitam atau *black jet colony* disertai *metallic sheen* (karena produksi H₂S) merupakan pembiakan pada medium selektif (Santoso *et al.*, 2010; Parija, 2009).

Pembiakan medium yang diperkaya, menggunakan (biasanya) spesimen tinja yang ditanam pada medium selenit F atau kaldu tetrasonat. Kedua medium tersebut menghambat replikasi flora normal usus dan memungkinkan multiplikasi *Salmonella*. Setelah inkubasi selama 1-2 hari, kemudian ditanam pada medium diferensial dan medium selektif (Santoso *et al.*, 2010).

XLD (*Xylose Lysine Deoxycholate* agar) adalah medium selektif untuk mengisolasi *Salmonella Spp.* Pada medium ini akan menghasilkan *pink colonies* dengan *black centers* dimana ini merupakan hasil dari produksi H₂S (Parija, 2009). Pada medium selektif *Salmonella-Shigella Agar* (SSA), pertumbuhan *Salmonella* dan *Shigella* melebihi *Enterobacteriaceae* lain (Brooks *et al.*, 2009).

2.1.4 Struktur Antigen *Salmonella Typhi*

Salmonella Typhi memiliki antigen somatik O, flagella A, capsular Vi (Bergeys *et al.*, 1994.). Antigen capsular Vi peranannya kecil dalam klasifikasi, tetapi mempunyai kepentingan patogenitas. Antigen Vi dapat mencegah destruksi intraseluler didalam sel hospes. Antigen ini jarang ditemukan pada serotipe *Salmonella* lain (Santoso *et al.*, 2010).

Antigen O dan H adalah antigen utama yang digunakan untuk penggolongan *Salmonella*. Antigen O mirip dengan antigen O dari *Enterobacteriaceae* yang lain, tetapi antigen H berbeda karena adanya mekanisme *diphase*. Antigen H dapat muncul sebagai salah satu atau dua dari fase antigenik mayor yaitu fase-1 yang merupakan fase yang spesifik, atau fase-2 yang merupakan fase nonspesifik. Antigen H fase-1 dimiliki oleh hanya beberapa organisme, dan bereaksi hanya dengan antisera homolog, sedangkan antigen H

fase-2 dimiliki oleh banyak mikroorganisme dan bereaksi dengan antisera heterolog (Santoso *et al.*, 2010).

Antigen O merupakan rantai samping dari unit-unit gula yang diproyeksikan dari lapisan terluar lipopolisakarida dinding sel bakteri (Parija, 2009). Antigen ini bersifat hidrofilik dan memungkinkan bakteri untuk membentuk suspensi yang stabil dan homogen pada larutan salin (Wray *et al.*, 2000). Antigen O bersifat tahan panas, tidak terpengaruh oleh pemanasan pada suhu 100°C selama 2-5 jam, stabil dalam alkohol, pada perlakuan dengan 96% etanol pada suhu 37°C selama 4 jam (Parija, 2009).

Antigen H terdapat pada protein flagella. Hanya organisme yang berflagella yang memiliki antigen H. Antigen H pada *Salmonella* adalah antigen yang spesifik, karena dapat berubah-ubah menjadi antigen H fase 1 atau fase 2. Organisme tersebut dapat menggunakan antigen ini untuk mengelabui respon imun (Parija, 2009).

2.1.5 Penentu Patogenitas *Salmonella* Typhi

Salmonella adalah organisme yang memproduksi berbagai faktor virulensi. Termasuk antigen permukaan, faktor-faktor yang berperan pada invasi, endotoksin, sitotoksin, dan enterotoksin. Peranan faktor virulensi tersebut berbeda-beda dalam patogenesis infeksi *Salmonella*, tergantung pada serotipe *Salmonella* yang menyebabkan infeksi, karena *Salmonella* dapat menimbulkan sindroma yang berbeda pada hospes yang lain. Misalnya *Salmonella* Typhi menimbulkan penyakit pada manusia, sedangkan pada hewan tidak menimbulkan penyakit bila diberikan peroral. *Salmonella* memiliki kemampuan untuk hidup secara intraseluler dan juga mampu tumbuh dalam lingkungan ekstraseluler

maka organisme ini disebut sebagai *facultative intraceluller parasites* (Santoso *et al.*, 2010).

2.1.5.1 Faktor Permukaan

Salmonella Typhi dapat menyebabkan penyakit pada manusia, tetapi tidak pada hewan apabila rute infeksi melalui peroral. Respon hospes yang berbeda ini kemungkinan disebabkan perbedaan kemampuan berbagai organisme tersebut untuk hidup secara intraseluler dalam sel fagosit. Kemampuan *Salmonella* untuk menempel pada reseptor sel hospes kemungkinan karena adanya *O antigenic side chains*, atau pada serotipe Typhi oleh karena adanya antigen Vi. Perbedaan dalam kecepatan fagositosis juga dipengaruhi oleh adanya antigen Vi. Fisiologi dari antigen Vi belum ditentukan, namun telah ditunjukkan bahwa galur Typhi dengan antigen Vi tidak di fagositosis oleh sel-sel PMN secepat organisme tanpa antigen Vi, karena penurunan ikatan C3b oleh antigen Vi (Santoso *et al.*, 2010).

Pada *Salmonella Typhi* disebutkan adanya fimbria tipe 1 dan diduga satu-satunya molekul adhesin pada *Salmonella Typhi*. Namun demikian, suatu penelitian yang lain menyebutkan bahwa *Salmonella Typhi* memiliki adhesin lain yang bukan fimbria dan adhesin tersebut berasal dari *Outer Membran Protein (OMP)* dengan berat molekul sekitar 36kDa, yang kemudian disebut AdhO36. AdhO36 ini bersifat imunogenik dan mampu menginduksi respon imun mukosal dengan terbentuknya sisa protektif pada menciit (Santoso *et al.*, 2010).

2.1.5.2 Endotoksin

Endotoksin bertanggung jawab atas banyaknya manifestasi sistemik dari penyakit yang disebabkan oleh *Salmonella* (Parija, 2009). Endotoksin berperan pada patogenesis infeksi *Salmonella*, terutama pada stadium bakteremia dari demam enterik. Dalam hal ini, endotoksin bertanggung jawab atas terjadinya demam yang tampak pada penderita penyakit ini. Endotoksin (senyawa LPS) pada awalnya berikatan dengan protein tertentu dalam sirkulasi, kemudian mengadakan interaksi dengan reseptor pada makrofag dan monosit serta sel-sel RES. IL-1, TNF, dan sitokin yang lain dilepaskan, serta komplemen dan rangkaian koagulasi diaktifkan (Santoso *et al.*, 2010).

2.1.5.3 Enterotoksin

Enterotoksin peranannya dalam patogenesis penyakit belum terlalu jelas. Enterotoksin pada *Salmonella* mirip dengan enterotoksin yang ada pada *E. Coli*. Target utama dari enterotoksin *E. Coli* adalah kolon, sedangkan enterotoksin pada *Salmonella* adalah usus kecil (Santoso *et al.*, 2010).

2.1.5.4 Sitotoksin

Salmonella juga memproduksi sitotoksin yang berbeda dengan enterotoksin. Toksin ini tampaknya berperan pada membran terluar bakteri, dimana toksin ini berperan penting dalam invasi dan pertahanan terhadap destruksi sel, namun serotipe Typhi memproduksi sitotoksin paling sedikit. Perbedaan ini mungkin disebabkan oleh perbedaan spektrum penyakit yang disebabkan oleh berbagai serotipe *Salmonella*. Mekanisme kerja dari

sitotoksin ini adalah sebagai penghambat sintesis protein pada biakan sel Vero (Santoso *et al.*, 2010).

2.1.5.5 Daya Invasi

Salmonella yang virulen bisa menembus lapisan sel epitel usus halus. Namun demikian, *Salmonella* tidak hanya tinggal dalam lapisan epitel, melainkan bisa mengadakan penetrasi ke jaringan subepitelial. Bukti-bukti baru menunjukkan bahwa organisme ini menyintesis protein-protein baru bila ditumbuhkan bersama-sama sel mamalia dan protein baru ini diperlukan untuk perlekatan dan penetrasi pada mamalia tersebut. Kemampuan untuk tetap hidup dalam makrofag disebabkan oleh produk protein yang bisa mempertahankan diri terhadap mekanisme pembunuhan bergantung oksigen maupun yang tidak bergantung oksigen dari sel fagosit profesional. Mekanisme yang bergantung oksigen termasuk produksi hidrogen peroksida dan superoksida, sedangkan yang tidak bergantung oksigen termasuk produksi bahan antibakterial, yaitu suatu protein kationik yang disebut defensins. Juga enzim-enzim misalnya *lysozomal enzymes*. Kontrol genetik dari protein yang memproteksi bakteri terhadap defensins terletak pada *phoP locus* (Santoso *et al.*, 2010).

2.1.6 Patogenesis Infeksi *Salmonella* Typhi

Tingkat keparahan penyakit pada individual yang terinfeksi oleh *Salmonella* bergantung pada faktor-faktor virulensi dari strain yang menginfeksi serta pada host manusia. Contohnya pada orang di usia ekstrim seperti orang sangat muda atau sangat tua berada pada resiko meningkat pada keadaan bakterimia. Sama

halnya dengan orang yang imunitas tubuhnya rendah, keganasan, dan penyakit lupus juga berisiko tinggi terhadap bakterimia (Parija, 2009).

Bakteri *Salmonella* Typhi masuk ke dalam tubuh manusia melalui oral yaitu dengan cara ditularkan melalui makanan yang terkontaminasi *Salmonella* Typhi. Bakteri yang masuk sebagian akan dimusnahkan dalam lambung oleh asam lambung tetapi ada sebagian yang lolos menuju usus dan berkembang biak. Jika respon imun humoral mukosa usus (IgA) kurang baik, maka bakteri ini akan menembus sel epitel (terutama sel M, dimana sel M atau microfold cell merupakan epitel usus yang banyak mengandung limfosit, sedikit sel goblet, berbentuk kuboid serta memiliki lipatan-lipatan atau microfold dan bukan sel mikrovili) dan selanjutnya menuju lamina propria. Di lamina propria bakteri berkembang biak dan kemudian difagosit oleh makrofag. Di dalam makrofag sendiri, bakteri terus berkembang biak dan menuju plak peyer ileum distal, lalu menuju aliran kelenjar getah bening mesentrika, duktus torasikus dan kemudian masuk ke dalam sirkulasi darah (bakterimia pertama bersifat asimtomatik) dan menyebar ke seluruh organ retikuloendothelial tubuh (terutama hati dan limpa). Di organ-organ tersebut bakteri akan keluar dari makrofag dan berkembang biak di luar sel dan masuk ke sirkulasi darah (bakterimia kedua yang bersifat simtomatik). Di dalam hati, bakteri masuk ke kandung empedu, berkembang biak, dan bersama cairan empedu diekskresikan ke dalam lumen usus, sebagian bakteri akan dikeluarkan melalui feses dan sebagian kembali menembus usus dan masuk ke sirkulasi darah. Kemudian terjadi pelepasan mediator inflamasi dan kemudian akan menimbulkan gejala reaksi inflamasi sistemik akibat makrofag yang hiperaktif. Selain menimbulkan gejala inflamasi sistemik, hiperreaktif makrofag juga menyebabkan induksi reaksi hipersensitivitas tipe lambat, hiperplasia jaringan organ dan nekrosis

organ. Perdarahan saluran cerna dapat terjadi karena adanya nekrosis dan hiperplasi akibat akumulasi sel-sel mononuclear di dinding usus. Proses patologis jaringan limfoid ini dapat berkembang hingga menembus lapisan mukosa dan otot dan dapat mengakibatkan perforasi (Widodo, 2009).

2.1.7 Manifestasi Klinis *Salmonella*

Salmonella menimbulkan tiga macam penyakit utama pada manusia yaitu demam enterik (demam tifoid), bakterimia dengan lesi fokal, dan enterokolitis (Murray *et al.*, 2013).

2.1.7.1 Demam Enterik (Demam Tifoid)

Karier *Salmonella* Typhi merupakan satu-satunya sumber dari organisme ini. Karier *Salmonella* Typhi adalah penderita yang baru sembuh dari sakit yang mengekskresikan mikroorganisme ini untuk waktu yang pendek atau pada kronik karier dapat mengeluarkan organisme ini sampai lebih dari satu tahun. Kebanyakan karier *Salmonella* Typhi adalah wanita (Chaurasia *et al.*, 2009).

Salmonella Typhi yang tertelan akan mencapai usus halus, masuk ke aliran limfatik dan kemudian masuk ke aliran darah. Organisme ini dibawa oleh darah ke berbagai organ, termasuk usus. *Salmonella* Typhi bermultiplikasi di jaringan limfoid usus dan disekresikan di dalam feses. *Salmonella* Typhi menimbulkan gejala demam, malaise, sakit kepala, konstipasi, bradikardi, dan mialgia (Brooks *et al.*, 2007).

2.1.7.2 Bakterimia dengan Lesi Fokal

Semua spesies *Salmonella* dapat menyebabkan bakterimia, dan yang tersering adalah *Salmonella* Choleraesuis, *Salmonella* Paratyphi, dan

Salmonella Typhi. Pasien anak-anak dan pasien geriatri serta pasien dengan keadaan HIV memiliki kemungkinan besar terkena keadaan bakterimia. Infeksi supuratif lokal seperti osteomyelitis, abscess, endocarditis, arthritis, dan meningitis dapat terjadi pada 10% pasien. (Greenwood *et al.*, 2012). Septisemia ditandai dengan demam, menggigil, anoreksia, dan anemia. Septisemia ini berhubungan dengan adanya osteomyelitis pada penderita dengan riwayat *sickle cell anemia*. Bakterimia kronik juga dapat dijumpai pada penderita dengan schistosomiasis (Santoso *et al.*, 2010).

2.1.7.3 Enterokolitis (Gastroenteritis)

Gastroenteritis atau enterokolitis merupakan infeksi pada kolon dan biasanya terjadi setelah 18-24 jam setelah masuknya organisme *Salmonella* (Santoso *et al.*, 2010). Infeksi *Salmonella* merupakan infeksi yang sering terjadi, biasanya disebabkan oleh serotipe *typhimurium* dan *enteritidis*. Delapan hingga 48 jam setelah tertelannya *Salmonella*, timbul mual, sakit kepala, muntah, dan diare hebat, dengan beberapa leukosit didalam feses (Brooks *et al.*, 2007). Umumnya penyakit ini bersifat sembuh secara spontan (*self limited*), berakhir setelah 2-5 hari. Pada kebanyakan kasus, penderitanya tidak memerlukan perhatian medis dan gejala-gejala tersebut sering disebut sebagai *stomach flu*. Pada kasus berat yang terjadi pada bayi dan orang tua, memerlukan perhatian akan kemungkinan terjadi dehidrasi dan ketidakseimbangan elektrolit (Santoso *et al.*, 2010). Gejala lain kadang disertai dengan keram perut, myalgia, dan nyeri kepala. Demam yang jarang melebihi 39°C, terjadi pada kira-kira setengah dari

pasien yang terinfeksi. Diagnosis laboratorik dibuat dengan mengisolasi *Salmonella* yaitu mengkultur menggunakan spesimen feses (Parija, 2009).

2.1.8 Diagnosis Penyakit Demam Tifoid

Selama minggu pertama infeksi, gejalanya adalah lethargi, demam, malaise dan nyeri-nyeri tubuh lain. Konstipasi lebih sering terjadi dari pada diare. Selama waktu ini, *Salmonella* Typhi mengadakan penetrasi ke dalam dinding usus dan menginfeksi sistem limfatik regional serta masuk ke peredaran darah dan menginfeksi sistem retikuloendothelial yang lain. Pada kedua tempat ini, *Salmonella* akan dimakan oleh sel monosit tapi tidak terbunuh (Santoso *et al.*, 2010).

Kemudian pada minggu kedua infeksi, *Salmonella* masuk kembali kedalam aliran darah, dan menyebabkan bakterimia yang kedua serta terjadi infeksi pada saluran empedu dan organ-organ lain. Penderita tampak sakit berat dengan panas tinggi 40°C dan sering disertai delirium (Santoso *et al.*, 2010). Kadang disertai malaise, bradikardi, dan myalgia. Demam meningkat sampai plateau yang tinggi dan terjadi pembesaran limfa dan hati. Meski jarang, pada beberapa kasus terlihat bintik-bintik merah (*rose spots*) yang timbul sebentar pada kulit abdomen atau dada. Ditemukan sel darah putih dengan jumlah normal atau menurun (Brooks *et al.*, 2007). Organisme kembali menginfeksi traktus intestinalis dari kandung empedu dan bisa menyebabkan nekrosis dari *peyer's patches* (Santoso *et al.*, 2010).

Setelah minggu ketiga, penderita tampak lelah dan masih panas, tetapi menunjukkan adanya perbiakan apabila tidak mengalami komplikasi. Komplikasi yang terjadi dapat berupa perforasi usus, perdarahan hebat, tromboflebitis, kolesistitis, pneumonia, dan pembentukan abses. Dengan terapi penunjang

beberapa pasien dapat sembuh dan sekitar 20% dari penderita akan mengalami kekambuhan, 2-10% dari penderita mengalami kematian (Santoso *et al.*, 2010).

Imunitas terhadap *Salmonella* Typhi biasanya menimbulkan imunitas dalam tingkat tertentu. Infeksi ulang biasanya dapat terjadi tetapi biasanya manifestasi klinisnya lebih ringan daripada infeksi yang pertama kali. Adanya antibodi terhadap O dan Vi dalam sirkulasi berhubungan dengan resistensi terhadap penyakit dan infeksi. Namun kekambuhan dapat terjadi dalam 2-3 minggu setelah penyembuhan meskipun telah terbentuk antibodi. Antibodi IgA sekretorik dapat mencegah penempelan pada epitel usus (Brooks *et al.*, 2007).

2.1.9 Pengobatan Infeksi *Salmonella* Typhi (Demam Tifoid)

Terapi antibakteri untuk infeksi *Salmonella* lini pertama adalah dengan menggunakan ampicilin, trimetoprim-sulfametoxazol, atau cephalosporin generasi ke-3 (Hawkey *et al.*, 2006). Selain itu, chloramphenicol juga merupakan obat pilihan untuk demam tifoid. Chloramphenicol diberikan secara per oral atau secara IV 25mg/kg sampai 14-21 hari (Fauci *et al.*, 2008). Pada saat ini mulai muncul strain yang resisten terhadap kloramfenikol, ampicilin, dan trimetropim-sulfametoxazol atau dikenal sebagai MDR-Typhi (Moehariono *et al.*, 2012). Pengobatan antibiotik untuk MDR-Typhi menggunakan golongan fluoroquinolon, *extended spectrum cephalosporin* dan azitromycin (Mastroeni *et al.*, 2006). Beberapa penderita karier kronik dapat diobati hanya dengan menggunakan antibiotik ampicilin yang dikombinasikan dengan probenecid atau dengan menggunakan ciprofoxacin (Domino, 2007).

2.1.10 *Salmonella* terhadap Resistensi dengan Beberapa Antibiotik

Resistensi terhadap banyak obat yang ditransmisikan secara genetik oleh plasmid berbagai bakteri enterik merupakan masalah pada infeksi *Salmonella*. Uji

sensitivitas merupakan pemeriksaan penunjang yang penting untuk memilih antibiotik yang sesuai (Brooks *et al.*, 2007).

Multidrug-Resistant Typhoid fever (MDRT) didefinisikan sebagai demam tifoid yang disebabkan oleh strain *Salmonella* Typhi yang resisten terhadap semua terapi lini pertama yaitu cholamphenicol, ampicillin, dan co-trimoxazole. Dan sebagian besar kasus ditemukan diantara wisatawan yang kembali dari daerah yang telah menjadi endemik terhadap MDR strain *Salmonella* Typhi (Zaki, 2011).

Mekanisme resistensi yang berkembang pada *Salmonella* Typhi terbagi menjadi 2 jalur mekanisme. Mekanisme yang pertama diperantarai oleh plasmid bakteri (*Plasmid-mediated mechanism*). Plasmid merupakan DNA ekstrakromosomal yang dapat bereplikasi secara autonom dan dapat ditemukan pada sel hidup. Plasmid dari kelompok ketidakcocokan (inc)HI1 merupakan vektor penting resistensi antibiotik pada *Salmonella* Typhi. Mekanisme yang kedua yaitu diperantarai oleh kromosom DNA (*Chromosomal DNA-mediated mechanism*). Pada proses tersebut terjadi mutasi pada regio DNA yang mengkode DNA-gyrase sehingga mengakibatkan gangguan pada proses masuknya antimikroba ke dalam sel karena terjadi perubahan dan fungsi dari sel target dari antimikroba terganggu. Sehingga kerja antimikroba pada sel sasaran dalam menghambat pertumbuhan bakteri juga tidak efektif. Namun, mekanisme lain seperti penurunan permeabilitas dan penghabisan aktif agen antimikroba juga mungkin terlibat (Zaki, 2011).

2.2 Daun Katuk (*Sauropus androgynus*)

Bahasa lokal tanaman katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) dikenal dengan nama *katuk* (Sunda, Melayu), *babing* atau *katukan* (Jawa), *simanis* (Minangkabau), *kerakur* (Madura). (Subekti, 2008).



Gambar 2.4. Daun Katuk (*Sauropus androgynus*), (Jeevan Jose *et al.*, 2009).

2.2.1 Taksonomi

Menurut Tjiptrosoepomo (2007), taksonomi tanaman katuk ialah;

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiosperma
Kelas	: Dicotyledoneae
Ordo	: Euphorbiales
Family	: Euphorbiceae
Genus	: <i>Sauropus</i>
Spesies	: <i>Sauropus androgynus</i> (L) Merr

2.2.2 Habitat, Distribusi, dan Penyebaran Katuk

Tanaman katuk merupakan tanaman yang telah lama dikenal masyarakat di negara Asia Barat dan Asia Tenggara. Penyebaran tanaman katuk ini dapat ditemukan di negara Malay Peninsula (Pahang, Kelantan), Philipina (Luzon, Mindoro), Cina, Vietnam, dan Indonesia. Di Indonesia penyebarannya terdapat di Pulau Jawa, Sumatera, Kalimantan, Sumbawa, Maluku, dan Ambon. (Setyowati, 1997).

Tumbuhan katuk mempunyai daya adaptasi yang luas terhadap lingkungan di daerah tropis, dapat tumbuh dan berproduksi dengan baik di daerah dataran rendah sampai dataran tinggi yang memiliki ketinggian antara 5–1.300 m di atas permukaan laut. Tumbuhan katuk masih dapat tumbuh di daerah yang memiliki ketinggian lebih dari 1.300 m di atas permukaan laut, tetapi dengan pertumbuhan yang agak lambat dan ukuran daun kecil-kecil sehingga produksi tanaman cenderung rendah. Lingkungan yang paling ideal untuk membudidayakan tanaman katuk adalah daerah yang mempunyai suhu udara berkisar antara 21–32°C dan curah hujan antara 750–2.500 mm/tahun (Rukmana dan Harahap, 2003).

2.2.3 Morfologi

Masyarakat Minangkabau menyebut katuk dengan nama *simani*. Selain menyebut katuk, masyarakat Jawa juga menyebutnya *katukan* atau *babing*. Sementara itu, masyarakat Madura menyebutnya *kerakur* dan orang Bali mengenalnya dengan *kayumanis*. Tanaman katuk sesungguhnya sudah dikenal nenek moyang kita sejak abad ke-16. Sampai sekarang, dikenal dua jenis tanaman katuk, yakni katuk merah dan katuk hijau. Katuk merah daunnya berwarna hijau kemerah-merahan. Jenis katuk ini banyak dijumpai di hutan belantara dan beberapa pehobi tanaman hias menanamnya sebagai tanaman hias. Sementara itu, katuk hijau merupakan jenis katuk yang kini banyak ditanam

untuk dimanfaatkan daunnya sebagai sayuran. Pertumbuhan daun katuk hijau lebih produktif dari pada katuk merah (Santoso, 2008).

Katuk termasuk tanaman berbentuk perdu berumpun dengan ketinggian 3-5 meter. Batangnya tumbuh tegak dan berkayu. Jika ujung batang dipangkas, akan tumbuh tunas-tunas baru yang membentuk percabangan. Daunnya kecil-kecil mirip daun kelor, berwarna hijau. Katuk termasuk tanaman yang rajin berbunga. Bunganya kecil-kecil, berwarna merah gelap sampai kekuning-kuningan, dengan bintik-bintik merah. Bunga tersebut akan menghasilkan buah berwarna putih yang di dalamnya terdapat biji berwarna hitam. Buah katuk muncul di sepanjang tangkai daun, berwarna putih, seukuran ujung kelingking, dan di dalamnya terdapat kotak-kotak yang berisi biji berwarna hitam (Santoso, 2008).

Adi (2007) melaporkan bahwa daun katuk berkhasiat sebagai anti inflamasi, obat demam, memperbanyak ASI, obat jerawat, obat bisul, obat borok, pembersih darah. Selain itu, secara tidak langsung dapat mengaktifkan fungsi jantung.

2.2.4 Kandungan Senyawa Aktif Daun Katuk

Daun katuk memiliki kandungan saponin, flavonoid, dan tanin.

2.2.4.1 Saponin

Berdasarkan struktur kimianya, saponin dikelompokkan menjadi tiga kelas utama yaitu kelas stereroid, kelas steroid alkaloid, dan kelas triterpenoid (Wallace *dkk.*, 2002). Saponin yang merupakan suatu glikosida banyak terdapat pada beberapa tanaman. Saponin ada pada seluruh tanaman dengan konsentrasi tinggi pada bagian-bagian tertentu, dan dipengaruhi oleh varietas dan tahap pertumbuhan. Sifat yang khas dari saponin antara lain berasa pahit, berbusa dalam air, mempunyai sifat

detergen yang baik, beracun bagi binatang berdarah dingin, mempunyai aktivitas hemolisis (merusak sel darah merah), tidak beracun bagi binatang berdarah panas, mempunyai sifat anti eksudatif dan mempunyai sifat anti inflamatori. Beberapa jenis saponin tertentu bekerja sebagai antimikroba, saponin tertentu menjadi penting dan dapat diperoleh dari beberapa tumbuhan yang digunakan sebagai bahan baku untuk sintesis hormon steroid yang digunakan dalam bidang kesehatan (Robinson, 1995).

Saponin merupakan senyawa glikosida triterpenoida ataupun glikosida steroida yang merupakan senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun serta dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya membentuk busa dan menghemolisa sel darah merah. Pola glikosida saponin kadang-kadang rumit, banyak saponin yang mempunyai satuan gula sampai lima dan komponen yang umum ialah asam glukuronat (Harborne, 1996).

Saponin dapat menghemolisis sel darah dan diketahui bahwa membran bakteri menyerupai membran sel darah merah sehingga saponin dapat melisiskan membran sel bakteri. Saponin bersifat racun bagi hewan poikilotermis (berdarah dingin) sehingga dapat dimanfaatkan untuk membasmi hama-hama tertentu. Saponin memiliki tekstur seperti sabun dan sering disebut deterjen alami. Apabila dikocok dengan air, saponin dapat menghasilkan busa. Busa ini akan semakin melimpah jika temperatur air dinaikkan. Ekstrak dari tanaman yang mengandung saponin bisa digunakan dalam bidang industri misalnya digunakan sebagai bahan kosmetik dan sampo. Saponin memiliki aktifitas luas sebagai agen antifungi, penurun kolesterol tubuh, dan menghambat pertumbuhan sel

kanker. Saponin dapat bekerja menghambat DNA polimerase sehingga sintesa asam nukleat terganggu (Raju *dkk.*, 2004).

Metode isolasi saponin yang biasa dilakukan adalah ekstraksi padat-cair menggunakan pelarut organik. Berdasarkan sifat kelarutannya maka ekstraksi saponin umumnya dilakukan menggunakan pelarut organik polar kemudian diendapkan dengan pelarut organik non polar untuk memisahkan saponin dari ekstraknya. Pelarut yang biasa digunakan adalah metanol, etanol, aseton, etil asetat, kloroform, heksana, dan diklorometan atau isopropanol 50% dan n-butanol (de silva, 1972).

Saponin telah lama dikenal dapat melisis membran sel. Aktivitas ini dipercaya merupakan akibat dari afinitas *aglycone* terhadap sterol (terutama kolesterol) membran sel yang menghasilkan kompleks tidak larut air.

Berdasarkan atas sifat kimiawinya, saponin dapat dibagi dalam dua kelompok: 1) Steroids dengan 27 atom C. Saponin steroida terdapat pada tumbuhan monokotil maupun dikotil, contohnya diosgenin yang terdapat pada *Dioscorea hispida*, dan hecogenin yang terdapat pada *Agave americana* 2) Triterpenoids, dengan 30 atom C. Saponin triterpenoida banyak terdapat pada tumbuhan dikotil seperti gipsogenin terdapat pada *Gypsophylla* sp. dan asam glisiretat terdapat pada *Glycyrrhiza glabra*. Kedua jenis saponin ini larut dalam air dan etanol tetapi tidak larut dalam eter (Gunawan dan Mulyani, 2004).

2.2.4.2 Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam yang terbesar. Flavonoid mempunyai sifat yang khas yaitu bau yang sangat

tajam, sebagian besar merupakan pigmen warna kuning, dapat larut dalam air dan pelarut organik, mudah terurai pada temperatur tinggi (Melderer, 2002).

Flavonoid terdapat dalam semua tumbuhan hijau sehingga pasti ditemukan pada setiap telaah ekstrak tumbuhan. Flavonoid adalah senyawa yang ditemukan pada buah-buahan, sayur-sayuran, dan beberapa minuman yang memiliki beragam manfaat biokimia dan efek antioksidan. Telah diketahui bahwa aktifitas antioksidan dari tumbuhan karena adanya senyawa fenol. Flavonoid adalah golongan senyawa polifenol yang diketahui memiliki sifat sebagai penangkap radikal bebas, penghambat enzim hidrolisis dan oksidatif, dan bekerja sebagai antiinflamasi (Pourmourad, 2006).

Senyawa fenol selain sebagai antioksidan juga sebagai antibakteri. Mekanisme kerja komponen bioaktif fenol dapat mengakibatkan lisis sel dan menyebabkan denaturasi protein, menghambat pembentukan protein sitoplasma dan asam nukleat serta menghambat ikatan ATP-ase pada membran sel (Sasaki *et al.*, 2004). Flavonoid merupakan senyawa polar yang umumnya mudah larut dalam pelarut polar seperti etanol, menthanol, butanol, dan aseton (Markham, 1998).

Flavonoid diketahui telah disintesis oleh tanaman dalam responsnya terhadap infeksi mikroba. Aktivitas tersebut kemungkinan disebabkan oleh kemampuannya untuk membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler yang terlarut dan dengan dinding sel. Flavonoid yang

bersifat lipofilik mungkin juga akan merusak membran mikroba (Melderer, 2002).

2.2.4.3 Tanin

Tanin merupakan senyawa organik yang terdiri dari campuran senyawa polifenol kompleks, dibangun dari elemen C, H, dan O serta sering membentuk molekul besar dengan berat molekul lebih besar dari 2000 (Risnasari, 2001). Tanin secara umum didefinisikan sebagai senyawa polifenol yang memiliki berat molekul cukup tinggi (lebih dari 1000) dan dapat membentuk kompleks dengan protein. Berdasarkan strukturnya, tanin dibedakan menjadi dua kelas yaitu tanin terkondensasi (*condensed tannins*) dan tanin-terhidrolisiskan (*hydrolysable tannins*) (Manitto, 1992).

Senyawa-senyawa tanin termasuk suatu golongan senyawa yang berasal dari tumbuhan yang sejak dahulu kala digunakan untuk merubah kulit hewan menjadi kedap air, dan awet. Istilah tanin diperkenalkan oleh Seguil pada tahun 1796. Pada waktu itu belum diketahui bahwa tanin tersusun dari campuran bermacam-macam senyawa, bukan hanya satu golongan senyawa saja. Senyawa-senyawa tanin dapat diartikan sebagai suatu senyawa-senyawa alami dengan bobot molekul antara 500 dan 3000, serta mempunyai sejumlah gugus hidroksi fenolik dan membentuk ikatan silang yang stabil dengan protein dan biopolimer lain, misalnya selulosa dan pektin (Manitto, 1992).

Tanin didapat dalam bentuk amorf, kuning atau masa coklat seperti bubuk, serpihan, atau sponge. Tanin biasanya ditemui di kulit kayu pada pohon, dan bertindak sebagai barrier terhadap mikroorganisme seperti bakteri dan jamur, sehingga melindungi pohon itu. Tanin terdiri dari

sembilan molekul asam galat dan molekul glukosa. Tanin juga dapat melindungi kulit dengan cara mengikat protein menjadi tahan terhadap enzim proteolitik (Nenden *dkk.*, 2007).

Polifenol yang terdiri atas tanin, flavonoid dan asam fenolat merupakan komponen yang paling menonjol dalam kaitannya dengan aktivitas antimikroba. Tanin memiliki aktivitas antibakteri, secara garis besar mekanisme yang diperkirakan adalah sebagai berikut: toksisitas tanin dapat merusak membran sel bakteri, senyawa astringen tanin dapat menginduksi pembentukan kompleks senyawa ikatan terhadap enzim atau substrat mikroba dan pembentukan suatu kompleks ikatan tanin terhadap ion logam yang dapat menambah daya toksisitas tanin itu sendiri (Akiyama, 2001). Tanin larut dalam pelarut polar dan tidak larut dalam pelarut non polar (Robinson, 1991).

Tanin diduga dapat mengkerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri. Akibat terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati. Tanin mempunyai daya antibakteri dengan cara mempresipitasi protein, karena diduga tanin mempunyai efek yang sama dengan senyawa fenolik (Masduki, 1996). Efek antibakteri tanin antara lain melalui: reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim, dan destruksi atau inaktivasi fungsi materi genetik (Ajizah, 2004).

2.2.5 Ekstraksi Senyawa Aktif Bahan Alam

Ekstraksi adalah penyairan zat-zat aktif dari bagian tumbuhan, hewan dan beberapa jenis biota laut. Zat-zat aktif terdapat didalam sel namun sel tanaman dan

hewan berbeda demikian pula dengan ketebalannya, sehingga diperlukan metode ekstraksi dengan pelarut tertentu dalam mengekstraksinya. Tujuan ekstraksi bahan alam adalah menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. Ekstraksi ini didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut. Untuk mengekstraksi senyawa kimia yang ada dalam tumbuhan terlebih dahulu bahan dikeringkan kemudian dihaluskan dengan derajat halus tertentu lalu diekstraksi dengan pelarut yang sesuai. Untuk mendapatkan sari yang kental dapat dilakukan dengan menguapkan hasil ekstraksi dengan bantuan *rotary evaporator*. Pelarut untuk ekstraksi terdiri atas, pelarut non polar, seperti N-heksan, diklorometan, kloroform, benzena, dan dietil eter. Pelarut polar seperti air, metanol, dan etanol. Dan terdapat pelarut semipolar seperti aseton, etil asetat, dan lain-lain (Ansel, 2008).

Jenis ekstraksi bahan alam yang sering dilakukan adalah ekstraksi secara panas dengan cara refluks, sokletasi, digesti, infus, dekok dan ekstraksi secara dingin dengan cara maserasi dan perkolasi (Hamdani, 2011).

2.2.6 Manfaat Katuk

Pemanfaatan daun katuk sebagai obat tradisional telah banyak dibuktikan secara ilmiah, Suprayogi (1995) menyatakan bahwa daun katuk terbukti memiliki khasiat sebagai obat bisul dan borok serta mampu memperbaiki fungsi pencernaan dan metabolisme tubuh.

Saat ini, dari 213 jenis jamu yang berasal dari pabrik jamu, ditemukan 6 jenis jamu (2,8%) yang mengandung daun katuk. Dari 6 jenis tersebut, 4 di antaranya mempunyai indikasi sebagai pelancar ASI (Sutedja *et al.*, 1997). Selain sebagai pelancar ASI, daun katuk juga bermanfaat dalam mempercepat involusi uterus. Bihariddin (2004) melaporkan bahwa pemberian minuman ekstrak daun

katuk kering pada mencit dari masa kawin sampai partus mengakibatkan terjadinya percepatan involusi uterus yaitu pada hari ke-2 postpartus. Hal ini lebih cepat bila dibandingkan dengan kontrol yaitu pada hari ke-5 postpartus, sedangkan pada pemberian minuman ekstrak daun katuk hijau, involusi uterus terjadi pada hari ke-5 postpartus sama seperti kelompok kontrol.

2.3 Cara Kerja Antimikroba

Agen antimikroba yang ideal memperlihatkan toksisitas selektif, yang berarti bahwa obat tersebut berbahaya bagi patogen tanpa membahayakan pejamu. Sering kali, toksisitas selektif lebih bersifat relatif dan bukan absolut, ini berarti bahwa suatu obat dalam suatu konsentrasi tertentu yang dapat ditoleransi oleh pejamu dapat merusak mikroorganisme penyebab infeksi (Brooks *et al.*, 2004).

Obat antimikroba mempunyai susunan kimiawi cara kerja yang antara obat satu dengan obat yang lainnya.

Antimikroba mengganggu bagian-bagian mikroba yang peka, yaitu: menghambat sintesis dinding sel, merusak membran sel, menghambat sintesis protein, menghambat sintesis asam nukleat dan antagonis metabolit (Setiabudy, 2007).

Obat antimikroba sering disebut sebagai bakteriostatik atau bakterisidal. Istilah bakteriostatik menggambarkan suatu obat yang sewaktu-waktu menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Keberhasilan pengobatan ini sering bergantung pada tubuh inang. Lebih jauh, efeknya dapat berubah apabila obat dihilangkan, organisme akan tumbuh kembali, dari infeksi atau penyakit akan kambuh. Istilah bakterisidal digunakan untuk obat yang menyebabkan kematian

organisme. Walaupun demikian, istilah bakteriostatik dan bakterisidal adalah relatif, bukan absolut. Kadang pengobatan jangka panjang dengan obat-obatan bakteriostatik dapat membunuh populasi tertentu. Sedangkan dengan obat bakterisidal mungkin gagal, baik in vitro maupun in vivo (Katzung, 2004).

2.3.1 Menghambat Sintesis Dinding Sel

Dinding sel bakteri bersifat sebagai pelindung osmotik protoplasma di bawahnya dari trauma baik osmotik maupun mekanik. Tekanan osmotik tinggi di dalam sel akan mendorong cairan dari dalam sel bakteri sehingga terjadi kebocoran dan kematian sel kuman. Hal ini menjadi dasar bakterisidal pada bakteri. Contoh antimikroba jenis ini adalah β -laktam (penicilin dan cephalosporin) (Cowan, 1999).

2.3.2 Menghambat Fungsi Membran Sel

Membran sel menjaga komposisi internal dari sel dengan cara berfungsi di dalam permeabilitas selektif dan proses transpor aktif. Rusaknya membran sel dapat menyebabkan metabolit penting didalam sel lolos keluar sel dan berakibat kematian sel (Santoso *et al.*, 2010).

2.3.3 Menghambat Sintesis Protein

Sintesis protein merupakan hasil dari 2 proses utama yaitu transkripsi dan translasi. Sintesa ini terjadi pada ribosom. Streptomisin dapat berikatan dengan ribosom 30S sehingga menyebabkan kode pada mRNA salah baca oleh tRNA dan terbentuk protein abnormal dan terbentuk non-fungsional bagi sel bakteri (Santoso *et al.*, 2010).

2.3.4 Menghambat Sintesis Asam Nukleat

Sintesis asam nukleat erat kaitannya dengan proses duplikasi dan transkripsi. Setiap zat yang mengganggu sintesa ini akan mempengaruhi seluruh fase pertumbuhan dan metabolisme sel bakteri. Rimfamycin dapat berkaitan dengan enzim polimerase-RNA sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA oleh enzim tersebut (Cowan, 1999).

2.3.5 Menghambat Metabolisme Sel Bakteri

Enzim-enzim yang berperan dalam proses metabolisme seringkali dihambat oleh senyawa-senyawa yang mempunyai struktur mirip dengan substrat asalnya. Senyawa ini bergabung dengan enzim tersebut sehingga mencegah kombinasi substrat enzim dan reaksi-reaksi katalitik. Sulfonamid berkompetisi dengan PABA (Para-Amino Benzoid Acid) untuk diikutsertakan dalam pembentukan asam folat sehingga terbentuk analog asam folat yang non fungsional. Akibatnya kelangsungan hidup bakteri terganggu.

2.4 Uji Kepekaan Bakteri terhadap Antimikroba secara In Vitro

2.4.1 Metode Dilusi Tabung

Tes ini dikerjakan dengan menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi metode cair dan sejumlah tertentu bakteri yang diuji, kemudian masing-masing tabung diisi dengan antibakteri yang telah diencerkan secara serial. Bakteri yang digunakan adalah bakteri dengan konsentrasi 10^6 CFU/ml. Ada satu tabung yang hanya diisi bahan aktif tanpa bakteri sebagai kontrol negatif dan ada satu tabung yang hanya diisi oleh bakteri biakan saja sebagai kontrol positif. Selanjutnya, seri tabung diinkubasi 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 bakteri) adalah KHM (Kadar Hambat Minimal) dari obat. Selanjutnya biakan dari semua tabung yang jernih diinokulasikan pada media agar, diinkubasikan dan keesokan harinya diamati ada atau tidaknya koloni bakteri yang tumbuh. Konsentrasi obat pada biakan padat yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri adalah KBM (Kadar Bunuh Minimal) dari obat terhadap bakteri uji (Santoso *et al.*, 2010).

2.4.2 Metode Dilusi Agar

Tes ini dikerjakan dengan menggunakan metode dilusi agar (*Agar Dilution test*). Metode dilusi agar, larutan antimikroba yang sudah diencerkan secara serial dicampurkan ke dalam medium agar yang masih cair (tetapi tidak terlalu panas) kemudian agar dibiarkan memadat, dan selanjutnya diinokulasikan dengan bakteri. Dibutuhkan satu cawan untuk kontrol positif tanpa antimikroba. Dengan metode ini, satu atau lebih bakteri terisolasi yang tercampur per cawan (Parija, 2009). Pada dilusi agar, zat antibakteri diletakkan dalam medium agar lalu teteskan bakteri yang akan diuji dengan konsentrasi 10^6 CFU/spot (CLSI, 2006). Pada metode dilusi agar, diperlukan larutan antimikroba dengan kadar menurun yang dibuat menggunakan teknik pengenceran serial. Selanjutnya diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Setelah diinkubasi, cawan diamati serta dihitung pertumbuhan bakteri (Parija, 2009).

2.4.3 Metode Difusi Cakram

Metode yang paling luas digunakan adalah uji difusi cakram. 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 (Brooks *et al.*, 2007).

Untuk mengevaluasi hasil uji kepekaan tersebut (apakah isolat mikroba sensitif atau resisten terhadap obat), dapat dilakukan dengan cara berikut :

2.4.3.1 Metode Kirby Bauer

Yaitu dengan cara membandingkan diameter dari area jernih (zona hambatan) disekitar cakram dengan tabel standar yang dibuat oleh NCCLS (*National Committe for Clinical Laboratory Standard*). Dengan tabel NCCLS ini dapat diketahui kriteria sensitif, sensitif intermediet dan resisten (Santoso *et al.*, 2010).

2.4.3.2 Metode Joan-stokes

Metode ini dilakukan dengan cara membandingkan radius zona hambatan yang terjadi antara bakteri kontrol yang sudah diketahui kepekaanya terhadap obat tersebut dengan isolat bakteri yang diuji. Pada cara Joan-stokes, prosedur kepekaan untuk bakteri uji kontrol dan bakteri uji dilakukan secara bersama-sama dalam satu piring agar (Santoso *et al.*, 2010). Kriteria pada metode Joan-stokes adalah sebagai berikut:

- 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 3mm, tetapi dibanding kontrol lebih kecil lebih dari 3 mm.
- Resisten: yaitu radius zona inhibisi kurang atau sama dengan 3 mm (Santoso *et al.*, 2010).