BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Euphorbia pulcherrima* Willd.

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Tanaman Kastuba (*Euphorbia pulcherrima* Willd.)

Tanaman kastuba mempunyai tinggi ± 4 m. Batang berkayu permukaan bergetah dan putih kotor. Daun tunggal, bertangkai, tersebar, bulat telur, tepi rata, ujung dan pakal runcing panjang 10-21, lobar daun 5-7,5 cm, berwarna merah ketika masih muda dan setelah tua berwarna hijau. Bunga majemuk, tumbuh di ketiak daun dan di ujung batang, kelopak bentuk lonceng, hijau kekuningan, mahkota kuning kemerahan, tangkai benang sari jingga, kepala sari merah, putik. Buah panjang ± 1,5 cm, buah muda berwarna hijau setelah tua berwarna coklat. Biji Bulat, bewarna coklat. Akar Tunggang, berwarna kuning (Stfitb, 2008).

Gambar 2. 1 Habitus *Euphorbia pulcherrima* Willd. (UPT Materia Medica).

Klasifikasi tanaman kastuba (*Euphorbia pulcherrima* Willd.*)* sebagai berikut :

Sinonim : *Poinsettia pulcherrima R. Grah*

Divisi : *Spermatophyta*

Sub divisi : *Angiospermae*

Kelas : *Dicotyledonae*

Bangsa : *Euphorbiales*

Suku : *Euphorbiaceae*

Marga : *Euphorbia*

Jenis : *Euphorbia pulcherrima* Willd.

Nama umum : Racunan, Merah, Kastuba

Nama daerah : Denok (Batak), Pohon merah (Melayu), Puring bunggala (Jakarta), Racunan (Jawa) (Stfitb, 2008).

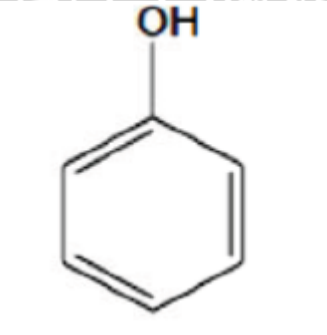
2.1.2 Kandungan Bahan Aktif Tanaman Kastuba (*Euphorbia pulcherrima* Willd.)

Menurut Yakubu dan Mukhtar (2011) dan Widyaningrum (2012) Tanaman merah memiliki kandungan zat aktif sebagai berikut pada Tabel 2.1 :

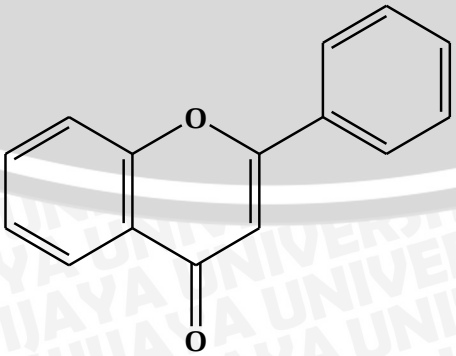
Tabel 2.1 Kandungan Bahan Aktif Tanaman Kastuba (Yakubu dan Mukhtar 2011), (Widyaningrum 2012).

Bagian Tanaman	Kandungan Zat Aktif
Bunga	Resin, Glikosida seteroid, Alkaloid, Gula pereduksi, Saponin.
Batang	Tannin, Resin, Alkaloid, Gula pereduksi, Saponin.
Daun	Tannin, Alkaloid, Gula pereduksi, Saponin, Flavonoid.

Ekstrak daun kastuba mengandung senyawa fenol berupa flavonoid dan tannin. Senyawa fenol dapat mengganggu metabolisme dan kerusakan membran sel bakteri. Bekerja dengan merusak sel dan membran sel. Flavonoid memiliki kecenderungan untuk mengikat protein bakteri, sehingga menghambat aktivitas enzim bakteri. Pada akhirnya dapat mengganggu proses metabolisme bakteri (Widyaningrum, 2012). Menurut Tiwari (2011), Chrysin, Quercetin, Rutin adalah beberapa jenis dari flavonoid yang memiliki aktivitas antibakteri. Senyawa flavonoid merupakan kelompok senyawa fenol yang terbesar banyak ditemukan di alam. Senyawa-senyawa flavonoid berupa zat berwarna merah, ungu, dan biru dan sebagai zat berwarna kuning yang banyak ditemukan pada tumbuhan (Lenny, 2006). Secara umum struktur kimia dari senyawa fenol dan flavonoid ditunjukkan pada gambar berikut ini :

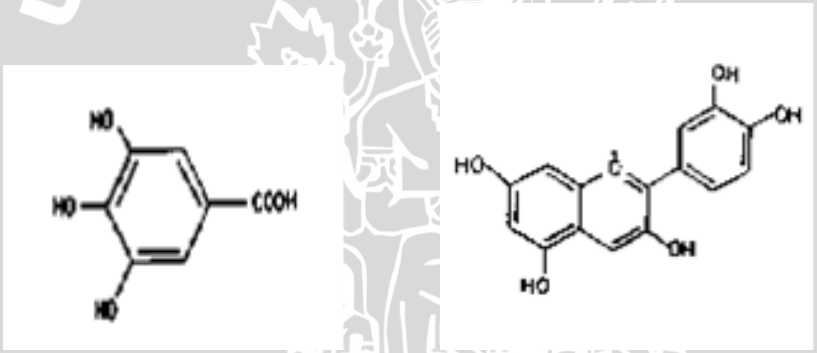


Gambar 2.2 Struktur Kimia Senyawa Fenol



Gambar 2.3 Struktur Kimia Senyawa Flavonoid

Tannin tersebar tidak merata pada tumbuhan secara umum terdapat dalam dua jenis utama, yakni berupa tannin terkondensasi dan tannin terhidrolisis. Tannin terkondensasi hampir terdapat pada tumbuhan paku-pakuan dan gymnospermae, serta tersebar luas pada tumbuhan angyospermae, terutama pada jenis tumbuhan berkayu. Sebaliknya, tannin yang terhidrolisis penyebaranya terbatas pada tumbuhan berkeping dua (Harbrone, 1987). Tannin dapat ditemukan pada bagian-bagian tanaman tertentu seperti pada buah, kulit, daun, batang, akar, dll. Tannin umumnya larut dalam air dan biasanya memiliki rasa pahit. Gambar Berikut adalah contoh struktur tannin terhidrolisis dan terkondensasi :



Asam Galat Antosianidin

Gambar 2.4 Struktur Tannin Terhidrolisis dan Tannin Terkondensasi

Tannin merupakan zat antimikroba yang kuat dan biasanya digunakan untuk pengobatan infeksi., Tannin terhidrolisis (asam galat) dan terkodensasi (proantocyanidin) bertindak sebagai agen antimikroba yang kuat. Tannin bersifat racun bagi jamur berfilamen, ragi, dan bakteri. Tannin bersiifat astringent karena kandungan polifenol tinggi berakibat dapat membentuk kompleks kuat dengan protein, pati dan makromolekul lainnya. Tannin efektif membunuh flora saluran pencernaan dan membuatnya bebas dari bakteri patogen (Kant, 2011). Tannin

bersifat sebagai antibakteri memiliki mekanisme bereaksi dengan protein dan dapat mengendapkan protein pada sitoplasma dan membran sel bakteri. Jika ada pengendapan protein dalam sitoplasma sel dan membran sel bakteri, maka pertumbuhan bakteri terganggu serta akan berakibat pada kematian bakteri (Widyaningrum, 2012).

Saponin memiliki aktivitas sebagai antibakteri dengan cara dapat merusak permeabilitas membrane melalui perusakan sitoplasma dan dapat menyebabkan kematian pada sel-sel bakteri (Widyaningrum, 2012). Menurut Neil *et al*., (2001), saponin dalam bentuk sapogenin dapat berikatan dengan steroid, triterpen, dan gula biasanya dalam bentuk gula glukosa.

Menurut Yakubu dan Mukhatar (2011), dan Widyaningrum (2012), metode ekstraksi yang digunakan untuk mengekstraksi daun kastuba adalah metode maserasi menggunakan pelarut etanol. Penggunaan pelarut etanol mempunyai polaritas yang tinggi sehingga dapat melarutkan lebih banyak komponen bahan aktif dan dapat melarutkan senyawa-senyawa yang terkandung dalam daun merah. Selain itu, menurut Departemen Kesehatan RI hanya mengizinkan etanol dan air sebagai pelarut obat. Pelarut etanol lebih selektif, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% ke atas, tidak beracun, netral, absorbsinya baik, etanol dapat dicampur dengan air dalam segala perbandingan, panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit, hanya saja harganya relatif mahal (Hargono *et al*., 1986).

2.1.3 Pelarut

Pengunaan pelarut dalam proses pembuatan ekstrak adalah yang dapat melarutkan kandungan bahan aktif yang berkhasiat secara optimal, sehingga bahan aktif tersebut dapat terpisahkan dari simplisianya serta ekstrak hanya mengandung sebagian besar bahan aktif yang diinginkan. Faktor utama dalam mempertimbangkan pemilihan pelarut adalah selektivitas dalam melarutkan, kemudahan cara berkerja, dan proses yang ekonomis, ramah lingkungan, dan aman (Sampurno, et al., 2000). Farmakope Indonesia menetapkan pelarut yang dapat digunakan yakni air, etanol, etanol-air atau eter. Penggunaan pelarut pada perusahaan tradisional masih terbatas pada penggunaan pelarut air, etanol, etanol-air (Hargono *et al*., 1986).

2.1.4 Cara Ekstraksi

Proses awal pembuatan ekstrak yakni pembuatan serbuk dari simplisia kering. Simplisia dibuat serbuk sampai derajat kehalusan tertentu. Makin halus serbuk simplisia akan makin efektif dan efisien proses ekstraksinya tetapi, makin halus serbuk akan rumit secara teknologi peralatan terhadap tahapan filtrasi (Sampurno *dkk*., 2000).

Metode ekstraksi menggunakan pelarut dibedakan dengan dua cara yakni (Sampurno *dkk*., 2000) :

2.1.4.1 Cara dingin

a. Maserasi merupakan proses ekstraksi simplisia dengan menggunakan pelarut diikuti dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperature ruangan. Maserasi dapat dilakukan dengan cara yang berbeda yakni maserasi kinetic dan remaserasi.

b. Perkolasi merupakan ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna yang umum dilakukan pada temperature ruangan. Terdiri dari beberapa proses yakni, tahap pengembangan bahan, tahap maserasi dan tahap perkolasi sebenarnya (penampungan ekstrak).

2.1.4.2 Cara Panas

a. Refluks merupakan cara ekstraksi dengan pelarut pada temperature titik didihnya, selama waktu tertentu, dan jumlah pelarut terbatas yang relative konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga didapat proses ekstraksi sempurna.

b. Soxhlet merupakan cara ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru. Umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relative konstan dengan adanya pendingin balik.

c. Digesti merupakan maserasi kinetic pada temperature yang lebih tinggi dari temperature ruangan yaitu, secara umum dilakukan pada temperature 40-50°C.

d. Infus merupakan ekstraksi dengan pelarut air pada temperature penangas air (bejana infuse tercelup dalam penangas air mendidih, temperature terukur 96-98°C) selama waktu tertentu. Umumnya selama 15-20 menit. Bahan simplisia daun dan bunga menggunakan cara ekstrasi ini.

e. Dekok adalah infus yang dilakukan pada waktu yang lebih lama yakni, selama 30 menit. Penggunaanya digunakan untuk bahan jenis simplisia yang kandungan zat aktifnya tidak rusak oleh panas dan bersifat memiliki struktur yang keras contohnya, batang, kulit batang, akar dan lain-lain.

Rotary vakum evaporator adalah alat yang digunakan untuk proses evaporasi berfungsi untuk menguapkan hasil ekstraksi dari pelarutnya sehingga dihasilkan ekstrak kental dengan kandungan bahan aktif tertentu sesuai yang diinginkan. Rotary vakum evaporator adalah instrumen yang menggunakan prinsip destilasi (pemisahan). Prinsip utama instrumen ini terletak pada penurunan tekanan pada labu alas bulat dan pemutaran labu alas bulat hingga berguna agar pelarut dapat menguap lebih cepat dibawah titik didihnya.

Teknik yang digunakan dalam rotary vakum evaporator ini tidak hanya terletak pada pemanasannya tapi dengan menurunkan tekanan pada labu alas bulat dan memutar labu alas bulat dengan kecepatan tertentu. Teknik inilah, sehingga suatu pelarut akan menguap dan senyawa yang larut dalam pelarut tersebut tidak ikut menguap namun mengendap. Pemanasan dapat dilakukan dibawah titik didih pelarut, sehingga senyawa yang terkandung dalam pelarut tidak rusak oleh suhu tinggi.

2.1.5 Skrining Uji Fitokimia

Skrining uji fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan zat aktif yang terdapat pada suatu tanaman, diantaranya untuk menguji ada tidaknya kandungan alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, dan polifenol. Pengujian kandungan alkaloid dilakukan dengan cara metode Mayer, Wagner, dan Dragendorff. Hasil positif alkaloid pada uji Mayer ditandai dengan terbentuknya endapan putih, pada uji Wagner ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning, dan pada uji Dragendorff juga ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning. Terbentuknya endapan dari hasil pengujian menunjukkan adanya alkaloid. Uji tannin dan fenol menggunakan pereaksi FeCl3 kemudian, diamati perubahan yang terjadi. Terbentuknya warna menjadi biru kehitaman menunjukkan kandungan tannin (Dewi *dkk*., 2005; Srujana *dkk*., 2012).

Pada pengujian kandungan saponin dilakukan dengan metode Forth. Terbentuknya busa tetap selama 30 detik menunjukkan adanya saponin, sedangkan pengujian kandungan flavonoid dapat dilakukan dengan metode Bate Smith-Metchalf jika terjadi perubahan warna merah tua sampai ungu didapatkan dari hasil pengujian menunjukkan hasil yang positif. Selain itu, uji flavonoid dapat dilakukan menggunakan metode Wilstater. Terbentuknya warna merah sampai jingga menunjukan senyawa flavon, warna merah tua menunjukan adanya flavonol atau flavonon, warna hijau sampai biru menunjukan aglikon atau glikosida dari hasil pengujian dan dapat dilakukan mengunakan uji Shianida terbentuknya warna pink menunjukkan adanya alkaloid (Dewi *dkk*., 2005; Srujana *dkk*., 2012).

2. 2 BAKTERI *Shigella dysenteriae*

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi *Shigella dysenteriae*

Menurut Nathania (2008), *Shigella dysenteriae* diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom : *Bacteria*

Phylum : *Proteobacteria*

Class : *Gamma proteobacteria*

Ordo : *Enterobacteriales*

Family : *Enterobacteriaceae*

Genus : *Shigella*

Species : *Shigella dysenteriae*

Bakteri memiliki koloni berbentuk konveks, bulat, transparan dengan pinggiran utuh, pada pewarnaan gram negatif akan menghasilkan warna merah di lihat menggunakan mikroskop. Infeksi bakteri ini dapat menimbulkan penyakit yang disebut disentri basiler. Habitat alami bakteri ini terbatas pada saluran pencernaan manusia (Jawetz *et al*., 2005).

Bakteri *Shigella dysenteriae* merupakan bakteri berbentuk batang (basil) bersifat gram negatif, berukuran kecil (0,5x0,3 µm), tidak membentuk spora, nonmotil (tidak bergerak). Dinding selnya terdiri atas murein, lipoprotein, fosfolipid, protein, lipopolisakarida dan tersusun sebagai lapisan-lapisan (Dzen, et al., 2003). Bakteri ini bersifat fakultatif anaerob tidak memfermentasikan laktosa tetapi memfermentasikan karbohidrat, menghasilkan asam tetapi tidak menghasilkan gas dan H_2s (Jawetz *et al*., 2005). Berdasarkan antigen O *Shigella dysenteriae* terdiri dari 12 tipe (Dzen *et al*., 2003).

2.2.2 Faktor virulensi dan antigen *Shigella dysenteriae*

Faktor virulensi adalah faktor-faktor yang menyebabkan bakteri atau benda asing dapat menetap di tubuh sel *host* (inang) untuk melakukan aktivitasnya (Kurniawati, 2012). *Shigella dysenteriae* mempunyai beberapa faktor virulensi antara lain Lipopolisakarida (LPS), antigen O, dan Shigatoksin. Bakteri *Shigella dysenteriae* yang virulen, mampu mengadakan penetrasi ke dalam mukosa dan sel epitel, tetapi jarang dapat menembus lamina propria. Daya invasi bakteri pada awalnya berada pada fagosom, namun organisme virulen merusak vagosom dan berkembang biak dalam sitoplasma. Internalisasi *Shigella* dapat terjadi pada keadaan sel bakteri dan sel hospes dalam keadaan metabolisme aktif (Dzen *et al*., 2003).

Adapun peranan faktor virulensi pada *Shigella dysenteriae* antara lain: Lipopolisakarida mengandung rantai polisakarida khusus yang menentukan antigenisitas sehingga berfungsi untuk melindungi bakteri dari sistem imun inangnya. Antigen O dan karbohidrat pada region I dari LPS berfungsi meningkatkan perlekatan organisme ke jaringan hospes pada waktu proses infeksi dan dapat melindungi bakteri terhadap proses eliminasi oleh komplemen dalam serum. Shigatoksin merupakan toksin yang dihasilkan oleh *Shigella dysenteriae*, mempengaruhi sintesis protein pada sel mamalia mengakibatkan kematian sel. Toksin ini mempunyai efek multipel yaitu neurotoksik, sitotoksik dan enterotoksik. Efek enterotoksik shigatoksin lebih ditujukan pada penghambatan absorpsi elektrolit, glukosa, dan asam amino dari lumen intestinal. Penelitian terhadap hewan coba menunjukkan bahwa toksin ini bertanggung jawab terutama pada kerusakan mikrovaskuler usus yang menyebabkan perdarahan (Dzen *et al*., 2003).

2.2.3 Patogenesis

Dosis infektif bakteri ini rendah yakni lebih kecil dari 200 organisme dan sangat mudah menular. Bakteri ini harus tetap hidup dalam perjalanannya melalui saluran cerna bagian atas, melekat pada kolon dan melakukan penetrasi ke dalam sel epitel (Dzen *et al*., 2003).

Proses patologi yang terpenting yakni *Shigella* mampu menginvasi permukaan sel epitel kolon, jarang menembus sampai melewati mukosa, sehingga tidak ditemukan pada biakan darah walaupun ada gejala hiperpireksia dan toksemia. Setelah menginvasi enterosit kolon, terjadilah perubahan permukaan mikrovili dari *brush border* yang menyebabkan pembentukan vesikel pada membran mukosa. Selain itu, bakteri tersebut dapat menghancurkan vakuola fagositik intraselular, memasuki sitoplasma untuk memperbanyak diri dan menginvasi sel yang berdekatan. Sel epitel akan mati dan terjadi ulserasi serta inflamasi mukosa, dari bagian yang mengalami inflamasi tersebut *shigella* menghasilkan eksotoksin yang berdasarkan cara kerja toksin dikelompokkan menjadi neurotoksik, enterotoksik, dan sitotoksik. Toksin inilah yang menyebabkab berbagai gejala shigellosis, seperti demam, malaise, dan nyeri otot (Nafianti dan Sinuhaji, 2005).

2.2.4 Gambaran Klinis

Setelah masa inkubasi yang pendek yakni satu sampai tiga hari secara tiba-tiba akan timbul gejala nyeri perut, demam, dan tinja berbentuk encer. Tinja yang berbentuk encer akibat kerja eksotoksin dalam usus halus. Sehari atau beberapa hari kemudian, karena infeksi meliputi ileum dan kolon, maka jumlah tinja meningkat, tinja berbentuk kurang encer tapi sering mengandung lendir dan

darah. Tiap gerakan usus disertai dengan “mengedan” dan tenesmus (spasmus rektum), yang menyebabkan nyeri perut bagian bawah.

Demam dan diare sembuh secara spontan dalam dua sampai lima hari pada lebih dari setengah kasus dewasa. Namun, pada anak-anak dan orang tua, kehilangan air dan elektrolit dapat menyebabkan dehidrasi, asidosis, dan bahkan kematian (Nathania, 2008). Komplikasi yang serius dapat menyebabkan abnormalitas metabolik, sepsis, *toxic megacolon*, perforasi usus, dan *haemolytic-uraemic syndrome,* walaupun kebanyakan pasien telah memasuki masa penyembuhan selama kurang lebih 7 hari sampai 10 hari (WHO, 2005).

2.2.5 Identifikasi Laboratorium *Shigella dysenteriae*

Identifikasi bakteri *Shigella dysenteriae* menggunakan bahan pemeriksaan dan pembenihan. Bahan pemeriksaan dapat berupa tinja yang mengandung darah, lendir, atau swab rectum. Pada tahap pembenihan bahan pemeriksaan diinokulasikan pada medium diferensial (misalnya agar *MacConkey’s* atau EMB) dan pada media selektif (agar *Salmonella-shigella*) yang dapat menekan *Enterobacteriaceae* yang lain dan organisme gram positif. Koloni yang tidak berwarna (lactose-negative fermenter) selanjutnya diinokulasikan ke medium agar TSI dan dilakukan reaksi aglutinasi pada gelas objek menggunakan antisera spesifik terhadap *Shigella dysenteriae* (Dzen *et al*., 2003).

Shigella dysenteriae teridentifikasi dengan koloni yang tumbuh tidak memfermentasikan laktosa. Hasil tes biokimia sukrosa negative, ducitol negative, indol negative, lisin dekarboksilase negative (Collins *et al*., 2004).

2.2.6 Pengobatan

Pada kondisi infeksi ringan umumnya disentri basiler dapat sembuh sendiri sekitar empat sampai tujuh hari. Pasien dianjurkan 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 muntah berlebihan, jika tidak dapat dilakukan rehidrasi oral maka harus dilakukan rehidrasi intravena. Infeksi berat *Shigella* dapat diobati dengan menggunakan antibiotika termasuk ampicilin, trimethoprim-sulfamethoxazole, dan ciprofloxacin. Namun, beberapa *Shigella* telah menjadi kebal terhadap antibiotika, ini terjadi karena penggunaan antibiotika yang sering untuk melawan *shigellosis* ringan (Nathania, 2008).

Menurut WHO (2005), penggunaan ampicillin, chloramphenicol, co-trimoxazole, dan tetrasiklin sudah tidak dapat digunakan pada semua genus *Shigella* karena bakteri sudah mengalami resistensi pada antibiotik tersebut, sehingga tidak lagi direkomendasikan sebagai pengobatan. Ciprofloxacin yang sebelumnya digunakan sebagai cadangan obat untuk mengobati, kini menjadi obat pilihan pertama untuk mengobati diare berdarah. Selain itu, dapat digunakan pimecilinam dan ceftriaxone yang masih efektif untuk megobati multi-resisten strain *Shigella* pada semua kelompok umur.

2.2.7 Antimikroba

Obat antimikroba memiliki susunan atau sifat kimiawi dan cara kerja yang berbeda-beda antara obat yang satu dengan obat yang lainnya. Obat antimikroba dapat menganggu pada bagian-bagian dari mikroba, yakni dinding sel, protein, asam nukleat, dan metabolit intermedier. Berdasarkan spektrumnya obat antimikroba dapat menghambat atau membunuh bakteri, jamur, dan virus. Aktivitas antimikroba dapat bersifat mematikan dengan diberi akhiran –sidal, misalnya bakterisidal, virusidal atau hanya bersifat menghambat pertumbuhan mikroba dengan diberi akhiran statika, misalnya bakteriostatika, fungistatika. Pada kemampuan mempengaruhi banyaknya jenis mikroba dikenal dengan antimikroba berspektrum sempit dan berspektrum luas (Dzen *et al*., 2003).

Berdasarkan mekanisme kerjanya obat antimkroba terdiri dari beberapa cara yakni (Dzen *et al*., 2003).

- Menghambat Sintesis Dinding Sel

  Golongan antimikroba ini memiliki dasar toksisitas selektif berupa perbedaan pada struktur dinding sel prokariot yang terdiri atas peptidoglikan, sedangkan pada sel eukariot tidak mempunyai peptidoglikan sehingga obat ini aman sebagai obat antibakteri namun tidak mempunyai pengaruh pada fungi, parasit maupun, sel hospes. Golongan ini efektif digunakan pada saat bakteri sedang aktif membelah. Contoh obat antimikroba yang termasuk dapat menghambat sintesis dinding sel bakteri yakni :

a. Golongan β-laktam

Bersifat antimikroba karena memiliki rumus cincin β-laktam. Obat berikatan dengan reseptor pada dinding sel bakteri yang disebut *penicillin binding proteins* sehingga dapat menghambat pembentukkan dinding sel pada proses transpeptidasi. Obat antimikroba yang termasuk golongan β-laktam adalah antibiotika penisilin, sefalosporin, dan karbapenem. Antimikroba β-laktam dapat bersifat bakterisidal.

b. Golongan *Non β-laktam*

Mekanisme kerja antimikroba *Non β-laktam* adalah menghambat pembentukan peptidoglikan pada tahap awal pembentukan dinding sel. Contoh obat golongan ini yakni, vankomisin, basitrasin, novobiosin, ristosetin, dan fosfomosin.

- Merusak Membran Sel

Pada bakteri bila terjadi kerusakan membran sel dapat menyebabkan bakteri mati. Contoh antimikroba yang merusak membran sel yakni golongan azol dan golongan poliene. Golongan poliene contohnya amfoterisisn B dapat mengikat ergosterol membran sel fungi, sedangkan golongan azol dapat menghambat proses metilasi pada biosintesis sterol dari membran sel fungi.

- Menghambat Sintesis Protein

Golongan antimikroba ini memiliki dasar toksisitas selektif yakni berupa struktur ribosom sel prokariot adalah 70S berbeda dengan sel eukariot memiliki struktur ribosom 80S. Ribosom 70S bakteri terdiri dari unit 50S dan 30S. Salah satu contoh obat antimikroba yang bekerja pada unit 50S adalah kloramfenikol dan linkomisin dengan cara menghambat perpanjangan rantai polipeptida, sedangkan salah satu contoh obat antimikroba yang bekerja pada unit 30S adalah streptomisin bekerja dengan cara mengubah bentuk ribosom.

- Menghambat Sintesis Asam Nukleat

Obat antimikroba golongan ini bekerja dengan cara menghambat sintesis mRNA pada proses transkripsi contohnya rifampisin atau menghambat replikasi DNA pada proses pembelahan sel salah satu contohnya adalah golongan kuinolon. Contoh golongan kuinolon adalah siprofloksasin, ofloksasin, norfloksasin.

- Antagonis Metabolit

Obat antimikroba golongan ini bekerja dengan cara menghambat secara kompetitif terhadap sintesis metabolit esensial. Umumnya antibakteri golongan ini bersifat sebagai bakteriostatik. Salah satu contoh golongan ini adalah sulfonamid memiliki struktur yang mirip dengan *para amino benzoid acid* yang dibutuhkan bakteri untuk membentuk asam folat.

2.2.8 Resistensi Mikroba

Resistensi merupakan ketahanan bakteri terhadap antibiotik tertentu. Resistensi ini dapat berupa resistensi alamiah, resistensi kromosomal dan resistensi ekstrakromosomal (Kurniawati, 2012).

Resistensi alamiah adalah secara alamiah tidak peka terhadap antibiotik tertentu, disebabkan hampir semua antibiotik bekerja dengan baik pada masa pembelahan sel bakteri. Oleh karena itu, bakteri yang tidak aktif membelah dapat menjadi resisten terhadap antibiotik. Salah satu contoh bakteri tuberkulosis yang tinggal dalam jaringan dan tidak sedang aktif membelah disebabkan mekanisme pertahanan tubuh dapat resisten terhadap antibiotik (Dzen *et al*., 2003).

Resistensi kromosomal adalah resistensi kromosom yang disebabkan terjadinya mutasi spontan pada gen kromosom sedangkan, resistensi ekstrakromosomal adalah terdapatnya faktor R yang berperan yaitu kelompok plasmid yang membawa gen resistensi (Kurniawati, 2012). Sebagai salah satu contoh resistensi kromosomal adalah hilangnya struktur target pada ribosom bakteri, sehingga bakteri resisten terhadap obat golongan amino glikosida dan eritromisin. Pada resistensi ekstrakromosomal contoh resistensi yakni Plasmid penisilinase pada bakteri stafilokokus dapat membawah gen yang dapat menyebabkan bakteri menghasilkan penisilinase, sehingga bakteri dapat resisten terhadap antibiotik penisilin. Plasmid penisilinase ini dapat dipindahkan dari bakteri satu ke bakteri yang lain melalui bakteriofaga (Dzen *et al*., 2003).

2.3 Uji Aktivitas Antibakteri secara *In vitro*

Tujuan pengujian kepekaan aktivitas antibakteri terhadap bakteri yaitu untuk mengetahui apakah terdapat potensi bakteriostatik atau bakteriosidik dari antimikroba yang masih dapat digunakan untuk mengatasi infeksi oleh mikroba tersebut. Pengujian ini dapat dilakukan secara *in vitro* dan *in vivo*. Secara *in vitro* dapat dilakukan dengan menggunakan medium benda mati dan dua metode uji yakni metode dilusi dan difusi cakram sedangkan, pengujian secara *in vivo* dapat dilakukan menggunakan hewan coba (Dzen *et al*., 2003).

2.3.1 Metode Dilusi

Metode dilusi dibagi menjadi dua yakni dilusi tabung dan dilusi agar. Metode ini dilakukan untuk mengetahui KHM (Kadar Hambat Minimal) dan menentukan KBM (Kadar Bunuh Minimal) dari obat antibakteri (Dzen *et al*., 2003).

2.3.1.1 Dilusi Tabung

Metode dilusi tabung dapat menentukan konsentrasi terendah obat antibakteri yang mampu membunuh pertumbuhan bakteri adalah nilai KBM. Prinsip metode ini yakni dengan menggunakan tabung reaksi yang berisi campuran sediaan bakteri dalam bentuk cair (dengan konsentrasi tentertu) dan obat antibakteri dalam bentuk cair. Selanjutnya, tabung reaksi tersebut diinkubasikan pada suhu 37^{o}C selama 18-24 jam. Setelah itu, diamati secara kualitatif dengan melihat kekeruhannya. Konsentrasi terendah obat antibakteri yang telihat jernih adalah nilai dari KHM. Pada biakan dari tabung selanjutnya dilakukan *streaking* pada medium agar dan diinkubasi pada suhu 37^{o}C selama 18-24 jam kemudian, diamati ada tidaknya pertumbuhan koloni bakteri untuk menentukan nilai KBM (Dzen *et al.,* 2003).

Menurut Ellen dan Lenegod (1986), jumlah bakteri uji yang digunakan untuk uji dilusi tabung yakni sebesar 10^6 CFU/ml. Jumlah tersebut didapatkan dari satu mili suspensi organisme uji yang telah diperoleh Optical Densitynya dengan pengukuran spektrofotometri. Menurut Chaouche *et al*., (2012), Optical Density (OD) dengan nilai 0,1 setara dengan suspensi bakteri uji dengan konsentrasi bakteri 10^8 CFU/ml sehingga, untuk memperoleh suspensi bakteri uji sebesar 10^6 CFU/ml harus dilakukan pengenceran dari konsentrasi tersebut.

2.3.1.2 Dilusi Agar

Metode dilusi Agar digunakan untuk mengetahui dan menentukkan nilai KHM. Metode ini digunakan untuk penentuan KHM yang tidak bisa ditentukkan dengan baik menggunakan media cair (Kurniawati, 2012). Metode ini dilakukan dengan cara mengencerkan bahan antimikroba secara serial dicampurkan ke medium agar yang masih cair dan sudah tidak terlalu panas. Agar yang mengandung antimikroba dibiarkan memadat dan diinokulasikan dengan konsentrasi bakteri 1×10^4 CFU/ml. Pada metode ini antimikroba dan mikroba ditanamkan pada media agar padat ditambah dengan satu kontrol tanpa disertai antimikroba. Metode dilusi agar dapat menggujikan satu atau lebih bakteri terisolasi untuk setiap cawan dengan menggunakan satu konsentrasi antimikroba lalu diinkubasikan pada suhu 37°C selama 16 – 20 jam. Hasil dari uji metode dilusi agar hanya berupa KHM dan hanya berupa kategori atau keduanya (Forbes, 2007).

2.3.2 Metode Difusi Cakram

Pada metode difusi cakram memiliki prinsip dengan menggunakan *paper disk* yang mengandung antibiotik tertentu. *Paper disk* yang berisi antibiotik tersebut diletakkan pada agar yang telah diinokulasikan bakteri, selanjutnya dilakukan inkubasi pada suhu 37^{o}C selama 18-24 jam. Area (zona) bening disekitar *paper disk* diamati dilihat ada tidaknya pertumbuhan bakteri (Dzen *et al*., 2003).

Evaluasi hasil difusi cakram dapat dilakukan dengan dua cara yaitu Kirby Bauer dan Joan-Stokes. Cara Kirby Bauer yakni membandingkan diameter zona hambat yang berada di sekitar *paper disk* dengan tabel standar yang dibuat oleh *National Committe for Clinical Laboratory Standard* (NCCLS). Melalui tabel NCCLS dapat diketahui kriteria sensitif (S), sensitif intermediet (I) dan resisten (R) (Dzen *et al*., 2003).

Pada cara Joan-Stokes membandingkan radius zona hambat yang terjadi antara bakteri kontrol yang sudah diketahui kepekaannya terhadap obat antibakteri dengan isolat bakteri yang diuji. Pada cara ini, uji kepekaan untuk bakteri control dan bakteri uji dilakukan bersama-sama dalam satu piring agar (Dzen *et al*., 2003).