

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Serai Dapur (*Cymbopogon Citratus*)

2.1.1 Klasifikasi Ilmiah Tanaman

Kingdom	: <i>Plantae</i> (Tumbuhan)
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i> (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: <i>Spermatophyta</i> (Tumbuhan menghasilkan biji)
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i> (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: <i>Liliopsida</i> (Berkeping satu/monokotil)
Sub Kelas	: <i>Commelinidae</i>
Ordo	: <i>Poales</i>
Famili	: <i>Poaceae</i> (Suku rumput-rumputan)
Genus	: <i>Cymbopogon</i>
Spesies	: <i>Cymbopogon citratus</i> (Muslihah, 1999).

2.1.2 Definisi dan Morfologi Tanaman

Serai dikenal dengan banyak nama di tiap daerah seperti *sereh* atau *sere* (Jawa), *sarai*, *sorai* atau *sange-sange* (Sumatra), *tonti* atau *sare* (Sulawesi), *hisa* atau *isa* (Maluku) (Suryo, 2010).

Secara umum serai dibagi menjadi 2 jenis, yaitu serai dapur (*lemongrass*) dan serai wangi (*sitronella*), perbedaan keduanya terletak pada aromanya. Perbedaan aroma tersebut disebabkan adanya perbedaan komponen utama



komposisi kimianya. Serai wangi memiliki kandungan utama *citronella* sedangkan serai dapur memiliki kandungan utama *citral* (Ambarwati, 2011).

Serai dapur (*lemongrass*) terdiri dari 2 varietas, yaitu serai *flexuosus* (*Cymbopogon flexuosus*) dan serai *citratius* (*Cymbopogon citratus*). Minyak atsiri serai *flexuosus* disebut sebagai *East Indian lemongrass oil*, sedangkan minyak atsiri serai *citratius* dikenal dengan *West Indian lemongrass oil* (Akhila, 2010). Keduanya dapat tumbuh subur di Indonesia, tetapi yang terbanyak terdapat di Indonesia adalah jenis *West Indian* (*Cymbopogon citratus*) (Ambarwati, 2011).

Serai dapur (*Cymbopogon citratus*) merupakan tanaman tahunan (*perennial*) yang hidup secara liar dan *stolonifera* (berbatang semu) yang membentuk rumpun tebal dengan tinggi mencapai 1–1,5 meter, mempunyai aroma yang kuat dan wangi. Tanaman serai memiliki akar yang besar. Morfologi akarnya merupakan jenis akar serabut yang berimpang pendek dan akarnya berwarna coklat muda (Sastrapradja, 1978; Kardinan, 2005; Armando, 2009).

Panen pertama tanaman serai dapat dilakukan sekitar 6 bulan setelah waktu tanam. Selanjutnya bila tanaman sudah memasuki umur produktif maka dapat dilakukan panen setiap 3 – 4 bulan sekali. Tanaman yang telah siap panen memiliki ciri fisik jumlah daun tua 6 – 8 lembar pada setiap rumpunnya. Memiliki daun berwarna hijau tua. Apabila daun diremas, maka akan tercium aroma wangi yang kuat. Panen dilakukan pada pagi hari dan cuaca cerah untuk mempertahankan kandungan minyak esensial pada tanaman (Sumiartha dkk., 2012).



Gambar 2.1 Serai Dapur (*Cymbopogon citratus*) (Dokumentasi pribadi, 2013)

Keterangan:

1. Batang tanaman serai dapur berwarna putih
2. Daun tanaman serai dapur berwarna hijau

Serai mempunyai batang yang bergerombol dan berumbi, lunak dan berongga. Batang tanaman serai berwarna putih, namun ada juga yang berwarna putih keunguan atau kemerahan. Batang tanaman serai bersifat kaku dan mudah patah. Batang ini tumbuh tegak lurus di atas tanah atau condong, membentuk rumpun, pendek dan bulat (silindris) (Wardani, 2009; Purwanti, 2010).

Daun tanaman serai berwarna hijau, berbau harum dan tidak bertangkai berbentuk sederhana/lurus panjang dengan tulang daun tersusun sejajar berukuran $\pm 45-90$ cm (Gilman, 1999). Daunnya panjang dan meruncing ke ujung, memiliki tepi yang kasar dan tajam. Pada permukaan dan bagian bawah daun berbulu halus (Akhila, 2010).

Tanaman serai jarang sekali memiliki bunga. Bila ada, umumnya bunganya tidak memiliki mahkota dan mengandung bulir. Karena sangat jarang

berbunga, tanaman ini juga jarang menghasilkan buah, bahkan biji. Struktur anatomi dari bunga, buah dan bijinya tidak diketahui. Tanaman ini pada umumnya direproduksi dengan akar/anakan rumpun (Kardinan, 2005).

Serai dapur (*Cymbopogon citratus*) tumbuh pada ketinggian 50–2700 m dpl. Dapat ditanam pada berbagai kondisi tanah di daerah tropis yang lembab, cukup sinar matahari dan dengan curah hujan yang relatif tinggi. Serai dapur memerlukan iklim yang panas dengan cahaya matahari yang banyak dan curah hujan yang cukup serta tidak memerlukan tanah yang subur (Dalimartha, 1999).

2.1.3 Kandungan Serai Dapur (*Cymbopogon citratus*)

Kandungan minyak atsiri serai didominasi oleh *monoterpene* yang terdiri dari *geranial*, *neral*, *myrcene* dan *geraniol* (Matasyoh *et al.*, 2011). Serai memiliki kandungan utama berupa *citral* sebanyak $\pm 80\% - 84\%$ (Khanuja *et al.*, 2005). *Citral* merupakan kelompok senyawa terpen yang terdiri dari dua campuran isomer, yaitu *geranial* (α -*citral*) dan *neral* (β -*citral*) serta merupakan komponen penyusun terbesar dalam minyak atsiri serai dapur. Senyawa tersebut memiliki efek sebagai antibakteri (Agusta, 2000).

Serai juga memiliki kandungan *cineole*, α -*pinene*, α -*terpineol*, β -*sitosterol*, *caryophyllene*, *citronellal*, *citronello*, *dipentene*, *geraniol*, *limonene*, *linalool*, *luteolin*, *myrcene*, *neral*, *nerol* dan *quercetin* yang memiliki aktivitas antibakteri dan antijamur (Bassolé *et al.*, 2011).

2.1.4 Faktor Antifungi dalam Serai Dapur

2.1.4.1 Komponen Utama Minyak Atsiri Serai Dapur (*Geranial*, *Neral* dan *Geraniol*)

Aktivitas *antifungal* pada minyak atsiri serai dapur disebabkan adanya komponen yang memiliki aktivitas biologis. Komponen utama minyak atsiri serai dapur yang terdiri dari *geranial*, *neral* dan *geraniol* dilaporkan memiliki aktivitas *antifungal* yang kuat (Lee *et al.*, 2008). *Citral* yang merupakan kandungan terbesar minyak atsiri serai dapur adalah campuran alami dari dua isomer asiklik monoterpen aldehid, yakni *geranial* (α -*citral*) dan *neral* (β -*citral*) diduga menyebabkan adanya aktivitas *antifungal* yang kuat (Tzortzakakis and Economakis, 2007).

Minyak atsiri serai dapur memiliki aksi menghambat yang kuat menyebabkan perubahan struktur sel pada pertumbuhan *mycelium*. Diduga minyak atsiri serai dapur merusak membran plasma dan merubah struktur mitokondria (De-Billerbeck *et al.*, 2001). Penelitian lain menemukan minyak atsiri serai dapur mengakibatkan perubahan ultrastruktural pada hifa dan hilangnya ion kalsium, kalium dan magnesium dari *mycelium* (Helal *et al.*, 2006).

Komponen utama lain yang dimiliki oleh minyak atsiri adalah *geraniol*. *Geraniol* dilaporkan memiliki aktivitas *antifungal* dengan cara mencegah pertumbuhan sel *yeast* (ragi) menyebabkan peningkatan kobocoran ion kalium (K^+) dari sel ragi dan menginduksi perubahan pada komposisi membran sel dengan meningkatkan proporsi asam lemak jenuh dan mengurangi asam lemak tak jenuh, sehingga dapat menghambat pertumbuhan jamur (Prasad *et al.*, 2009)

Penelitian lain menyebutkan bahwa uap minyak atsiri serai dapur dapat menginduksi perubahan dan kerusakan permukaan yang diikuti dengan

kerusakan membran. Hal ini sejalan dengan penelitian yang menyebutkan bahwa senyawa terpen dapat merubah permeabilitas sel yang menyebabkan perubahan sifat dan fungsi dengan meningkatkan cairan membran dan merusak permeabilitas membran (Braga *et al.*, 2007).

2.1.4.2 Komponen Lain (α -Pinene, Limonene dan Linalool)

Unsur minor seperti α -pinene dilaporkan menjadi penyebab utama aktivitas *antifungal* pada *Pistacia lentiscus* (*Anacardiaceae*) (Magiatis *et al.*, 1999). α -pinene merubah morfologi ultrastruktur fungi, mengakibatkan dinding sel dan membran sitoplasma pecah, selain itu α -pinene juga menghambat sintesis polisakarida dinding sel dan ergosterol membran sitoplasma (Xia *et al.*, 1999). Minyak atsiri serai dapur juga mengandung monoterpen hidrokarbon seperti *limonene*. Senyawa ini memiliki aksi antimikrobal dengan cara berdifusi ke dalam sel dan merusak struktur membran sel (Meincken *et al.*, 2005).

Linalool dilaporkan memiliki aktivitas *antifungal* dan antibakteri yang luas. Penelitian yang telah dilakukan menyebutkan bahwa *linalool* memiliki efek inhibisi yang kuat terhadap 17 bakteri dan 10 jamur (Pattnaik *et al.*, 1997). *Linalool* diketahui dapat menghambat germinasi spora dan pertumbuhan jamur (Matasyoh *et al.*, 2011). *Linalool* bekerja dengan cara mengganggu biosintesis ergosterol dan integritas membran sel jamur (Khan *et al.*, 2010).

Aktivitas antifungi yang dimiliki tanaman serai dapur (*Cymbopogon citratus*) dimungkinkan memiliki kesamaan mekanisme dengan golongan *azole*, suatu gen antifungi dimana golongan *azole* tersebut akan berinteraksi dengan C-14 α demetilase (enzim P-450 sitokrom) untuk menghambat demetilasi *lanosterol* menjadi *ergosterol* yang merupakan sterol penting untuk membran fungi. Proses

penghambatan ini akan mengganggu fungsi jamur dan meningkatkan permeabilitas (Yusdar dkk., 2013).

2.1.5 Manfaat Serai Dapur (*Cymbopogon citratus*)

Selama bertahun-tahun serai dapur digunakan sebagai bumbu penyedap masakan di Asia. Serai dapur secara luas digunakan untuk bumbu, wangi-wangian, kosmetik, sabun, deterjen dan parfum. Serai dapur juga memiliki efek antibakteri, antifungi, insektisida dan pengusir serangga. Secara biologis dan farmakologis minyak atsiri serai dapur dikembangkan dan memiliki manfaat sebagai antiinflamasi, antikanker dan menghilangkan radikal bebas (Ganjewala, 2009).

Serai dapur biasanya digunakan sebagai obat tradisional untuk mengobati sakit neurologis dan sakit perut serta sebagai obat pereda kejang (*antispasmodic*), pereda sakit (*analgesic*), antibakteri, antipiretik (untuk meredakan demam), *diuretik* dan *sedative* (Santin *et al.*, 2009).

Serai juga memiliki sifat detoksifikasi tubuh dengan meningkatkan jumlah dan frekuensi buang air kecil. Serai juga memiliki manfaat bagi keindahan kulit dan obat antijerawat (Kompas, 2011).

2.2 Minyak Atsiri

2.2.1 Definisi

Minyak atsiri atau disebut juga *essential oil* atau *volatile oil* adalah istilah yang digunakan untuk minyak mudah menguap dan diperoleh dalam tanaman (daun, bunga, buah, kulit batang dan akar) dengan cara distilasi. Minyak atsiri bukanlah senyawa murni, akan tetapi merupakan campuran senyawa organik

yang seringkali tersusun lebih dari 25 senyawa atau komponen yang berlainan. Sebagian komponen minyak atsiri adalah senyawa yang mengandung karbon dan hidrogen, atau karbon, hidrogen dan oksigen yang tidak bersifat aromatik. Senyawa-senyawa ini secara umum disebut terpenoid (Guenther, 2006)

2.2.2 Cara Memperoleh Minyak Atsiri

Terdapat beberapa cara untuk memperoleh minyak atsiri antara lain:

2.2.2.1 Penyarian dengan Lemak Dingin (*Enflaurage*)

Metode *enflaurage* ini sama dengan penyarian dengan *maserasi* dingin dengan lemak padat. Pelat kaca diberi bingkai, kemudian ditutup menggunakan lemak hewan yang sudah dimurnikan sehingga tidak berbau. Kemudian bagian tanaman segar yang akan diambil minyak atsirinya ditebarkan di atasnya dengan sedikit ditekan, dibiarkan selama beberapa hari supaya minyak merembes dari tanaman ke dalam lemak. Tanaman tersebut kemudian diambil dan diganti dengan tanaman yang baru, hal ini dilakukan berulang-ulang sampai lemak jenuh oleh minyak atsiri. Lemak yang jenuh tersebut kemudian dicuci dengan alkohol, alkohol kemudian diuapkan sehingga diperoleh minyak yang diinginkan. Metode ini kurang efisien dan produktif sehingga metode ini sekarang sudah ditinggalkan (Koensoemardiyah, 2010).

2.2.2.2 Penyarian dengan Pelarut yang Mudah Menguap

Metode ini tidak umum digunakan karena pelarut yang memenuhi syarat cukup mahal untuk digunakan. Sehingga cara ini hanya dilakukan untuk

memisahkan minyak atsiri yang berharga mahal seperti minyak melati (Koensoemardiyah, 2010).

2.2.2.3 Penyarian dengan Lemak Panas

Metode ini tidak umum dilakukan karena pemanasan dapat merusak komposisi minyak atsiri, serta membutuhkan metode tertentu untuk memisahkan minyak atsiri dengan pelarutnya (Koensoemardiyah, 2010).

2.2.2.4 Hidrodistilasi atau Distilasi Uap

Metode ini paling banyak dilakukan. Metodenya berupa penyulingan dengan bantuan uap air. Distilasi/penyulingan adalah pendidihan cairan yang diikuti dengan pendinginan uap sehingga terbentuk cairan kembali. Cairan tersebut diembunkan di tempat/bejana lain (Koensoemardiyah, 2010).

Dengan adanya uap air, senyawa-senyawa kimia ini menguap pada suhu lebih rendah daripada 100°C pada tekanan atmosfer (1 atm). Campuran uap panas tersebut setelah melewati suatu sistem pendinginan akan terkondensasi membentuk cairan dengan dua lapisan yang jelas antara air dan senyawa organik (minyak atsiri). Kebanyakan minyak atsiri lebih ringan daripada air, dan akan menempati lapisan bagian atas. Kelebihan dari proses ini adalah sederhana, dan ekonomis, sehingga dapat diaplikasikan dalam industri rumah tangga (Ariyani dkk., 2008).

2.3 *Candida Albicans*

2.3.1 Taksonomi *Candida albicans*

Taksonomi dari *Candida albicans* (Tanjong, 2011) :

Kingdom : Fungi

Phylum : Ascomycota

Subphylum : Saccharomycotina

Class : Saccharomycetes

Ordo : Saccharomycetales

Family : Saccharomycetaceae

Genus : *Candida*

Spesies : *Candida albicans*

2.3.2 Gambaran Umum *Candida albicans*

Genus *Candida* memiliki delapan spesies, yaitu : *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*, *Candida guilliermondii*, *Candida stellotoidea*, *Candida krusei*, *Candida pelliculosa* dan *Candida lypolytica*. Diantara kedelapan spesies tersebut *Candida albicans* adalah yang dominan dalam menimbulkan penyakit (Regezi *et al.*, 2008).

Candida albicans dapat ditemukan pada kulit, selaput lendir, saluran pernapasan, saluran pencernaan dan genetalia wanita sebagai flora normal (Kokare, 2007). Dalam keadaan normal, jamur ini tidak bersifat patogen dan tidak menimbulkan infeksi. Infeksi baru timbul pada situasi tertentu yang pada umumnya berhubungan dengan gangguan keseimbangan flora (Jawetz *et al.*, 2010).

Candida albicans dapat menyebabkan infeksi jika terjadi gangguan dari kondisi faktor penyebab yang disebabkan karena melemahnya sistem pertahanan tubuh manusia (Oliver and Schweizer, 1999). Faktor predisposisi infeksi *Candida albicans* antara lain kondisi tubuh yang lemah atau keadaan umum yang buruk, penyakit tertentu, kehamilan, rangsangan lokal pada kulit oleh cairan yang terjadi secara terus menerus, obat atau alat yang digunakan oleh pasien (Bonang, 1996).

2.3.3 Morfologi *Candida albicans*

Candida albicans merupakan jamur yang dapat tumbuh sebagai ragi (*yeast*), sel elips memanjang dengan konstiksi pada sekat (*septa*) (*pseudohifa*) atau sebagai hifa sejati. Morfologi lain berupa klamidospora berdinding tebal yang berstruktur seperti spora. *Yeast* dan hifa sering terlihat pada saat terjadi infeksi, peran *pseudohifa* masih belum jelas dan klamidospora tidak tampak pada pasien. Transisi bentuk antara *yeast* dan hifa disebut dimorfik dan kedua bentuk pertumbuhan tersebut berperan penting pada faktor patogenik. Bentuk hifa lebih invasif daripada *yeast*, sedangkan bentuk *yeast* yang lebih kecil dipercaya berperan pada penyebaran awal jamur (Mayer *et al.*, 2013).

Perbedaan bentuk *Candida albicans* tergantung pada faktor eksternal yang mempengaruhinya yaitu suhu, pH dan sumber energi (Geo *et al.*, 2004). Pada pH rendah (< 6) *Candida albicans* lebih sering tumbuh dalam bentuk *yeast*, sedangkan pada pH tinggi (> 7) pertumbuhan hifa akan terinduksi (Mayer *et al.*, 2013).

Morfologi *Candida albicans* pada medium padat SDA, berbentuk bulat dengan permukaan sedikit cembung, halus/lunak dan licin. Koloni *Candida*

albicans pada biakan berwarna putih kekuningan/krem dan berbau asam/ seperti ragi (Bhavan *et al.*, 2010; Geo *et al.*, 2004).



Gambar 2.2 *Candida albicans* pada Medium Padat SDA (Saigal *et al.*, 2011)

Keterangan:

1. :Koloni *Candida albicans* berwarna putih kekuningan dan berbentuk bulat
2. :Medium padat untuk pertumbuhan *Candida albicans* berupa SDA (*Sabouraud Dextrose Agar*)

Pada medium seperti agar tepung jagung (*corn-meal agar*) yang diinkubasi pada suhu 37°C selama 48-72 jam akan terbentuk klamidospora besar dengan terminal berdinding tebal (Bhavan *et al.*, 2010).

Dua tes morfologi sederhana membedakan *Candida albicans* dari spesies *Candida* lainnya (Simatupang, 2009) yaitu setelah inkubasi dalam serum selama ± 90 menit pada suhu 37°C, sel-sel ragi akan mulai membentuk *germ tube* berbentuk seperti tabung panjang memanjang dari sel ragi dan pada media yang kekurangan nutrisi akan menghasilkan klamidospora bulat dan besar (Jawetz *et al.*, 2010). Fermentasi karbohidrat *Candida albicans* ditunjukkan dengan terbentuknya asam dan gas pada glukosa, maltosa dan galaktosa, terbentuknya asam pada sukrosa dan tidak memfermentasi laktosa (Prahatamaputra, 2009).

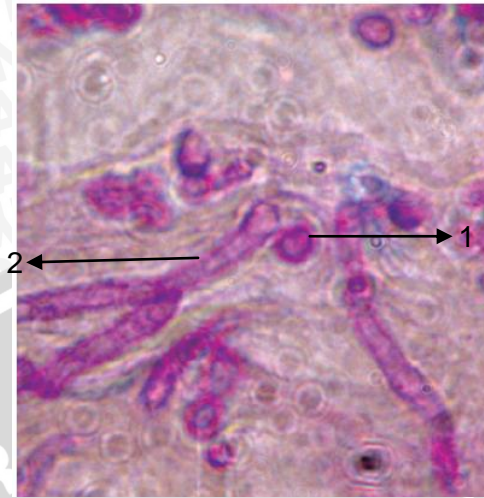


Gambar 2.3 Gambaran Mikroskopik *Germ Tube* pada *Candida albicans* (Jawetz *et al.*, 2010)

Keterangan:

Gambaran mikroskopik *Germ Tube* *Candida albicans* setelah inkubasi pada serum ± 90 menit, tampak bentukan memanjang dari yeast (seperti kecambah)

Sediaan mikroskopik *Candida albicans* pada pewarnaan Gram tampak ragi lonjong, kecil, bertunas, Gram positif (Bhavan *et al.*, 2010), berukuran 2-3 x 4-6 μm , yang memanjang menyerupai hifa (*pseudohifa*). *Candida* membentuk *pseudohifa* ketika tunas-tunas terus tumbuh tetapi gagal melepaskan diri, menghasilkan rantai sel-sel yang memanjang terbentuk septasi-septasi/sekat-sekat di antara sel (Simatupang, 2009).



Gambar 2.4 Gambaran Mikroskopik *Candida albicans* dengan Pewarnaan Gram (Jawetz *et al.*, 2010)

Keterangan:

1. : Sel individual yeast *Candida albicans*
2. :Gambaran mikroskopik pseudohifa *Candida albicans* dengan perbesaran 1000x

2.3.4 Reproduksi *Candida albicans*

Candida albicans memperbanyak diri dengan membentuk tunas yang akan terus memanjang membentuk *pseudohifa*/hifa semu yang terbentuk dengan banyak kelompok blastospora berbentuk bulat atau lonjong, pada beberapa strain, blastospora berukuran besar, berbentuk bulat atau seperti botol, dalam jumlah sedikit. Sel ini dapat berkembang menjadi klamidospora yang berdinding tebal (Tjampakasari, 2006).

2.3.5 Struktur Fisik *Candida albicans*

Dinding sel *Candida albicans* berfungsi sebagai pelindung dan sebagai target dari beberapa antifungi. Dinding sel ini juga berperan juga pada proses penempelan dan kolonisasi serta bersifat antigenik (Segal, 1994; Tjampakasari, 2006). Fungsi utamanya adalah memberi bentuk pada sel dan melindungi sel ragi/yeast dari lingkungan. Struktur dinding sel ini kompleks, tebalnya 100 sampai

400 nm. Komposisi utama terdiri dari glukukan, manan dan khitin. Dinding sel *Candida albicans* terdiri dari lima lapisan yang berbeda (Tanjong, 2011).

Membran sel *Candida albicans* mirip dengan sel *eukariotik* lain, yaitu terdiri dari lapisan *fosfolipid* ganda. Membran protein ini memiliki aktivitas enzim seperti manan sintase, khitin sintase, glukukan sintase, ATPase dan protein yang mentransport fosfat. Membran sterol pada dinding sel memegang peranan penting sebagai target antifungi dan merupakan tempat bekerjanya enzim-enzim yang berperan dalam sintesis dinding sel (Roberts *et al.*, 1996; Tjampakasari, 2006).

Mitokondria pada *Candida albicans* merupakan pembangkit daya sel. Organel ini memproduksi ATP dengan menggunakan energi yang diperoleh dari penggabungan oksigen dengan molekul-molekul makanan (Tjampakasari, 2006).

Sama seperti pada *eukariot* lain, nukleus *Candida albicans* merupakan organel paling penting dalam sel. Neukleus ini dipisahkan dari sitoplasma oleh membran yang terdiri dari 2 lapisan. Mikrotubul dan mikrofilamen berada dalam sitoplasma. Pada *Candida albicans*, mikrofilamen berperan penting dalam terbentuknya perpanjangan hifa (Roberts *et al.*, 1996; Tjampakasari, 2006).

2.4 Kandidiasis

2.4.1 Definisi

Candida sp. (*Candida albicans* dan spesies *candida* lain yang jumlahnya lebih sedikit) adalah spesies yang paling sering ditemukan di rongga mulut dan merupakan flora normal. Spesies kandida mencapai 75% dari seluruh populasi mikroorganisme rongga mulut, (Mayer *et al.*, 2013).

Kandidiasis adalah suatu penyakit infeksi akut atau subakut pada kulit dan mukosa yang disebabkan oleh *Candida albicans*. (Siregar, 2005).

2.4.2 Patogenesis dan Temuan Patologis

Mekanisme pertahanan tubuh pada *integumen*/kulit yang utuh merupakan perlawanan terhadap infeksi *Candida*. Hal-hal yang memicu *maserasi*/pelunakan pada kulit akan memunculkan tempat potensial untuk invasi *Candida* bahkan pada individu yang sehat. Sel dendritik berperan dalam mempertahankan integritas kulit dan mukosa. Sel leukosit *polymorphonuclear* (sel PMN) berperan penting pada pertahanan tubuh karena sel PMN mampu merusak *pseudohifa*, untuk memfagositosis dan membunuh blastospora. Enzim *myeloperoksidase*, hidrogen peroksida dan anion superoksida merupakan mekanisme utama untuk membunuh *Candida albicans* secara intraseluler. Neutrofil, monosit dan eosinofil juga memiliki fungsi fagositosis seperti sel dendritik. Tetapi, neutrofil dan monosit hanya sedikit mempunyai *myeloperoksidase*, hal ini menentukan kapasitas membentuk hidrogen peroksida dan anion superoksida untuk membunuh *Candida albicans* dengan efektif. Sel-sel lain seperti sel *endothelial* dan sel epitel juga dapat menelan organisme, namun tidak memiliki efek membunuh secara langsung. Platelet juga memiliki aktifitas anti-*Candida*, dimana *platelet-derived factor* menstimulasi produksi *germ tube* dan platelet aglutinin untuk memecah dinding sel *Candida* (Neville *et al.*, 2002).

Manifestasi serius infeksi *Candida* adalah organisme ini dapat menyebar secara *hematogen*, menciptakan mikro dan makroabses pada organ-organ utama dalam tubuh (Neville *et al.*, 2002). Penyebaran dan *sepsis* dapat terjadi pada penderita dengan kekebalan selular lemah, misalnya, mereka yang baru

menjalani pengobatan kemoterapi kanker, penderita limfoma, AIDS atau keadaan-keadaan lain (Linardakis, 1998). Kemungkinan besar *Candida* masuk ke dalam aliran darah dari permukaan mukosa setelah berkembang dalam jumlah yang besar karena penggunaan antibiotika. Perubahan bentuk dari blastospora menjadi *pseudohifa* dan hifa mengakibatkan *Candida* dapat berpenetrasi ke jaringan dan menyebabkan manifestasi klinis (Neville *et al.*, 2002).

2.4.3 Kandidiasis *Oral*

2.4.3.1 Gambaran Umum Kandidiasis *Oral*

Kandidiasis *oral* merupakan salah satu penyakit pada rongga mulut berupa lesi merah dan lesi putih yang disebabkan oleh jamur jenis *Candida sp.* dimana *Candida albicans* merupakan jenis jamur yang menjadi penyebab utama. *Candida albicans* merupakan jamur terbanyak yang terisolasi dari tubuh manusia sebagai flora normal dan penyebab infeksi oportunistik (Cannon *et al.*, 2001).

Terdapat sekitar 30-40% *Candida albicans* pada rongga mulut orang dewasa sehat, 45% pada *neonatus*/bayi bari lahir, 45-65% pada anak-anak sehat, 50-65% pada pasien yang memakai gigi palsu lepasan, 65-88% pada orang yang mengkonsumsi obat-obatan jangka panjang, 90% pada pasien leukemia akut yang menjalani kemoterapi, dan 95% pada pasien HIV/AIDS (Akpan *and* Morgan, 2002).

Kandidiasis *oral* dapat menyerang segala usia, baik pria maupun wanita. Meningkatnya prevalensi infeksi *Candida albicans* dihubungkan dengan kelompok penderita HIV/AIDS, penderita yang menjalani transplantasi dan kemoterapi (Monica *et al.*, 2005).

Faktor resiko terjadinya kandidiasis orofaringeal antara lain dari faktor lokal seperti pemakaian gigi palsu, kelainan fungsi kelenjar ludah, steroids inhalasi dan kanker oral. Faktor sistemik antara lain merokok, diabetes mellitus, sindrom Cushing's, imunosupresi, keganasan, defisiensi nutrisi dan penggunaan antibiotik (Akpan *and* Morgan, 2002).

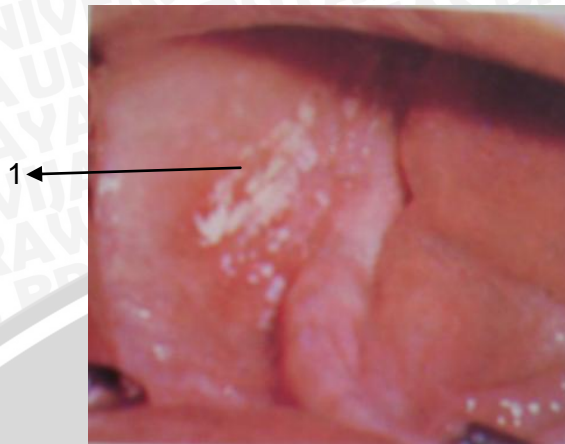
2.4.3.2 Klasifikasi dan Gambaran Klinis

Faktor pemicu yang menyebabkan terjadinya kelainan atau peradangan memudahkan terjadinya invasi jamur ke jaringan karena penurunan daya tahan tubuh. Kandidiasis dapat terjadi pada mulut, kuku, kulit, saluran pencernaan, saluran pernafasan, vagina atau bagian dengan gambaran klinis yang beragam dan bisa bersifat akut atau kronis (Jawetz *et al.*, 2010).

2.4.3.2.1 Akut

a. Kandidiasis *Pseudomembranosus* Akut (*Trush*)

Adalah infeksi *Candida* yang paling mudah dikenali (Neville *et al.*, 2002). Karakteristiknya berupa plak berbentuk seperti keju yang putih, difus, bergumpal atau seperti beludru pada mukosa rongga mulut, terdiri dari sel epitel deskuamasi, debris, fibrin, *yeast*/ragi jamur dan hifa jamur yang menyusut, dapat dihapus dengan ujung lidah atau disobek dengan kain kasa kering, meninggalkan permukaan mukosa yang terlihat kemerahan, kasar atau berdarah (Akpan *and* Morgan, 2002; Neville *et al.*, 2002; Langlais *and* Miller 2000). Biasanya terdapat pada mukosa pipi, lidah dan palatum lunak. Secara klinis plak-plak putih tersebut tampak dalam kelompok-kelompok/koloni yang memiliki tepi *eritematosus*/kemerahan (Langlais *and* Miller, 2000).



Gambar 2.5 Oral Thrush/Kandidiasis Pseudomembran (Langlais and Miller, 2000).

Keterangan:

1. : Lesi kandidiasis yang berwarna putih berbentuk *pseudomembran* atau *thrush*, dengan tepi mukosa yang kemerahan

Pasien biasanya mengeluhkan rasa terbakar pada mulut (Allen, 1992).

Kandidiasis ini sering diderita oleh pasien dengan sistem imun rendah, seperti HIV/AIDS, pasien yang mengkonsumsi kortikosteroid dan antibiotik atau perubahan sistemik seperti diabetes, hipoparatiroidisme, imunodefisiensi dan kemoterapi (Langlais and Miller, 2000).

Diagnosa dapat ditentukan dengan pemeriksaan klinis, kultur jamur atau pemeriksaan mikroskopis secara langsung dari kerokan jaringan. Pemeriksaan sitologik dengan pewarnaan potasium hidroksida (KOH), Gram atau *periodic acid-schiff* (PAS) menunjukkan organisme yang sedang berbenih dengan *pseudohifa* yang bercabang-cabang (Langlais and Miller, 2000).

b. Kandidiasis Atropik Akut (*Erythematous Candidiasis*)

Kandidiasis jenis ini tidak menunjukkan plak putih sebagai ciri klinis (Neville *et al.*, 2002). Kandidiasis ini membuat daerah permukaan mukosa oral mengelupas dan tampak sebagai bercak-bercak merah difus yang rata. Terjadi karena pemakaian antibiotik spektrum luas, terutama Tetrasiklin, obat tersebut

dapat mengganggu keseimbangan ekosistem oral antara *Lactobacillus acidophilus* dan *Candida albicans*. Antibiotik yang dikonsumsi oleh pasien mengurangi populasi *Lactobacillus* dan memungkinkan *Candida* tumbuh subur. Pasien sering mengeluhkan sakit seperti terbakar (Langlais and Miller, 2000). Sensasi rasa panas ini diikuti dengan hilangnya papila filiformis secara *diffuse* pada bagian dorsal lidah dan menyebabkan kemerahan pada lidah (Neville *et al.*, 2002).

2.4.3.2.2 Kronis

a. Kandidiasis Atropik Kronik (*Denture Stomatitis*)

Merupakan bentuk paling umum dari kandidiasis kronis. Disebabkan *Candida* yang ada di bawah dasar gigi tiruan. Terdapat 3 tahap perubahan mukosa, hiperemia terbatas pada muara kelenjar-kelenjar saliva minor di palatal, berlanjut menjadi eritema difus pada palatum durum dan terakhir terjadi hiperplasia kapiler. Terapi menggunakan antifungi pada mukosa dan dasar gigi tiruan. Peranan trauma, seperti goyangnya gigi tiruan membuat keadaan ini terus berlanjut (Langlais and Miller, 2000). Dikarakteristikan dengan bermacam derajat eritema, kadang disertai dengan *petechial hemorrhage* yang berlokasi di dasar gigi tiruan lepasan (Neville *et al.*, 2002).

Faktor sistemik dan faktor lokal dicurigai sebagai penyebab *denture stomatitis*, hal ini ditunjukkan dengan faktor lokal, yang berhubungan dengan: kebersihan gigi tiruan yang buruk, diet karbohidrat yang tinggi dan pemakaian gigi tiruan pada malam hari. Serta penyebab utamanya adalah jamur *Candida albicans* yang disertai dengan adanya plak pada sisi yang menekan pada permukaan dari gigi tiruan penuh (Basker and Davenport, 2002).

Kronik atrofik candidiasis berhubungan dengan *angular cheilitis* dengan gambaran klinis rasa sakit, fisura, erosi dan berkrusta. *Angular cheilitis* merupakan infeksi *Candida albicans* pada sudut mulut, dapat bilateral maupun unilateral. Sudut mulut yang terkena infeksi tampak merah dan pecah-pecah dan terasa sakit ketika membuka mulut. *Angular cheilitis* dapat terjadi pada penderita defisiensi vitamin B12 dan anemia defisiensi besi (Samaranayake, 2006).

b. Kandidiasis Hiperplastik Kronik (*Candidal Leukoplak*)

Dikarakteristikan dengan terdapatnya plak putih yang tidak dapat dihilangkan dengan mengeroknya (Neville *et al.*, 2002). Timbul pada mukosa bukal atau tepi lateral lidah berupa bintik-bintik putih yang tepinya menimbul tegas dengan beberapa daerah merah (Greenberg, 2008). *Candida* dapat menyebabkan lesi hiperkeratotik yang biasanya berlokasi di mukosa bukal anterior dan tidak dapat dibedakan dari leukoplakia. Sering lesi leukoplakia berhubungan dengan infeksi kandidiasis menunjukkan area merah dan putih menghasilkan *speckled leukoplakia* (Neville *et al.*, 2002). Kondisi ini dapat berkembang menjadi displasia berat atau keganasan. Diagnosa harus ditentukan dengan biopsi. Kandidiasis ini paling sering diderita oleh perokok (Greenberg, 2008).

Median Rhomboid Glossitis adalah kandidiasis hiperplastik pada *dorsum* lidah. Tampak daerah simetris kronis di anterior lidah ke papila sirkumvalata dengan permukaan halus, nodular atau berfisur, sedikit meninggi berwarna putih sampai merah pada palatum, terletak pada duapertiga *anterior* dan sepertiga *posterior* lidah. Gejala penyakit ini *asimptomatis* dengan daerah tidak berpapila (Greenberg, 2008).

c. Kandidiasis Mukokutaneous

Merupakan kandidiasis *oral* yang parah dapat terlihat sebagai komponen dari kelainan imunologi. Persisten pada mukosa mulut, kuku, kulit dan mukosa vagina, resisten terhadap perawatan pada terapi antifungi standar, muncul pada dua dekade awal dimulai dengan tipe pseudomembran diikuti kuku dan kulit. Lesi pada rongga mulut muncul tebal, plak putih yang tidak dapat dikeruk (kandidiasis kronik hiperplastik). Pasien harus dievaluasi secara teratur karena adanya variasi kelainan endokrin seperti defisiensi zat besi. Kelainan endokrin ini termasuk *hiperparatiroidism, hipoparatiroidism, hipoadrenocorticism* dan *diabetes mellitus*. Anemia dapat muncul sebagai tambahan dari adanya kandidiasis (Neville *et al.*, 2002).

2.4.4 Penatalaksanaan

Perawatan kandidiasis *oral* antara lain: menjaga kebersihan rongga mulut, memberi obat antifungi lokal atau sistemik dan menanggulangi faktor predisposisi, sehingga infeksi jamur dapat dikurangi.

Kebersihan mulut dijaga dengan menyikat gigi serta menyikat daerah bukal dan lidah dengan sikat yang lembut. Bila menggunakan gigi tiruan, gigi tiruan harus direndam dalam larutan pembersih seperti Klorheksidin, hal ini lebih efektif dibanding dengan hanya menyikat gigi tiruan saja (Akpan *and* Morgan, 2002).

Pengobatan kandidiasis dapat dilakukan dengan pemberian antifungi topikal atau antifungi sistemik. Obat topikal yang efektif yaitu nystatin atau topikal azoles (*miconazole, clotrimazole, ketoconazole, econazole*). Obat-obat ini biasanya efektif untuk pengobatan pada membran mukosa atau kulit pasien yang

tidak *immunosuppressif*. Obat sistemik seperti *Nystatin pastiles*, *Clotrimazole*, *Fluconazole*, *Ketoconazole*, diberikan kepada pasien yang *immunosuppressif* atau pasien dengan penyakit kronis atau rekuren yang tidak merespon terapi topikal (Neville *et al.*, 2002).

Penanggulangan faktor predisposisi meliputi: pembersihan dan penyikatan gigi tiruan secara rutin dengan menggunakan cairan pembersih seperti Klorheksidin, mengurangi rokok dan konsumsi karbohidrat, mengunyah permen karet bebas gula untuk merangsang pengeluaran saliva, menunda pemberian antibiotik dan kortikosteroid, menangani penyakit yang memicu kemunculan kandidiasis seperti penanggulangan penyakit diabetes, HIV dan leukemia juga dapat menurunkan infeksi jamur (Samaranayake, 2006).

2.5 Obat Antifungi

Obat antifungi adalah obat yang digunakan untuk mengobati infeksi jamur (Ghannoum *and* Rice, 1999). Keefektifan penghambatan merupakan salah satu kriteria pemilihan suatu antifungi untuk diaplikasikan. Semakin kuat penghambatan suatu antifungi maka semakin efektif digunakan. Kerusakan yang ditimbulkan antimikroba bisa bersifat *mikrobisidal* (kerusakan tetap) atau *mikrobistatik* (kerusakan sementara yang dapat kembali). Antimikroba akan bersifat mikrobisidal atau mikrobistatik tergantung pada konsentrasi dan kultur yang digunakan (Jordan, 2002). Agen antifungi dibuat untuk menyerang target-target tertentu pada jamur, yaitu membran sel jamur, dinding sel jamur, sintesis DNA/RNA dan intraseluler jamur.

2.5.1 Mekanisme Kerja Antifungi

2.5.1.1 Antifungi yang Merusak Membran Sel Jamur/Mempengaruhi Sterol

Jamur

Membran sel mempunyai peran penting pada struktur, pembelahan dan metabolisme sel. Partikel lipid sterol membentuk 25% dari keseluruhan membran sel. Terdapat perbedaan antara membran sel mamalia dan jamur. Membran sel mamalia terdiri dari kolesterol, sedangkan membran sel jamur memiliki ergosterol sebagai sterol yang dominan. Perbedaan jenis sterol ini dikembangkan sebagai target dari beberapa jenis obat antifungi (Lewis, 2011).

Antifungi yang mempengaruhi sterol jamur dibagi menjadi beberapa kelompok utama, yaitu: *azole*, *polyene*, dan *allylamine/thiocarbamate*. Semua aktivitas antifungi obat tersebut disebabkan inhibisi sintesis atau interaksi langsung dengan ergosterol (Parks and Casey, 1996; Loeffler and Stevens, 2003).

2.5.1.1.1 Azole

Antifungi golongan *azole* menghambat *14 α -demethylase (lanosterol demethylase)* enzim yang berpengaruh pada sitokrom P450 (CYP) jamur, enzim yang dapat menghambat sintesis ergosterol. Enzim ini penting untuk perubahan lanosterol menjadi ergosterol. Ini memudahkan penghilangan ergosterol, sterol esensial pada membran sel jamur dan sebagai integritas utama membran sel. Penghambatan enzim penting pada alur sintesis ergosterol menyebabkan kekurangan ergosterol pada membran sel dan akumulasi sterol *intermediet*. Ini dapat menyebabkan permeabilitas meningkat dan terhambatnya pertumbuhan jamur (Lewis, 2011).

Komponen golongan ini antara lain: *imidazole* (*miconazole* dan *ketoconazole*) dan *triazole* (*itraconazole*, *fluconazole*, *voriconazole*, *posaconazole* dan *ravuconazole*) (Loeffler and Stevens, 2003). Diantara golongan *azole*, *fluconazole* paling banyak digunakan, karena keamanan dan *efficacy* klinisnya (Ashley *et al.*, 2006).

2.5.1.1.2 *Polyene*

Antifungi *polyene* seperti *amphotericin B* bekerja dengan mengikat ergosterol pada membran sel jamur. Ikatan ini menyebabkan depolarisasi membran dan terbentuk pori atau lubang-lubang kecil yang meningkatkan permeabilitas protein, *monovalent* dan kation *divalent*, yang dapat mengakibatkan kematian sel. *Amphotericin B* juga menginduksi kerusakan oksidasi pada sel jamur dan mampu menstimulasi imun sel inang (Lewis, 2011).

Pada konsentrasi tinggi, *amphotericin B* mengikat kolesterol pada membran sel mamalia mengakibatkan toksisitas organ dan bahkan nefrotoksitas (Ashley *et al.*, 2006). Efek farmakologi *amphotericin B* juga memunculkan timbulnya toksisitas, termasuk hipotensi, demam, *rigors* dan *chills* atau efek samping berupa disfungsi ginjal, azotemia, asidosis tubulus ginjal, ketidakseimbangan elektrolit, *cardiac arrhythmias* dan anemia (Piscitelli and Rodvold, 2005).

Obat antifungi lain dari golongan *polyene* adalah *nystatin*. *Nystatin* merupakan suatu antibiotik *polyene* yang dihasilkan oleh *Streptomyces noursei*, mempunyai struktur kimia dan mekanisme kerja mirip dengan *amphotericin B*, tetapi lebih toksik sehingga tidak digunakan sebagai obat sistemik (Departemen Farmakologi dan Terapeutik FKUI, 2009). *Nystatin* digunakan sebagai obat terapi

topikal dan lokal karena obat ini memiliki profil efek yang tidak menguntungkan bila digunakan secara sistemik (Ashley *et al.*, 2006).

Nystatin menghambat pertumbuhan berbagai jamur dan ragi tetapi tidak aktif terhadap bakteri, protozoa dan virus serta hanya akan diikat oleh jamur/ragi yang sensitif. Aktivitas antijamur tergantung dari adanya ikatan dengan sterol pada membran sel jamur/ragi terutama ergosterol. Akibat terbentuknya ikatan antara sterol dan *nystatin* akan terjadi perubahan permeabilitas membran sel sehingga sel akan kehilangan berbagai molekul kecil. *Nystatin* digunakan untuk infeksi *Candida* di kulit, selaput lendir dan saluran cerna. Dosis *nystatin* dinyatakan dalam unit serta tersedia dalam bentuk krim, bubuk, salep, suspensi dan obat tetes yang mengandung 100.000 unit *nystatin* per gram/per ml. Untuk kandidiasis mulut dan *esophagus* pada pasien dewasa diberikan dosis 500.000-1.000.000 unit, 3 atau 4 kali sehari. Obat tidak langsung ditelan tetapi ditahan dulu dalam rongga mulut (Departemen Farmakologi dan Terapeutik FKUI, 2009).

2.5.1.1.3 *Allylamine/Thiocarbamate*

Obat ini mempengaruhi biosintesis ergosterol dinding sel jamur melalui penghambatan enzim skualen epoksidase (*squalene monoxygenase*) pada jamur (Departemen Farmakologi dan Terapeutik FKUI, 2009). Enzim ini berperan untuk mengkonversi *squalene* menjadi *squalene epoxide* yang merupakan prekursor sintesis lanosterol menjadi ergosterol. Contoh obat golongan ini adalah *terbinafine* (Lewis, 2011).

2.5.1.2 Antifungi yang Menghambat Dinding Sel Jamur

Dinding sel jamur berperan penting dalam kelangsungan hidup dan patogenesis jamur. Selain menjadi pelindung dan pemberi bentuk/morfologi sel, dinding sel jamur adalah tempat penting untuk pertukaran dan filtrasi ion serta protein, sebagaimana metabolisme dan katabolisme nutrisi kompleks. Sel mamalia sedikit mengandung dinding sel, sehingga ini merupakan kesempatan bagi obat antifungi untuk menjadikannya sebagai target ideal (Lewis, 2011).

Dinding sel jamur terdiri dari jaringan kompleks protein dan polikarbohidrat yang komposisinya bervariasi tergantung dari spesies jamur. Kerusakan protein atau karbohidrat akan menyebabkan ketidaksempurnaan struktur dinding sel, sehingga sel jamur sensitif terjadi lisis osmotik (Lewis, 2011)

Antifungi jenis ini bekerja dengan cara menghambat sintesis *glucan*. Terdapat tiga golongan antifungi yang bekerja secara spesifik sebagai inhibitor *1,3 β -glucan synthase* yaitu *aculeacin*, *echinocandin* dan *papulacandin* (Ghannoum and Rice, 1999).

Penghambat sintesis glukukan adalah agen yang dapat memblokir sintesis dinding sel jamur dengan menghambat enzim *1,3-beta glucan synthase*. Penghambatan enzim ini menyebabkan sel jamur kekurangan polimer glukukan, sehingga dinding sel abnormal dan lemah tidak mampu menahan tekanan osmotik (Lewis, 2011).

Inhibitor β -glucan bekerja sebagai inhibitor nonkompetitif spesifik terhadap β -(1,3)-*glucan synthase*. Sehingga, pembentukan komponen glukukan struktural menjadi terhambat. Tetapi, sintesis asam nukleat masih tetap berjalan. Inhibisi ini mempunyai efek sekunder terhadap sel intak, seperti pengurangan kadar ergosterol dan lanosterol serta peningkatan kadar *chitin* di dinding sel. Ini

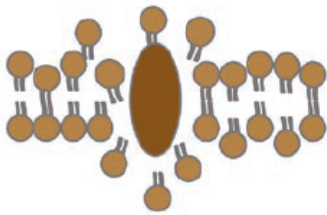
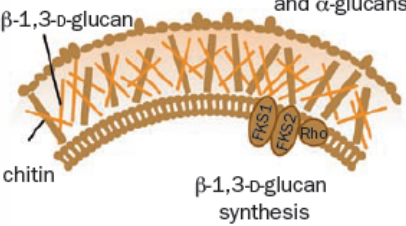
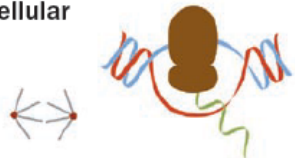
menyebabkan perubahan jamur secara sitologis dan ultrastruktural dan lisis akan terestriksi, terutama di ujung-ujung tunas sel yang tumbuh (Ghannoum *and* Rice, 1999).

2.5.1.3 Antifungi yang Menginhibisi Asam Nukleat

Fluorocytosine (5-FC) masuk ke dalam sel jamur melalui enzim *cytosine permease*, kemudian berubah menjadi *5-fluorouracil* dan dikonversi menjadi *fluorouridine triphosphate* yang kemudian bergabung ke dalam RNA jamur dan menyebabkan terganggunya sintesis protein sel jamur. *5-fluorouracil* juga dikonversi menjadi *fluorodeoxyuridine monophosphate* yang akan mengganggu enzim *thymidylate synthase*. Penghambatan *thymidylate synthase* mengakibatkan terganggunya sintesis DNA (Loeffler *and* Stevens, 2003).

2.5.1.4 Antifungi yang Menginhibisi Proses Intraseluler

Contoh obat golongan ini adalah griseofulvin. Griseofulvin adalah agen antifungi sistemik yang mengikat tubulin dan mengganggu pembentukan mikrotubul. Karena obat ini berkonsentrasi pada keratinosit, obat ini hanya digunakan untuk infeksi *dermatophyte* noninvasif (Lewis, 2011).

Mechanism	Drug class
<p>Cell membrane</p>  <p><i>Ergosterol inhibitors/binders</i></p>	<p>Azoles (14-α-demethylase inhibitors)</p>
	<p>Polyenes (ergosterol binding)</p>
	<p>Allylamines (squalene monooxygenase)</p>
<p>Cell wall</p>  <p>β-1,3-D-glucan chitin Mannoproteins and α-glucans β-1,3-D-glucan synthesis FKS1, FKS2, Rho</p>	<p>Echinocandins (β-1,3-D-glucan synthesis inhibitors)</p>
<p>Intracellular</p> 	<p>Pyrimidine analogues/ thymidylate synthase inhibitor</p>
	<p>Mitotic inhibitor</p>

Gambar 2.6 Mekanisme Kerja Obat Antifungi (Lewis, 2011).

Keterangan:

Gambar ini menunjukkan mekanisme kerja obat antifungi pada sel jamur

2.5.2 Resistensi terhadap Antifungi

Resistensi sel mikroba adalah suatu sifat tidak terganggunya sel mikroba oleh antimikroba. Resistensi terhadap antifungi dapat terjadi melalui berbagai mekanisme (Ghannoum *and* Rice, 1999).

Mekanisme resistensi terhadap terhadap *antifungal* antara lain disebabkan adanya perubahan enzim target (karena mutasi gen), pergantian pada asam amino dan perubahan komposisi membran plasma (perubahan

komposisi fosfolipid dan asam lemak membran plasma) (Loeffler and Stevens, 2003).

2.6 Uji Aktivitas Antifungi

Uji kepekaan mikroba terhadap suatu antimikroba bertujuan untuk mengetahui apakah antimikroba masih dapat digunakan untuk mengatasi infeksi oleh mikroba tersebut. Uji kepekaan terhadap antimikroba dapat dilakukan secara *in vitro* melalui dua cara, yaitu metode dilusi dan metode difusi cakram (Dzen dkk., 2003).

2.6.1 Metode Dilusi

Metode dilusi digunakan untuk menentukan KHM (Kadar Hambat Minimal) dan KBM (Kadar Bunuh Minimal) suatu antimikroba (Dzen dkk., 2003). Metode dilusi ada dua macam, yaitu dilusi tabung dan dilusi agar.

2.6.1.1 Metode Dilusi Tabung

Menggunakan satu seri tabung reaksi dan sejumlah sel bakteri yang diuji, kemudian masing-masing tabung diisi ekstrak/obat yang telah diencerkan secara serial, 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 dari ekstrak tersebut. Biakan dari semua tabung yang jernih diinokulasikan pada media agar padat, diinkubasikan dan keesokan harinya diamati ada tidaknya koloni bakteri yang tumbuh. Konsentrasi terendah ekstrak pada biakan padat yang ditunjukkan dengan tidak adanya

pertumbuhan koloni adalah KBM (Konsentrasi Bunuh Minimal) dari suatu ekstrak/obat terhadap bakteri uji (Dzen dkk., 2003).

2.6.1.2 Metode Dilusi Agar

Terdapat cara lain apabila Kadar Hambat Minimum (KHM) dengan metode dilusi tabung tidak terlihat tingkat kekeruhannya, yaitu menggunakan cara dilusi agar. Penggunaan metode dilusi agar, cawan yang telah disterilisasi diisi dengan volume yang disesuaikan dari agen antimikroba dan ditambahkan agar cair dengan suhu 42-45°C, dituangkan ke dalam cawan petri bulat atau persegi dan dibiarkan mengeras (Jorgensen *et al.*, 1999).

Cara untuk menentukan antimikroba dengan menempatkan cawan pada latar belakang gelap dan memeriksa cawan untuk melihat pertumbuhan yang terhambat pada konsentrasi terendah, yang dicatat sebagai Kadar Hambat Minimum (KHM). Apabila pertumbuhan pada inokulum koloni tunggal atau tingkat kekeruhannya samar maka tidak dianggap sebagai pertumbuhan. Kelebihan dari pengujian dengan metode dilusi agar, yaitu pengujian metode ini dapat digunakan sebagai referensi untuk mengevaluasi secara akurat dibandingkan dengan metode pengujian lainnya. Disamping itu, pengujian yang berkelanjutan dari sejumlah isolat yang hanya menggunakan sedikit obat lebih efisien dan terjadinya kontaminasi lebih mudah terdeteksi dengan metode dilusi agar daripada metode dilusi tabung (Jorgensen *et al.*, 1999).

2.6.2 Metode Difusi Cakram/Disk

Metode ini dipengaruhi beberapa faktor fisik dan kimia, selain faktor antara obat dan mikroorganisme (misalnya sifat medium dan kemampuan difusi,

ukuran molekular dan stabilitas obat). Standardisasi pada faktor-faktor tersebut memungkinkan melakukan uji kepekaan dengan baik (Brooks *et al.*, 2005).

Prinsip metode ini adalah, obat/antimikroba dijenuhkan ke dalam kertas saring (kertas cakram). Kertas cakram yang mengandung obat tertentu ditanam pada media perbenihan agar padat yang telah dicampur dengan mikroba yang diuji, kemudian diinkubasikan 37°C selama 18-24 jam. Selanjutnya diamati adanya area (zona) jernih di sekitar kertas disk yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan mikroba. Untuk mengevaluasi hasil uji kepekaan tersebut (apakah isolat mikroba sensitif atau resisten terhadap obat) dapat dilakukan dua cara seperti berikut ini (Dzen dkk., 2003):

2.6.2.1 Cara Kirby Bauer

Cara ini dilakukan dengan membandingkan diameter dari area jernih (zona hambatan) di sekitar cakram dengan tabel standar yang dibuat oleh NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standard*). Dengan tabel NCCLS ini dapat diketahui kriteria sensitif, sensitif *intermediet* dan resisten (Dzen dkk., 2003).

2.6.2.2 Cara Joan-Stokes

Dilakukan dengan membandingkan radius zona hambatan yang terjadi antara bakteri kontrol yang sudah diketahui kepekaannya terhadap obat tersebut dengan isolat bakteri yang diuji. Cara Joan-Stokes, prosedur kepekaan untuk bakteri kontrol dan bakteri uji dilakukan bersama-sama dalam satu piring agar (Dzen dkk., 2003).