

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Apium graveolens* L. (Seledri)

2.1.1 Taksonomi

Kedudukan tanaman seledri dalam taksonomi tumbuhan, diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub Divisi	: Angiospermae
Classis	: Dicotyledoneae
Ordo	: Umbelliferales
Familia	: Umbelliferae
Genus	: <i>Apium</i>
Species	: <i>Apium graveolens</i> L. (Ismawati, 2002)



Gambar 2.1 Seledri (*Apium graveolens* L.) (Nugroho, 2012)

2.1.2 Nama Daerah

Celery fruit, celery, smallage, (Inggris), *celeri* (Perancis), *seleri* (Italia), *selinon, parsley* (Jerman), *qinchi, han-ch'in* (China), *kintsay* (Filipina), *phak chee* (Taiwan), *saladri* (Sunda), *sledri* (Jawa), *seledri, daun sop* (Indonesia) (Nugroho, 2012).

2.1.3 Ekologi dan Persebaran

Seledri berasal dari Eropa Selatan. Tanaman ini juga telah dikenal di Mesir, Yunani, dan Romawi sejak ribuan tahun yang lalu. Di Indonesia sendiri perkebunan seledri dapat ditemui di Brastagi, Sumatera Utara, kawasan Batu di Jawa Timur, dan di Jawa Barat tersebar di Pacet, Pangalengan, dan Cipanas. Seledri dapat tumbuh baik di dataran rendah maupun dataran tinggi. Akan tetapi, seledri paling baik tumbuh pada ketinggian di atas 900 m dpl dengan cuaca yg sejuk dan lembab. Seledri yang ditanam di dataran rendah memiliki daun yang tipis dan batang yang kecil. Seledri inilah yang biasanya digunakan sebagai penyedap masakan (Nugroho, 2012).

2.1.4 Varietas

Seledri daun (*A. graveolus* L. Var. *secalinum* Alef.) merupakan seledri yang banyak ditanam di Indonesia. Tumbuh pada tanah agak kering dan dipanen pada bagian daunnya atau batangnya saja. Cara memanennya dengan langsung mencabutnya. Seledri potong (*A. graveolus* L. var. *Sylvestre* Alef.) tumbuh pada pasir atau kerikil yang banyak airnya, tetapi tidak menggenang. Dipanen bagian batangnya saja dan dengan cara

memotong pada pangkal batangnya. Pada seledri umbi (*A. graveolus* L. var. *Rapaceum* Alef.), batang seledri berumbi sehingga membengkak membentuk umbi. Dipanen bagian daunnya dan dengan cara memetik daunnya saja (Sunarjono, 2003) .

2.1.5 Morfologi

Seledri termasuk dalam famili *umbelliferae* dan berupa tanaman setahun atau dua tahun yang berbentuk rumput. Batangnya pendek, daunnya berlekuk-lekuk menjadi secara tak teratur dan bertangkai daun panjang, termasuk daun tunggal menyirip ganjil. Bunganya berwarna putih dan berbentuk umbrella atau payung. Dari ujung ibu tangkai keluar beberapa cabang yang masing-masing merupakan bunga payung. Buahnya memanjang ujungnya meruncing dan termasuk buah sederhana yang dikategorikan buah kering yaitu seluruh kulit buahnya menjadi kering dan sering menjadi keras sewaktu masak. Biji buahnya berwarna kecoklatan (Ismawati, 2002).

2.1.6 Kandungan Kimia

Senyawa utama yang terdapat pada seledri adalah *limonene* (214 mg per kg). Selain itu, seledri mengandung *flavonoid* (*apigenin* dan *isoquersetin*), *saponin*, *tanin* 1%, minyak atsiri 0,033%, *umbeliferon*, *flavoglikosida* (*apiin*). *Mannitol*, *inositol*, *kolin*, *lipase*, *asparagine*, *glutamine*, *linamarose*, pro vitamin (A, B, dan C) juga ditemukan pada seledri (Nugroho, 2012).

Seluruh herba seledri mengandung *glikosida apiin (glikosida flavon)*, *isoquersetin*, dan *umbelliferon*, juga mengandung *mannite*, *inosite*, *asparagine*, *glutamine*, *choline*, *linamarose*, provitamin A, vitamin C dan vitamin B. Kandungan asam-asam dalam minyak atsiri pada biji, antara lain : asam-asam resin, asam-asam lemak terutama *palmitat*, *oleat*, *linoleat*, dan *petroselinat*. Senyawa *kumarin* lain ditemukan dalam biji, yaitu *bergapten*, *seselin*, *isomperatorin*, *osthenol*, dan *isopimpinelin* (Tambunan, 2012).

2.1.7 Khasiat Tanaman

Seledri memiliki aroma yang sangat khas. Aroma ini berasal dari kandungan *lactone sedanolide (3-butyl-3a,4,5,6-tetrahydrophthalide)*, *sedanenolide (3-butyl-4,5-dihydrophthalide)* dan beberapa jenis *phthalide* yang ada di dalamnya. Karena aromanya yang khas itulah, umumnya seledri dipakai sebagai penambah cita rasa pada masakan. Khasiat yang telah dikenal luas antara lain antihipertensi, sedatif (penenang), dan antiseptik. Khasiat seledri sebagai antihipertensi disebabkan aktivitasnya sebagai *calcium antagonis* yang berperan dalam menurunkan darah. Sementara efek sedatif dan antikonvulsan setelah di uji coba pada tikus disebabkan kandungan *alkaloid* yang terkandung dalam bijinya (Nugroho, 2012).

Sebuah penelitian menyebutkan bahwa ekstrak etanol herba seledri efektif mengatasi jamur *Pityrosporum ovale* penyebab ketombe (Sukendar, et al., 2006). Penelitian lebih lanjut menemukan bahwa efek antifungal

ekstrak seledri 50% terhadap mikroba penyebab ketombe setara dengan *ketoconazole* 2% (Galuh, 2010).

Lebih dari itu, minyak atsiri biji seledri juga ampuh mengatasi serangkaian bakteri seperti *Streptococcus faecalis*, *Bacillus pumilus*, *Salmonella typhii*, *Pseudomonas solanacearum*, *Staphylococcus typhii*, dan *Staphylococcus albus*. Efek antimikroba ini diduga karena aktifitas zat *phthalide* (Nugroho, 2012).

2.1.8 Senyawa Antimikroba pada Seledri

Zat-zat aktif dalam seledri yang diduga memiliki efek antimikroba antara lain *flavonoid* (*apigenin*, *isoquercetrin*), *saponin*, *limonene*, *kumarin*, dan *tanin*.

Saponin dapat meningkatkan permeabilitas membran sel bakteri sehingga mengubah struktur dan fungsi membran, menyebabkan denaturasi protein membran sehingga membran sel akan rusak dan lisis (Rosilawati, 2010).

Limonene dapat menghambat pertumbuhan pada jamur *Candida albicans* dengan menyebabkan perubahan pada integritas membran sel dan mengganggu aktivitas metabolik sel (Nugroho, 2012).

Flavonoid merupakan senyawa fenol yang bersifat desinfektan yang bekerja dengan cara mendenaturasi protein yang dapat menyebabkan aktifitas metabolisme sel bakteri berhenti karena semua aktifitas metabolisme sel bakteri dikatalisis oleh suatu enzim yang merupakan protein. Berhentinya aktifitas metabolisme ini akan mengakibatkan

kematian sel bakteri. *Flavonoid* juga bersifat bakteriostatik yang bekerja melalui penghambatan sintesis dinding sel bakteri (Rosilawati, 2010).

Mekanisme kerja *kumarin* dengan menyebabkan perubahan bentuk pada matriks mitokondria. Perubahan ini membuat sel kekurangan energi yang pada akhirnya menghambat mitosis sel tersebut (Nugroho, 2012).

Tanin memiliki aktivitas antibakteri, secara garis besar mekanisme yang diperkirakan adalah sebagai berikut : toksisitas *tanin* dapat merusak membran sel bakteri, senyawa astringent *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, *et al.*, 2001). Selain itu, *tanin* diduga dapat mengerutkan dinding sel dan membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri. Akibat terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati (Ajizah, 2004).

2.2 Metode penyarian

Penyarian adalah kegiatan penarikan zat yang dapat larut dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Simplisia yang dicari, mengandung zat aktif yang dapat larut dan zat yang tidak larut seperti serat, karbohidrat, protein, dan lain-lain. Faktor yang mempengaruhi kecepatan penyarian adalah kecepatan difusi zat yang larut melalui lapisan-lapisan batas antara cairan penyari dengan bahan yang mengandung zat tersebut (Putri, 2010).

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Soranta, 2009).

Ada beberapa metode dasar ekstraksi yang dapat dipakai untuk penyarian yaitu metode infundasi, maserasi, perkolasi, dan soxhletasi. Pemilihan terhadap metode tersebut disesuaikan dengan kepentingan dalam memperoleh sari yang baik (Putri, 2010).

2.2.1 Infundasi

Infundasi adalah proses penyarian yang umumnya digunakan untuk menyari zat kandungan aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati. Infundasi dilakukan dengan cara mencampur serbuk dengan air secukupnya dalam waterbath selama 15 menit yang dihitung mulai suhu di dalam panci mencapai 90°C sambil sesekali diaduk, infus disaring sewaktu masih panas dengan menggunakan kain flanel. (Soranta, 2009).

2.2.2 Dekok

Dekok adalah infundasi pada waktu yang lebih lama (≥ 30 menit) dan temperatur sampai titik didih air (Tambunan, 2012).

2.2.3 Maserasi

Maserasi berasal dari bahasa latin *macerare* yang berarti merendam, merupakan proses paling tepat dimana obat yang sudah halus

memungkinkan untuk direndam dalam menstrum sampai meresap dan melunakkan susunan sel sehingga zat-zat yang mudah larut akan melarut (Septiningsih, 2008).

Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Soranta, 2009).

Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Kerugian cara ini adalah pengerjaannya lama dan penyarian kurang sempurna (Astuti, 2009).

2.2.4 Perkolasi

Perkolasi adalah cara penyarian yang dilakukan dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Istilah perkolasi berasal dari bahasa Latin *per* yang artinya melalui dan *colare* yang artinya merembes, secara umum dapat dinyatakan sebagai proses dimana obat yang sudah halus, zat yang larutnya diekstraksi dalam pelarut yang cocok dengan cara melewati perlahan-lahan melalui obat dalam suatu kolom. Obat yang dimampatkan dalam alat ekstraksi khusus yang disebut perkolator, dengan ekstrak yang telah dikumpulkan disebut perkolat.

Kebanyakan ekstraksi obat dikerjakan dengan cara perkolasi (Soranta, 2009).

2.2.5 Penyarian berkesinambungan dengan Soxhlet

Bahan yang akan disari berada dalam sebuah kantong penyari (kertas, karton) di dalam sebuah alat ekstraksi dari gelas yang bekerja kontinu. Wadah gelas yang mengandung kantong diletakkan di antara labu suling dan suatu pendingin alir balik dan dihubungkan melalui pipa pipet. Labu tersebut berisi bahan pelarut yang menguap mencapai ke dalam pendingin aliran balik melalui pipa pipet, pelarut itu berkondensasi di dalamnya, menetes ke bahan yang disari. Larutan berkumpul di dalam wadah gelas dan setelah mencapai tinggi maksimal secara otomatis ditarik ke dalam labu dengan demikian zat yang tersari terkumpul di dalam labu tersebut (Soranta, 2009).

2.3 Cairan Pelarut

Pemilihan cairan pelarut harus mempertimbangkan banyak faktor. Cairan pelarut yang baik harus memiliki kriteria antara lain:

- a. Murah dan mudah diperoleh
- b. Stabil secara fisika dan kimia
- c. Bereaksi netral
- d. Tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar
- e. Selektif yaitu hanya menarik zat berkhasiat yang dikehendaki
- f. Tidak mempengaruhi zat berkhasiat
- g. Diperbolehkan oleh peraturan (Soranta, 2009).

Cairan pelarut dalam proses pembuatan ekstrak adalah pelarut yang baik (optimal) untuk senyawa yang berkhasiat atau yang aktif, dengan demikian senyawa tersebut dapat terpisah dari bahan dan dari senyawa lainnya, serta ekstrak hanya mengandung sebagian besar senyawa yang diinginkan (Soranta, 2009).

Tanin dan *flavonoid* dapat larut dalam pelarut polar seperti air (Nasution, 2010). *Saponin* selama ini diekstraksi dengan pelarut air, alkohol (metanol dan etanol) dan aqueous alcohol, meskipun kelarutan saponin dalam pelarut ether, chloroform, benzene, ethyl acetate, dan glacial acetic acid juga telah dilaporkan (Nugroho, 2012).

Zat aktif *limonene* yang terkandung dalam seledri memiliki sifat sulit larut dalam air namun dapat larut dalam aseton, dimetil sulfoksida, dan etanol (Nugroho, 2012).

2.4 *Shigella Dysenteriae*

2.4.1 Taksonomi *Shigella dysenteriae*

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: Shigella
Species	: <i>Shigella dysenteriae</i> (Nathania, 2008).

2.4.2 Morfologi

Shigella adalah batang gram-negatif yang ramping, bentuk kokobasil ditemukan pada biakan yang muda. *Shigella* bersifat fakultatif anaerob tetapi tumbuh paling baik secara aerob. Koloni berbentuk konveks, bulat, transparan dengan tepi yang utuh dan mencapai diameter sekitar 2 mm dalam 24 jam (Jawetz, *et al.*, 2004).

Semua *Shigella* memfermentasikan glukosa. Kecuali *Shigella sonnei*, *Shigella* tidak memfermentasikan laktosa. Ketidakmampuannya memfermentasikan laktosa membedakan *Shigella* dalam medium diferensial. *Shigella* membentuk asam dari karbohidrat tetapi jarang menghasilkan gas. Organisme ini juga dapat dibagi menjadi organisme yang memfermentasi manitol dan tidak memfermentasikan manitol (Jawetz, *et al.*, 2004).

2.4.3 Epidemiologi

Laporan epidemiologi menunjukkan bahwa 600.000 dari 140 juta pasien *shigellosis* meninggal setiap tahun di seluruh dunia. Data di Indonesia memperlihatkan 29% kematian diare terjadi pada umur 1 sampai 4 tahun disebabkan oleh Disentri basiler. Pada negara Amerika Serikat diperkirakan sebanyak 6000 dari 450.000 kasus diare per tahun dirawat di rumah sakit, di Inggris 20.000- 50.000 kasus per tahun, sedangkan di Mediterania Timur dilaporkan kematian \pm 40.000 kasus (rata rata case fatality rate 4%). Tingginya insiden dan mortalitas dihubungkan dengan status sosial ekonomi yang rendah, kepadatan penduduk, dan kebersihan yang kurang (Nafianti dan Sinuhaji, 2005).

2.4.4 Patogenesis

Infeksi *Shigella* hampir selalu terbatas di saluran cerna, jarang terjadi invasi ke aliran darah. *Shigella* sangat menular, dosis infektifnya adalah 10^3 organisme (sedangkan pada *Salmonella* dan *Vibrio* biasanya $10^5 - 10^8$). Proses patologi yang penting adalah invasi ke sel epitel mukosa (misal, sel M), dengan menginduksi fagositosis, keluar dari vakuola fagositik, bermultiplikasi dan menyebar di dalam sitoplasma sel epitel, dan menyebar ke sel yang ada didekatnya. Mikroabses di dinding usus besar dan ileum terminal menyebabkan nekrosis membran mukosa, ulserasi superfisial, perdarahan, dan pembentukan "pseudomembran" pada daerah ulserasi. Pseudomembran ini terdiri dari fibrin, lekosit, debris sel, membran mukosa yang nekrotik, dan bakteri. Saat proses mereda, jaringan granulasi mengisi ulkus dan terbentuk jaringan parut (Jawetz, *et al.*, 2004).

2.4.5 Manifestasi Klinik

Setelah periode inkubasi selama 1-4 hari, penderita biasanya mengalami diare berupa tinja sedikit cair yang mengandung darah, dengan atau tanpa lendir. Nyeri abdominal dan tenesmus (tidak produktif, nyeri saat mengejan) biasanya juga terjadi. Demam dan anoreksia juga ada, tetapi tidak spesifik. Meskipun demikian, ada beberapa penderita yang hanya mengalami diare akut tanpa darah ataupun lendir, dan tanpa gejala lainnya terutama pada awal menderita sakit. Jika muncul dehidrasi, biasanya pada taraf sedang (WHO, 2005).

Meskipun banyak penderita sembuh dalam 7-10 hari, komplikasi yang serius dapat terjadi, termasuk kelainan metabolisme, sepsis, konvulsi,

rectal prolapse, toxic megacolon, intestinal perforasi, dan haemolytic-uraemic syndrome (WHO, 2005).

2.4.6 Diagnosis Laboratorium

Bahan pemeriksaan dapat berupa tinja yang mengandung darah, lendir, dan potongan jaringan, atau swab rektum. Pada pemeriksaan langsung secara mikroskopis akan tampak sejumlah besar leukosit dan eritrosit. Jika diinginkan bahan pemeriksaan serum, harus diambil setelah 10 hari perjalanan penyakitnya untuk menunjukkan kenaikan titer antibodi aglutinin (Dzen, *et al.*, 2003).

Bahan pemeriksaan diinokulasikan pada medium diferensial (misal *Mac Conkey's Agar* atau EMB) dan pada media selektif (*Enteric Hektoen Agar* atau *Salmonella-Shigella Agar*) yang dapat menekan *Enterobacteriaceae* yang lain dan organisme gram positif. Koloni yang tidak berwarna (*lactose-negative fermenter*) selanjutnya diinokulasikan ke medium agar TSI. Organisme ini memproduksi asam tanpa gas pada *butt* (dasar tabung) dan alkali pada *slant* (permukaan tabung), tidak memproduksi H₂S, dan tidak bergerak. Sebaiknya juga dilakukan reaksi aglutinasi pada gelas objek menggunakan antisera spesifik terhadap *Shigella sp.* (Dzen, *et al.*, 2003).

2.4.7 Penatalaksanaan

2.4.7.1 Pencegahan

Penyakit disentri basiler ini dapat dicegah dengan cara :

- Selalu menjaga kebersihan dengan cara mencuci tangan dengan sabun secara teratur dan teliti.
- Mencuci sayur dan buah yang dimakan mentah.
- Orang yang sakit disentri basiler sebaiknya tidak menyiapkan makanan.
- Memasak makanan sampai matang.
- Selalu menjaga sanitasi air, makanan, maupun udara.
- Mengatur pembuangan sampah dengan baik.
- Mengendalikan vector dan binatang pengerat (Amsalta, 2011).

2.4.7.2 Pengobatan

Pada infeksi ringan umumnya dapat sembuh sendiri, penyakit akan sembuh pada 4-7 hari. Minum lebih banyak cairan untuk menghindarkan kehabisan cairan, jika pasien sudah pada tahap dehidrasi maka dapat diatasi dengan rehidrasi oral. Pada pasien dengan diare berat disertai dehidrasi dan pasien yang muntah berlebihan sehingga tidak dapat dilakukan rehidrasi oral maka harus dilakukan rehidrasi intravena. Umumnya pada anak kecil terutama bayi lebih rentan kehabisan cairan jika diare. Untuk infeksi berat dapat diobati menggunakan antibiotika termasuk ampicilin, trimethoprim-sulfamethoxazole, dan ciprofloxacin. Namun, beberapa *Shigella* telah menjadi kebal terhadap antibiotika, ini terjadi

karena penggunaan antibiotika yang sedikit-sedikit untuk melawan *shigellosis* ringan (Amsalta, 2011).

2.5 Uji Antimikroba

Pengujian terhadap aktivitas antimikroba dilakukan untuk mengetahui obat-obat yang paling poten untuk kuman penyebab penyakit terutama penyakit kronis (Putri, 2010). Pengujian ini dapat dilakukan dengan beberapa cara, yaitu:

2.5.1 Difusi

Pada metode ini ada beberapa cara, yaitu:

2.5.1.1 Cara *Kirby Bauer* (Difusi Cakram)

Prinsip dari metode ini adalah menempatkan kertas cakram yang sudah mengandung bahan antimikroba tertentu pada medium lempeng padat yang telah dicampur dengan bakteri yang akan diuji. Medium ini kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam, selanjutnya diamati adanya zona jernih di sekitar kertas cakram. Daerah jernih yang tampak di sekeliling kertas cakram menunjukkan tidak adanya pertumbuhan mikroba. Bakteri yang sensitif terhadap bahan antimikroba akan ditandai dengan adanya daerah hambatan disekitar cakram, sedangkan bakteri yang resisten terlihat tetap tumbuh pada tepi kertas cakram (Tortora, *et al.*, 2001).

2.5.1.2 Cara sumuran

Beberapa koloni kuman dari pertumbuhan 24 jam diambil, disuspensikan ke dalam 0,5 mL *Brain Heart Infusion* (BHI) cair, diinkubasi pada suhu 37°C selama 5 – 8 jam. Suspensi ditambah akuades steril hingga kekeruhan tertentu sesuai dengan standar konsentrasi bakteri 10^8 CFU per mL. Kapas lidi steril dicelupkan ke dalam suspensi bakteri lalu ditekan-tekan pada dinding tabung hingga kapasnya tidak terlalu basah, kemudian dioleskan pada permukaan media agar hingga rata. Media agar dibuat sumuran dengan garis tengah tertentu, larutan antimikroba diteteskan ke dalam sumuran, diinkubasi pada 37°C selama 18-24 jam. Hasilnya dibaca seperti *Kirby Bauer* (Putri, 2010).

2.5.1.3 Cara *Pour Plate*

Beberapa koloni kuman dari pertumbuhan 24 jam diambil, disuspensikan ke dalam 0,5 mL *Brain Heart Infusion* (BHI) cair, diinkubasi 37°C selama 5-8 jam. Suspensi ditambah akuades steril hingga kekeruhan tertentu sesuai dengan standar konsentrasi bakteri 10^8 CFU per mL. Suspensi bakteri diambil satu mata ose dan dimasukkan ke dalam 4 mL agar base 1,5% yang mempunyai temperatur 50°C. Setelah suspensi kuman tersebut homogen dituang ke dalam media agar Mueller Hinton, ditunggu sebentar sampai agar tersebut membeku, disk diletakkan di atas media dan diinkubasi 15-20 jam dengan temperatur 37°C. Hasil dibaca sesuai dengan standar masing-masing antimikroba (Putri, 2010).

2.5.2 Dilusi

2.5.2.1 Dilusi tabung

Cara ini digunakan untuk menentukan kadar hambat minimal (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM) dari obat antimikroba (Dzen, *et al.*, 2003). Prinsip dari metode dilusi, menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi media cair dan sejumlah tertentu sel 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 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 adalah KBM dari obat terhadap bakteri uji (Dzen, *et al.*, 2003). KBM dapat diartikan sebagai konsentrasi terendah dari biakan padat yang menunjukkan pertumbuhan koloni sebesar $\leq 0,1\%$ *Original inoculum* (Baron, *et al.*, 1994).

2.5.2.2 Dilusi agar

Pada metode dilusi agar, bahan antimikroba dicampur dengan medium agar dimana setiap plate mengandung konsentrasi bahan yang berbeda. Inokulasi dapat dilakukan dengan cepat dan serentak pada permukaan agar menggunakan inokulum replicating apparatus. Kebanyakan replicator dapat memindahkan 32–36 inokulum pada setiap plate (Coyle, 2005).

Keuntungan dari metode dilusi agar adalah hasil dapat digandakan dan organisme dapat tumbuh dengan baik. Akan tetapi, kerugiannya adalah dibutuhkan persiapan plate dilusi agar dan waktu hidup yang pendek. Uji dilusi agar biasanya tidak digunakan oleh laboratorium klinik secara rutin tetapi ideal untuk penelitian yang menguji isolat dalam jumlah besar (Coyle, 2005).

