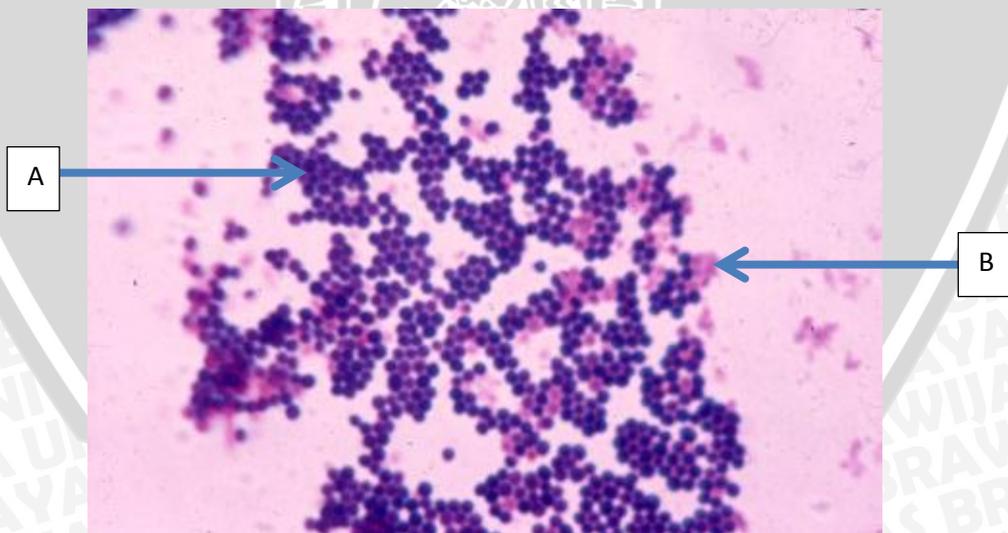


BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Staphylococcus aureus*2.1.1 Definisi *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus adalah sel sferis gram+, tersusun dalam kelompok seperti anggur tidak teratur. *Staphylococcus aureus* sangat mudah tumbuh diberbagai medium dan aktif secara metabolik, fermentasi karbohidrat serta menghasilkan pigmen putih – kuning tua. Secara fungsional *Staphylococcus aureus* merupakan flora normal dalam kulit dan membran mukosa manusia tetapi dapat juga menjadi bakteri patogen sehingga menyebabkan hemolisis darah, mengkoagulasi plasma serta menghasilkan berbagai enzim dan toksin ekstraseluler. *Staphylococcus aureus* sangat cepat menjadi resistan terhadap banyak obat antimikroba dan menimbulkan masalah dalam terapi. (Jawetz,2008)



Gambar 2.1 : *Staphylococcus aureus* pada Gram-stained (Wistreich Collection,2011)

Keterangan :

A : bakteri *Staphylococcus aureus* gram +

B : bakteri *Staphylococcus aureus* gram –

2.1.2 Morfologi

Kingdom	:	<i>Bacteria</i>
Filum	:	<i>Eukariota</i>
Kelas	:	<i>Schizomycetes</i>
Ordo	:	<i>Eubacteriales</i>
Family	:	<i>Micrococcaceae</i>
Genus	:	<i>Staphylococcus</i>
Species	:	<i>Staphylococcus aureus</i>

Staphylococcus memiliki bentuk *spherical* (bulat) atau *coccus* dengan ukuran diameter sekitar 0,8 μm (0,4-1,2 μm), Hasil pewarnaan dari perbenihan padat menunjukkan susunan bakteri yang bergerombol seperti anggur, sedangkan dari perbenihan cair tampak bentukan bakteri yang soliter, berpasangan atau membentuk rantai pendek yang biasanya terdiri lebih dari empat sel. Bakteri ini tidak dapat bergerak, namun dengan cara tetes gantung ditemukan adanya gerakan Brown (Dzen *et al.*, 2010).

Pada pewarnaan Gram, kokus yang muda memberikan pewarnaan Gram positif yang kuat sedangkan kokus yang tua menjadi Gram negatif akibat penuaan. Selain akibat penuaan, organisme yang mengalami fagositosis oleh sel juga bersifat Gram negatif.

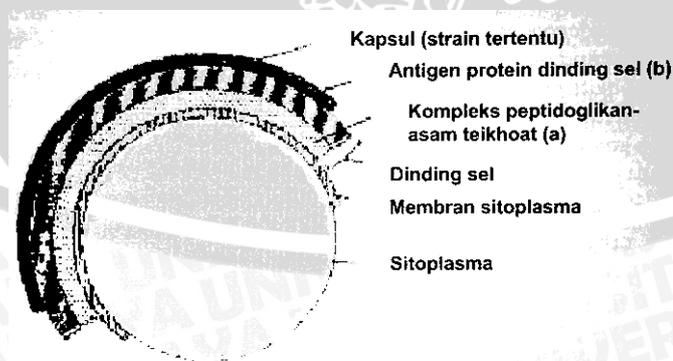
Staphylococcus dapat tumbuh dengan mudah di berbagai medium dan aktif secara metabolik, melakukan fermentasi karbohidrat dan menghasilkan pigmen yang bervariasi dari putih hingga kuning tua. Beberapa tipe bakteri ini termasuk flora normal dari kulit dan membran mukosa manusia, sedangkan tipe lain dapat menyebabkan supurasi, membentuk abses, berbagai infeksi *pyogenic*, dan bahkan septikemia yang fatal.

Staphylococcus aureus bersifat koagulase positif dan merupakan patogen utama pada manusia. Tipe patogen dari bakteri *Staphylococcus* diketahui dapat menyebabkan hemolisis darah, mengkoagulase plasma, serta menghasilkan berbagai enzim dan toksin ekstraselular. Hampir semua orang pernah mengalami infeksi bakteri ini mulai dari keracunan makanan, infeksi derajat ringan hingga infeksi yang mengancam jiwa. Bentuk keracunan makanan paling sering disebabkan oleh enterotoksin yang dihasilkan oleh *Staphylococcus* (Brooks, et al., 2007).

2.1.3 Faktor Patogenitas

2.1.3.1 Struktur Antigen

Staphylococcus aureus mengandung polisakarida dan protein serta substansi penting lainnya dalam struktur dinding sel. Peptidoglikan, polimer polisakarida yang terangkai dengan subunit-subunit, merupakan eksoskelet yang kaku pada dinding sel. Asam teikhoat merupakan polimer gliserol atau ribitol fosfat yang apabila berhubungan dengan peptidoglikan dapat menjadi antigenik (Brooks, et al., 2007).



Gambar 2.2 Struktur Antigen *Staphylococcus* (Dzen et al., 2010)

Peptidoglikan sangat penting dalam menentukan patogenitas infeksi. Zat ini memicu monosit untuk memproduksi interleukin-1 yang merupakan pirogen endogen, dan memproduksi antibodi opsonik. Zat ini juga dapat menjadi *chemoattractant* bagi leukosit polimorfonuklear yang memiliki aktifitas mirip endotoksin dan mengaktifkan komplemen (Wilson, *et al.*, 2002; Brooks, *et al.*, 2007).

2.1.3.2 Metabolit

Metabolit merupakan suatu molekul yang terbentuk sebagai hasil dari metabolisme. Metabolit ini memiliki berbagai macam fungsi, termasuk sebagai sumber energy, struktur, pemberi sinyal, efek stimulasi dan inhibisi pada enzim, katalisator, pertahanan dan interaksi dengan organisme lain.

2.1.3.2.1 Metabolit Non Toksin

1. Antigen permukaan, merupakan materi kapsul yang berfungsi untuk mencegah fagositosis, mencegah reaksi koagulasi dan melekatnya bakteriofaga (Dzen *et al.*, 2010).
2. Koagulasi, enzim ini dapat menggumpalkan plasma oksalat atau plasma sitrat karena faktor koagulasi reaktif di dalam serum. Faktor ini akan bereaksi dengan koagulasi dan menghasilkan suatu esterase yang dapat membangkitkan aktivitas penggumpalan, sehingga terjadi deposit fibrin pada permukaan sel bakteri yang dapat membantu menghambat fagositosis (Brooks, *et al.*, 2007).
3. Hialuronidase, enzim ini membantu penyebaran bakteri *Staphylococcus aureus* di jaringan dengan cara menghidrolisis asam hialuronik sehingga

bersifat invasif dan disebut sebagai *spreading factor* (Dzen *et al.*, 2010; Brooks, *et al.*, 2007).

4. Stafilokinase atau fibrinolisin, dihasilkan oleh 80% galur koagulase positif dan juga dihasilkan oleh galur koagulase negatif serta tidak tahan panas. Metabolit ini merupakan aktivator plasminogen yang melisiskan fibrin. Fibrinolisis lokal dapat membantu penyebaran bakteri (Dzen *et al.*, 2010; Todar, 2010).
5. Protease, bersifat proteolitik dan dapat menyebabkan nekrosis pada jaringan yang diinvasi, termasuk jaringan tulang (Dzen *et al.*, 2010).
6. Lipase, bersifat antigenetik dan pada inokulasi *Staphylococcus* koagulase positif galur tertentu pada *Blood Agar Plate* (BAP) darah manusia terlihat pada permukaan koloni terdapat bercak-bercak lemak yang tersusun dari asam oksadekamoat. Ini terjadi karena lipase memutuskan ikatan asam ini dengan lipid (Dzen *et al.*, 2010).
7. Fosfatase, lisosim dan penisilinase. Terdapat korelasi antara aktivitas fosfatase, patogenitas bakteri dan pembentukan koagulasa, tapi kurang khas jika dipakai sebagai petunjuk virulensi. Lisosim diproduksi oleh sebagian besar galur koagulase positif dan penting untuk menentukan patogenesis bakteri. Penisilinase dibuat oleh beberapa jenis *Staphylococcus* terutama dari grup I dan III, serta berperan dalam resistensi terhadap penisilin (Dzen *et al.*, 2010).
8. Katalase, enzim ini dibuat oleh *Staphylococcus* dan *Micrococcus*, sedangkan *Pneumococcus* dan *Streptococcus* tidak memproduksi enzim

ini. Enzim ini membantu bakteri untuk bertahan pada saat difagositosis. Adanya enzim ini dapat diketahui dengan munculnya gelembung udara pada penuangan H₂O₂ 3% pada koloni *Staphylococcus* (Dzen *et al.*, 2010).

2.1.3.2.2 Metabolit Toksin

1. Eksotoksin

a. Alfa Hemolisin

Merupakan toksin merusak membran yang paling potensial. Pada manusia trombosit dan monosit sangat sensitif terhadap toksin alfa. Sel ini memiliki reseptor spesifik untuk toksin alfa yang memungkinkan toksin berikatan dan menyebabkan terbentuknya celah kecil yang mana kation monovalen dapat memasukinya sehingga terjadi lisis osmotik (Dzen *et al.*, 2010).

b. Beta Hemolisin

Toksin ini terutama dihasilkan oleh jenis yang berasal dari hewan dan dapat menyebabkan terjadi *hot-cold* lisis pada sel darah merah domba dan sapi. Toksin ini merupakan sphingomyelinase yang merusak membran sel yang kaya akan lemak. Bakteriofaga lisogenik diketahui sebagai pemroduksi toksin ini (Dzen *et al.*, 2010).

c. Delta Hemolisin

Bersifat non toksik, dan dapat merusak sel erosit manusia dan kuda (Dzen *et al.*, 2010).

d. Panton Valentin Leukosidin

Merupakan toksin protein multikomponen yang diproduksi sebagai komponen terpisah yang bekerja dalam merusak membran. Leukosidin membentuk celah transmembran hetero-oligomerik yang disusun oleh 4 subunit LukF dan 4 subunit LukS, oleh karena itu akan membentuk celah oktamerik pada membran yang terkena (Dzen *et al.*, 2010).

2. Enterotoksin

Sekurang-kurangnya ada 6 toksin A sampai F yang dihasilkan oleh hampir 50% strain *Staphylococcus aureus*. Toksin ini diproduksi bila ditanam pada medium semisolid dengan konsentrasi CO₂ 30%. Berbagai enterotoksin ini tahan terhadap panas dalam pendidihan selama 30 menit dan tahan terhadap daya kerja enzim-enzim usus. *Staphylococcus* merupakan penyebab penting dalam keracunan makanan. Manusia yang memakan 25 µg enterotoksin B akan mengalami muntah dan diare. Efek muntah ini akibat perangsangan pusat emetik setelah toksin bekerja pada reseptor-reseptor saraf dalam usus. Enterotoksin dapat diukur dengan presipitin (Dzen *et al.*, 2010; Brooks, *et al.*, 2007).

3. Toksin Exfoliatin

Toksin ini berhubungan dengan *scalded skin syndrome*, menyebabkan pelepasan pada epidermis, antara lapisan sel hidup dan

lapisan sel superfisial di stratum granulosum epidermis (Brooks, *et al.*, 2007).

4. Toxic Shock Syndrome Toxin

Pada manusia, toksin ini menyebabkan demam, syok, dan gangguan multisistemik, termasuk ruam kulit deskuamatif. Diperkirakan toksin ini merangsang sel-sel imunokompeten dalam jumlah yang cukup banyak sehingga digolongkan sebagai super antigen hingga dapat berakibat fatal jika tidak ditangani dengan cepat dan tepat. (Dzen *et al.*, 2010; Brooks, *et al.*, 2007).

2.1.4 Perbenihan

Perbenihan *Staphylococcus aureus* memerlukan suhu optimal antara 20-38°C atau sekitar 35°C. Apabila bakteri tersebut diisolasi dari seorang penderita, suhu optimal yang diperlukan adalah 37°C. Bakteri ini akan berkembang dengan cepat pada suhu tersebut tetapi suhu terbaik untuk menghasilkan pigmen adalah suhu ruangan (20-25°C). pH optimal untuk pertumbuhan *Staphylococcus aureus* adalah 7,4. Spesimen yang digunakan untuk pembiakan bakteri *Staphylococcus aureus* pada penelitian bakteriologi biasanya berupa :

- a. Usapan permukaan kulit
- b. Pus
- c. Darah
- d. Apirasi trakea
- e. Cairan spinal

Atau tergantung pada lokasi proses peradangan. (Jawetz,2008)

Pada umumnya *Staphylococcus* dapat tumbuh pada medium-medium yang biasa dipakai di laboratorium bakteriologi, misalnya sebagai berikut:

a. Uji Katalase

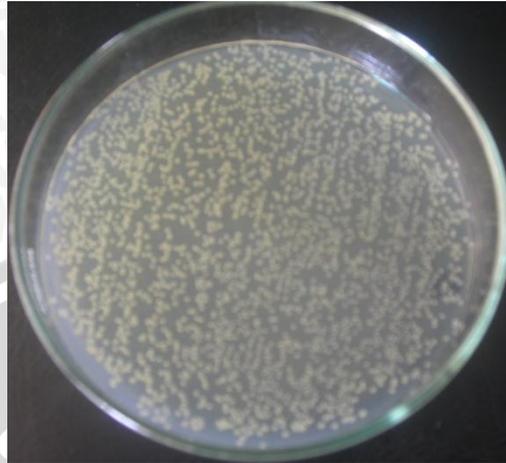
Setetes larutan hidrogen peroksida diletakkan di gelas objek, dengan sedikit pertumbuhan bakteri didalamnya lalu amati adanya pembentukan gelembung pada gelas objek yang telah diberi perlakuan seperti diatas. (Jawetz,2008)



Gambar 2.3 : *Staphylococcus aureus* pada Uji Katalase (CDC, 2012)

b. Nutrient Agar Plate (NAP)

Medium ini penting untuk mengetahui adanya pembentukan pigmen khas dari bakteri *Staphylococcus aureus*. Pigmen khas yang tampak pada biakan bakteri *Staphylococcus aureus* akan membentuk pigmen berwarna kuning emas. Koloni yang tumbuh berbentuk bulat, berdiameter 1-2 mm, konveks dengan tepi rata, permukaan mengkilat seperti mutiara dan konsistensinya lunak. (Jawetz,2008)



Gambar 2.4 : *Staphylococcus aureus* pada Nutrient Agar Plate (Putri,2013)

c. *Blood Agar Plate* (BAP)

Medium tersebut dipakai secara rutin. Koloninya akan tampak lebih besar, dan pada galur yang ganas biasanya memberikan zona hemolisa yang jernih di sekitar koloni yang mirip dengan koloni *Streptococcus β-hemolyticus*. (Dzen *et al.*, 2010; Brooks, *et al.*, 2007)

Pada umumnya, untuk membiakkan *Staphylococcus aureus*, perlu medium yang mengandung asam amino dan vitamin-vitamin misalnya: threonin, asam nikotinat, dan biotin. (Dzen *et al.*, 2010; Brooks, *et al.*, 2007)

Untuk isolasi primer dari infeksi campuran, terutama yang berasal dari tinja atau luka-luka, perlu medium yang mengandung garam NaCl konsentrasi tinggi misalnya 7,5% atau medium yang mengandung polimiksin (*Polymixin Staphylococcus medium*). (Dzen *et al.*, 2010; Brooks, *et al.*, 2007)



Gambar 2.5 : *Staphylococcus aureus* pada Blood Agar Plate (Rodolfo,2011)

d. *Mannitol Agar*

mannitol agar dan akan membentuk koloni khas dalam 18 jam pada suhu 37°C, tapi tidak menghasilkan pigmen dan hemolisis sampai beberapa hari kemudian. (Dzen *et al.*, 2010; Brooks, *et al.*, 2007)



Gambar 2.6 : *Staphylococcus aureus* pada MSA (MMU,2011)

2.1.5 Manifestasi Klinik

Bakteri ini dapat menyerang seluruh tubuh. Bentuk klinisnya tergantung dari bagian tubuh yang terkena infeksi.

- Pada kulit: furunkel, karbunkel, impetigo, *scalded skin syndrome*, dan lain-lain.
- Pada kuku: paronikhia
- Pada tulang: osteomielitis
- Pada sistem pernapasan: tonsilitis, bronkhitis dan pneumonitis
- Pada otak: meningitis dan ensefalomielitis
- Pada traktus urogenitalis: sistitis dan pielitis
- *Toxic shock syndrome*; suatu keadaan ditandai dengan panas mendadak, diare, syok, *diffuse maculo erythematous rash*, hiperemi pada konjungtiva, orofarings dan membran mukus vagina. Terutama timbul pada wanita yang mengalami menstruasi dan berhubungan dengan pemakaian tampon.
- Keracunan makanan: terjadi akibat menelan makanan yang telah terkontaminasi dengan enterotoksin stafilokokus. Jenis keracunan makanan seperti ini disebut tipe toksik. Masa inkubasi singkat (2-6 jam) dan gejala yang timbul biasanya muntah dan diare, tetapi biasanya dapat sembuh spontan (dalam 24-36 jam).

Dari bentuk-bentuk klinis di atas yang sering menimbulkan kematian adalah septisemia, endocarditis, ensefalitis, dan *toxic shock syndrome*. (Dzen *et al.*, 2010)

2.1.6 Terapi dan Kontrol

Kontrol terhadap infeksi *Staphylococcus* dapat dilakukan dengan berbagai cara antara lain:

1. Mencuci tangan, terutama bagi tenaga medis setelah kontak dengan pasien.
2. Luka kulit harus dibersihkan dan ditutup dengan balutan.
3. Dilakukan *screening* pada pramusaji makanan terhadap *Staphylococcus* dan ditangani walaupun tidak terdapat infeksi aktif. Karier *Staphylococcus* tidak boleh dipekerjakan pada bagian persiapan dan pengolahan makanan.
4. Dilakukan pemeriksaan *Staphylococcus* dan toksinnya pada susu. Hanya susu yang dimasak atau melalui proses pasteurisasi saja yang boleh untuk dikonsumsi.
5. Pembersihan alat-alat medis dan ruangan-ruangan di rumah sakit dengan disinfektan secara tepat dan benar. (Modric, 2008)

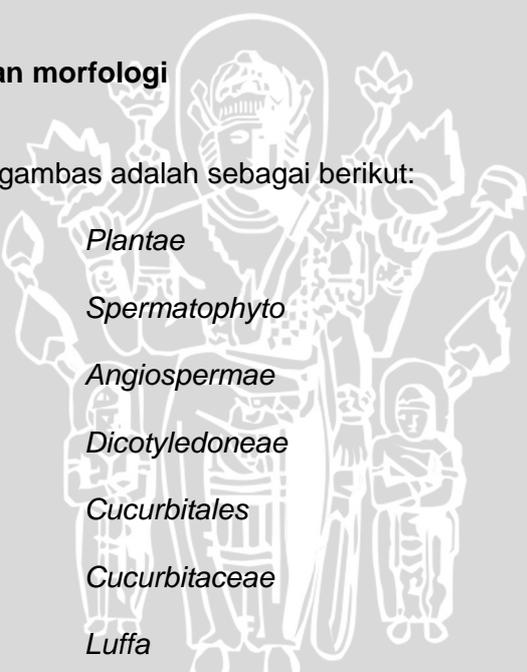
Infeksi kulit lokal diterapi dengan salep antibakterial. Pada kasus infeksi yang lebih ekstensif, dilakukan tes sensitivitas antibiotik, kemudian antibiotik oral dapat diberikan. Abses kulit selalu harus dilakukan pengeluaran pus dan abses yang dalam memerlukan operasi drainase pus. Pada kasus sistemik, rawat inap

dan administrasi antibiotik intravena sangat diperlukan. Infeksi *Staphylococcus* yang berat memerlukan penanganan dengan penisilin resisten penisilinase secara parenteral seperti nafsilin dan oksasilin, atau cephalosporin generasi pertama atau kedua seperti cephalexin, cefuroxime ditambah dengan klindamisin. Vankomisin digunakan untuk kasus infeksi *Methicilin Resistant Staphylococcus aureus* dan strain yang resisten terhadap klindamisin atau infeksi yang *life threatening*. (Modric, 2008).

2.2 *Luffa acutangula*

2.2.1 Determinasi dan morfologi

Sistematika tumbuhan gambas adalah sebagai berikut:



Kingdom	:	<i>Plantae</i>
Divisio	:	<i>Spermatophyto</i>
Subdivisi	:	<i>Angiospermae</i>
Class	:	<i>Dicotyledoneae</i>
Order	:	<i>Cucurbitales</i>
Family	:	<i>Cucurbitaceae</i>
Genus	:	<i>Luffa</i>
Spesies	:	<i>Luffa acutangula</i>

Tumbuhan gambas berasal dari India kemudian menyebar ke berbagai negara yang beriklim tropis. Tanaman ini banyak dibudidayakan di Cina, Jepang serta negara - negara di kawasan Asia Tenggara seperti Indonesia, Malaysia dan Filipina (R.N Chopra, 2006)

Tumbuhan gambas berbatang lunak dengan bentuk segi lima, tumbuh

merambat atau menjalar, serta mempunyai sulur yang digunakan sebagai alat untuk merambat. Sulur muncul dari ketiak daun, berbentuk spiral dan mempunyai bulu yang lebih panjang dari pada bulu-bulu batang. Daunnya tunggal berwarna hijau tua, bentuk lonjong (silindris) dengan pangkal mirip bentuk jantung, puncak daun meruncing dan permukaan daun kasar. Daun berukuran panjang 10 cm - 25 cm dan bertangkai sepanjang 5 cm - 10 cm, tulang daun menonjol pada permukaan bawah. Bunganya berkelamin satu (monoecus) yaitu bunga jantan dan betina terdapat dalam satu tanaman. Bunganya berwarna kuning, dapat menyerbuk sendiri (self pollination) dan menyerbuk silang (cross pollination). Buah gambas berbentuk bulat panjang dengan bagian pangkal kecil. Buah berukuran panjang 15-60 cm, lebar 5-12 cm dengan diameter 5-8 cm. Tiap buah berbiji banyak dan tiap biji berukuran 11-13 mm x 7-9 mm dengan struktur kulit agak keras (R.N Chopra, 2006)



Gambar 2.7 : Gambas *Luffa Acutangula* (Putri,2013)

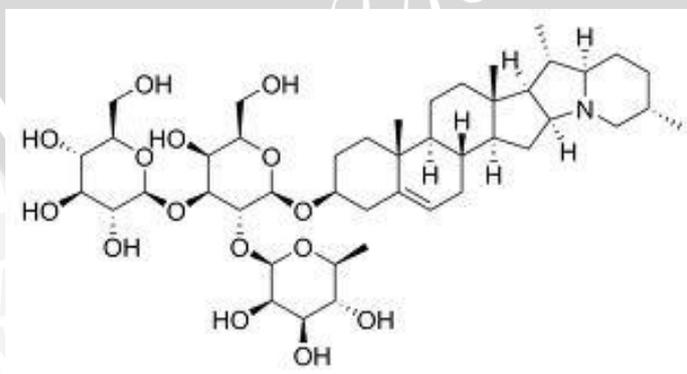


Gambar 2.8 : Biji gambas *Luffa Acutangula* (Putri,2013)

Buah yang sudah tua berwarna hijau kecoklatan hingga kuning coklat, dan kulit biji berwarna hitam dan keras. Buah yang sudah tua mengandung serat-serat kasar yang sering dipergunakan sebagai spons. (R.N Chopra, 2006)

2.2.2 Kandungan kimia

Saponin yang ini merupakan senyawa glikosida kompleks bermolekul tinggi yang mengandung mengandung gugus gula terutama glukosa, galaktosa, xylosa, rhamnosa atau methilpentosa yang berikatan dengan suatu aglikon hidrofobik (sapogenin) berupa *triterpenoid* atau *steroid alkaloid*. (R.N Chopra, 2006)



Gambar 2.9 : Struktur kimia *Saponin* (Arinda.2009)

Glikosida saponin adalah glikosida yang aglikonnya berupa saponin . *saponin* terdapat pada seluruh tanaman, dengan variasi konsentrasi tinggi pada bagian-bagian tertentu, serta 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 manfaat sebagai zat ekspektoran, vasoprotektif, menurunkan kolestrol, immunomodulator, menurunkan gula darah, antifungal, antiparasitic sifat anti eksudatif dan mempunyai sifat anti inflamatori. (Arinda,2009)

Senyawa ini banyak ditemukan pada tanaman akar, umbi, kulit pohon, biji maupun buah. Kandungan senyawa *saponin* pada tumbuhan sangat dipengaruhi oleh berbagai macam faktor yaitu : umur fisiologis, kondisi agronomi serta lingkungan, semakin muda usia tanaman maka jumlah senyawa *saponin* akan semakin tinggi. (R.N Chopra, 2006)

Saponin tersebar luas di antara tanaman tinggi, untuk mengetahui keterkandungan tanaman akan senyawa *Saponin* sangat mudah, yaitu dengan ditemukannya pembentukan larutan koloidal dengan air yang apabila dikocok menimbulkan buih atau busa yang stabil. Senyawa *Saponin* dapat pula diidentifikasi dari warna yang dihasilkannya dengan pereaksi *Liebermann - Burchard*. Warna biru- hijau menunjukkan *Saponin* steroid alkaloid, dan warna merah, merah muda, atau ungu menunjukkan *Saponin* triterpenoida (R.N Chopra, 2006).

Saponin steroid alkaloid terdapat pada tumbuhan monokotil maupun dikotil, contohnya diosgenin yang terdapat pada *Dioscorea hispida*, dan

hecogenin yang terdapat pada *Agave americana* dan berungsi untuk menghambat sintesis dinding sel pada bakteri. *Saponin* triterpenoida banyak terdapat pada tumbuhan dikotil seperti gipsogenin terdapat pada *Gypsophylla* sp., dan asam glisiretat terdapat pada *Glycyrrhiza glabra* dan dapat mendenaturasi protein pada bakteri (R.N Chopra, 2006).

2.2.3 Penggunaan *Luffa acutangula*

Pemanfaatan tanaman *Luffa acutangula* dalam kehidupan sehari-hari sudah sangat banyak. Tanaman ini sangat familiar dalam kehidupan sehari-hari karna marak digunakan sebagai kebutuhan konsumsi makanan sehari-hari. Dan jika dilihat dari segi terapi, gambas sendiri sering digunakan sebagai terapi alternatif penurunan kadar gula darah pada penderita Diabetes Melitus dan di daerah Sumatra Utara biji gambas digunakan untuk menyembuhkan luka pada pasien Diabetes Mellitus.

2.3 Uji Kepekaan Terhadap Antimikroba *In Vitro*

Uji kepekaan bakteri terhadap antimikroba secara *in vitro* bertujuan untuk mengetahui apakah antimikroba yang diujikan dapat digunakan untuk mengatasi infeksi bakteri tersebut. Uji kepekaan tersebut pada dasarnya dapat dilakukan dengan metode dilusi atau metode difusi cakram.

a. Metode dilusi

Metode ini digunakan untuk menentukan kadar hambat minimal (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM) dari suatu antimikroba. Metode ini terdiri dari dua tahap, tahap pertama untuk menentukan kadar

hambat minimal (KHM) dengan menggunakan media cair dan tahap kedua pada media padat untuk menentukan kadar bunuh minimal (KBM). (Dzen *et al.*, 2010)

Untuk menentukan kadar hambat minimal (KHM) satu seri tabung reaksi diisi media cair dan sejumlah tertentu sel bakteri yang diuji. Kemudian tiap tabung diisi dengan zat yang telah diencerkan secara bertahap. Konsentrasi terendah antimikroba pada tabung yang mulai tampak jernih menunjukkan kadar hambat minimal (KHM). Kejernihan tabung menentukan tingkat pertumbuhan bakteri. Semakin jernih tabung maka tingkat pertumbuhan bakteri semakin rendah. (Dzen *et al.*, 2010)

Untuk menentukan kadar bunuh minimal (KBM) biakan dari tiap tabung yang jernih tadi diinokulasikan pada media padat. Konsentrasi terendah antimikroba yang tidak ada pertumbuhan koloni bakteri adalah kadar bunuh minimal (KBM) antimikroba tersebut. (Dzen *et al.*, 2010)

b. Metode difusi cakram

Metode ini digunakan dengan menjenuhkan antimikroba ke dalam cakram kertas. Cakram kertas ini nantinya akan ditanam pada media perbenihan padat yang telah dicampur dengan bakteri yang diuji. Pengamatan dilakukan terhadap zona jernih di sekitar cakram kertas yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan mikroba. Evaluasi hasil uji ini dapat dilakukan dengan cara Kirby Bauer yang menggunakan tabel standart oleh *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS) ataupun dengan cara Joan-Stokes yang diukur menggunakan

dengan kontrol obat yang ditanam bersama dalam satu piring agar dan telah diketahui kepekaannya. (Dzen *et al.*, 2010)

