

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Sansevieria trifasciata*

2.1.1 Definisi *Sansevieria trifasciata*

2.1.1.1 Taksonomi

Berdasarkan taksonomi *Sansevieria trifasciata* diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivisio	: Spermatophyta
Divisio	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Subkelas	: Lilidae
Ordo	: Liliales
Familia	: Agavaceae
Genus	: <i>Sansevieria</i>
Spesies	: <i>Sansevieria trifasciata</i> (Stover, 1983)



Gambar 2.1 *Sansevieria trifasciata* var. *Laurentii*
(Royal Horticultural Society, 2014)

2.1.1.2 Nama Lain dari *Sansevieria trifasciata*

Sansevieria trifasciata memiliki berbagai macam nama, berbagai macam nama lain dari *Sansevieria trifasciata* adalah lidah mertua, *Mother-in law tongue*, *Variegated Snake Plant*, *Devil's Tongue*, *African Spear*, *Bow String Hemp*, *Bowstring Hemp*, *Snake Plant*, *Good Luck Plant*, *Goldband Sansevieria*, *Viper's Bowstring Hemp*, *Magic Sword*, *Laurentii Snake Plant* (Arnold, 2008).

2.1.2 Morfologi

Sansevieria trifasciata memiliki akar serabut yang berwarna putih kekuningan hingga kemerahan dan dalam tanah akar ini akan menyebar ke segala arah. Pada dasarnya batang tidak tampak pada tanaman ini, sehingga banyak orang mengira sansevieria sebagai tanaman tak berbatang (stemless). Pendapat itu tidak sepenuhnya benar. Pasalnya sansevieria juga memiliki batang, baik batang sejati maupun batang semu. Batang sejati terletak di dalam tanah yang dikenal dengan sebutan rimpang dan batang semu yang terletak di permukaan tanah. Biasanya batang semu disebut stolon (The society of floristry, 2006).

Daun *Sansevieria trifasciata* berbentuk panjang dan meruncing di bagian ujungnya dengan tulang daun sejajar. Daun tanaman ini tebal dan terkandung banyak air di dalamnya, hal ini bermanfaat jika dalam kondisi kekeringan dengan mengurangi penguapan dan laju transpirasi. *Sansevieria trifasciata* memiliki bunga tipe tandan *panicle* berwarna putih yang beraroma wangi terutama pada malam hari (The society of floristry, 2006).

2.1.3 Kandungan Daun *Sansevieria trifasciata*

Sansevieria trifasciata pernah diteliti positif mengandung senyawa saponin, flavonoid, steroid dan triterpenoid. Hasil ini sesuai dengan peneliti Yoshihiro *et al.* (1997) bahwa *Sansevieria* mengandung saponin dan steroid. Demikian pula menurut Sastradipraja (1997), kandungan lidah mertua antara lain polifenol dan saponin. Kandungan saponin dan polifenol berperan dalam efek *Sansevieria trifasciata* sebagai antimikroba (Komala, 2012; Pradipta, 2011)

2.1.4 Manfaat

Sansevieria trifasciata sudah lama dikenal sebagai tanaman hias *indoor* maupun *outdoor* karena corak dan bentuk daunnya yang menarik serta mudah dipelihara. Tanaman penghasil serat ini juga dimanfaatkan sebagai bahan baku dalam industri tekstil di Cina dan Selandia Baru. Tiap helai daun *Sansevieria trifasciata* terkandung senyawa aktif *pregnane glykoside* yang mampu menguraikan senyawa beracun seperti kloroform, benzen, xilen, formaldehid dan trikoloroetilen sehingga sering dimanfaatkan sebagai tanaman antipolusi. Kemampuan ini juga dimanfaat sebagai penghijau lingkungan dan untuk menyerap racun asap buangan kendaraan bermotor. Jika diletakkan dalam ruangan, tanaman ini mampu menangani *sick building syndrome* yaitu keadaan dimana ruangan tidak sehat karena tingginya konsentrasi gas CO₂, nikotin dan asap rokok. Di Afrika tanaman ini digunakan sebagai penghalau racun karena gigitan ular atau serangga, sementara itu di Asia getah tanaman ini digunakan sebagai cairan antiseptik dan daunnya dimanfaatkan sebagai pembalut luka. Daun *Sansevieria trifasciata* bisa digunakan untuk demam dan inflamasi karena memiliki efek analgesik ringan. Manfaat lain dari tanaman ini adalah potensinya sebagai antimikroba pada beberapa bakteri (Tahir, 2008; Komala, 2012)

2.1.5 Komponen Antibakteri *Sansevieria trifasciata*

Sansevieria trifasciata pernah diteliti positif mengandung senyawa saponin, flavonoid, steroid dan triterpenoid. Hasil ini sesuai dengan peneliti Yoshihiro *et al.* (1997) bahwa *Sansevieria* mengandung saponin dan steroid. Demikian pula menurut Sastradipraja (1997), kandungan lidah mertua antara lain polifenol dan saponin. Kandungan saponin dan polifenol berperan dalam efek *Sansevieria trifasciata* sebagai antimikroba (Pradipta; 2011; Komala, 2012)

Struktur saponin terdiri dari aglikon atau sapogenin dan gula (pentosa, heksosa, arbinosa, xilosa, atau asam glukoronat). Aglikon merupakan komponen non gula seperti steroid atau triterpenoid (Friedly, 2006). Pembentukan busa yang mantap sewaktu mengekstraksi tumbuhan atau waktu memekatkan ekstrak tumbuhan merupakan bukti adanya saponin (Harborne, 1987).

Pada tanaman yang sehat, saponin berfungsi sebagai zat antifungal. Molekul ini dibentuk untuk mengatasi serangan fungi. Selain itu saponin juga mempunyai efek antimikrobal fitoprotektan yang signifikan (Papadopoulou *et al.*, 1999). Saponin memiliki sifat seperti detergen sehingga bertindak sebagai agen aktif-permukaan (*surface-active properties*), yaitu menurunkan tegangan permukaan dan bereaksi dengan membran plasma. *Surface-active properties* dapat masuk ke membran lipid bilayer, berikatan dengan kolesterol dan membentuk *chlesterol-saponin complex* yang pada akhirnya dapat melisis sel. Selain itu, saponin juga dapat mengganggu permeabilitas *bacterial outer membrane* melalui reaksinya dengan lipid A yang terkandung pada lipopolisakarida (LPS) dan meningkatkan permeabilitas membran sel (Pradipta, 2011; Dzen *et al.*, 2003)

Selain saponin, juga terdapat polifenol. Polifenol merupakan senyawa fenol, berupa kelompok metabolit sekunder yang banyak ditemukan pada

tanaman. Senyawa ini biasanya berhubungan dengan reproduksi dan pertumbuhan tanaman, melawan patogen dan predator, serta melindungi tanaman dari penyakit. Ada beberapa kelas polifenol yaitu tannin, flavonoid dan lignin. Polifenol diketahui memiliki efek sebagai antimikroba pada sebagian besar bakteri patogen. Aktivitas antimikroba senyawa fenol berhubungan dengan kemampuannya dalam membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler dan protein terlarut, denaturasi protein, inaktivasi enzim, adhesi mikroba dan *cell envelop protein* serta merusak membran plasma (Widiana, 2013; Pradipta, 2011)

2.2 *Streptococcus sanguis*

2.2.1 Tinjauan Umum *Streptococcus sanguis*

Berdasarkan taksonomi, *S. sanguis* dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

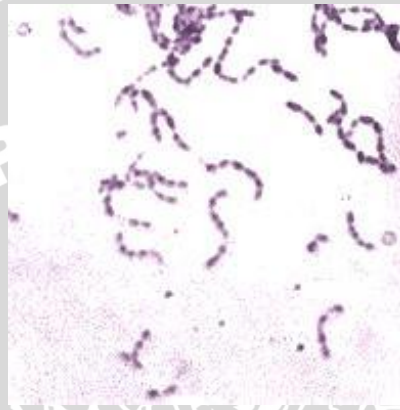
Kingdom	: Monera
Divisio	: Firmicutes
Class	: Bacili
Order	: Lactobacilales
Family	: Streptococcaceae
Genus	: Streptococcus
Species	: <i>Streptococcus sanguis</i> .

(Brooks, 2001)

Streptokokus adalah bakteri Gram positif yang berpasangan atau membentuk rantai selama pertumbuhannya. Bakteri ini banyak terdapat di alam dan beberapa kelompok streptokokus merupakan flora normal sedangkan kelompok lainnya dapat menyebabkan penyakit tertentu. Streptokokus merupakan kelompok bakteri yang heterogen dan belum ada sistem yang dapat

mengklasifikasikannya. Terdapat dua puluh spesies, termasuk *Streptococcus pyogenes* (grup A), *Streptococcus agalactie* (grup B), *Streptococcus viridans* dan *enterococci* (grup D) yang memiliki ciri-ciri tertentu dalam pertumbuhan koloninya, pola hemolisis pada agar darah, komposisi antigenik pada dinding sel dan reaksi biokimia (Jawetz *et al.*, 2012).

2.2.2 Morfologi dan Identifikasi *Streptococcus Sanguis*



Gambar 2.2 Bakteri *Streptococcus Sanguis* pada pewarnaan Gram

(Idris, 2013)

2.2.2.1 Ciri-ciri Organisme

Streptokokus merupakan bakteri kokus tunggal dan tersusun seperti rantai. Kokus membelah pada bidang yang tegak lurus dengan sumbu panjang rantai. Anggota rantai tersebut sering membentuk gambaran diplokokus dan kadang-kadang terlihat seperti batang. Panjang rantai bervariasi dan dipengaruhi oleh lingkungan. Streptokokus tergolong dalam bakteri Gram positif dan apabila berada dalam biakan yang lama bakteri ini akan mati dan terlihat seperti Gram negatif (Jawetz *et al.*, 2012).

Beberapa streptokokus dapat menguraikan polisakarida seperti pneumokokus. Sebagian besar streptococcus galur A, B dan C menghasilkan kapsul yang terdiri dari asam hialuronat. Kapsul ini dapat mengganggu fagositosis. Dinding sel streptokokus mengandung protein (antigen M, T dan R),

karbohidrat dan peptidoglikan. Bakteri ini juga memiliki pili seperti rambut menonjol menembus kapsul. Pili terdiri dari protein M yang dilapisi oleh asam lipoteikoat yang penting untuk perlekatan streptokokus pada sel epitel (Jawetz *et al.*, 2012).

2.2.2.2. Kultur

Sebagian streptokokus tumbuh di medium padat dengan diameter 1-2 mm. Galur yang menghasilkan bahan kapsular seringkali membentuk koloni yang mukoid (Jawetz *et al.*, 2012).

2.2.2.3. Sifat Pertumbuhan

Bakteri ini memperoleh energi terutama dari gula. Pertumbuhan streptokokus cenderung kurang subur pada medium padat atau kaldu, kecuali yang diperkaya dengan darah atau cairan yang berasal dari jaringan. Kebutuhan nutrisi bervariasi pada setiap spesies. Untuk proses pertumbuhan dan hemolisis dibantu dengan inkubasi dalam 10 % CO₂ (Jawetz *et al.*, 2012).

Pertumbuhan sebagian besar streptokokus hemolitik patogen paling baik pada suhu 37° C kecuali enterokokus. Sebagian besar streptokokus adalah fakultatif anaerob (dapat menggunakan oksigen jika tersedia) tetapi *S. sanguis* bersifat fakultatif aerob (dapat menggunakan oksigen tetapi dapat juga menghasilkan energi secara anaerob). *S. sanguis* merupakan bagian dari *S. viridans* yang memiliki ciri khas yaitu membentuk zona α-hemolisis dalam pertumbuhannya dalam media, tetapi juga dapat bersifat nonhemolitik. Pertumbuhannya juga tidak dihambat oleh optokhin dan tidak larut dalam empedu (deoksikolat) (Jawetz *et al.*, 2012).

2.2.2.4. Mekanisme Resistensi

Penggunaan antibiotik terlalu sering dapat menyebabkan resistensi *S. sanguis*. Berdasarkan hasil penelitian dari beberapa ahli menunjukkan bahwa penderita yang diberi antibiotik golongan penisilin (seperti amoxicillin), eritromisin dan trimethoprim-sulfametoxazole 60 % mengalami resistensi terhadap antibiotik tersebut. Namun demikian resistensi pada antibiotik golongan penisilin dapat berkurang apabila antibiotik tersebut tidak digunakan selama beberapa tahun. Akan tetapi resistensi pada antibiotik golongan eritromisin dan trimethoprim-sulfametoxazole pada *S. sanguis* tidak berhubungan lamanya waktu sejak terpaparnya antibiotik tersebut sehingga apabila tidak digunakan selama beberapa tahun maka resistensi tetap tidak akan berkurang (Ergin, 2011).

2.2.2.5. Variasi

Varian galur streptokokus yang sama dapat memperlihatkan bentuk koloni yang berbeda. Keadaan ini terutama terlihat jelas pada galur grup A yang membentuk koloni suram atau mengkilap. Koloni yang suram terdiri dari organisme yang banyak menghasilkan protein M. Organisme ini cenderung virulen dan relatif tidak kebal terhadap fagositosis oleh leukosit manusia. Koloni yang mengkilap cenderung menghasilkan sedikit protein M dan sering tidak virulen (Jawetz *et al.*, 2012).

2.2.3 Struktur Antigen

Karbohidrat kebanyakan terdapat pada dinding sel streptokokus. Pada *S. viridans*, zat spesifik galur biasanya tidak dapat digolongkan berdasarkan pada antigen karbohidrat dinding sel bakteri tersebut. Selain itu, streptokokus juga memiliki protein M yang terlihat seperti tonjolan mirip rambut pada dinding sel

bakteri. Streptokokus bersifat virulen bila terdapat protein M dan apabila tidak ada antibodi spesifik terhadap protein M, organisme ini mampu bertahan terhadap proses fagositosis dari sel leukosit manusia. Molekul protein M memiliki struktur seperti batang yang melingkar dan memisahkan bagian-bagian yang fungsional. Struktur ini memungkinkan serangkaian perubahan yang besar sambil tetap memelihara fungsinya, sehingga imunodeterminan protein M dapat berubah dengan mudah. Tampaknya protein M yang merupakan antigen pada dinding sel streptokokus memiliki peran penting pada pathogenesis demam rematik. Hal ini disebabkan oleh karena protein M streptokokus bereaksi silang dengan sarkolema otot jantung (Jawetz *et al.*, 2012).

Pada beberapa kasus endokarditis ditemukan adanya *S.sanguis* sebagai penyebabnya sehingga dapat dikatakan bahwa *S.sanguis* memiliki protein M yang bersifat virulensi pada dinding selnya. Selain protein M, streptokokus juga memiliki zat T yang merupakan hasil pencernaan proteolitik dari protein M secara cepat. Zat ini tidak bersifat virulensi, tidak tahan asam dan tidak tahan panas. Kemudian selain zat T juga terdapat zat P yang kemungkinan menyusun sebagian besar sebagian besar badan sel streptokokus (Jawetz *et al.*, 2012).

2.2.4 Gambaran Patologi pada SAR

Stomatitis aftosa rekuren mengenai permukaan mukosa, baik mukosa berkeratin. Berikut ini permukaan mukosa rongga mulut yang terlibat : mukosa labial dan bukal, *unattached gingival*, palatum lunak, pipi, bibir, atap atau dasar rongga mulut, serta permukaan tengah dari lidah (Regezi, 2012).

Pasien penderita Rekuren Aftosa Stomatitis ini diklasifikasikan dalam 3 kategori. Kategori ini tergantung pada presentasi klinis dari lesinya, yaitu : ulkus minor, ulkus mayor dan herpetiform ulkus. Ulkus minor sering terjadi pada mukosa labial dan bukal serta pada dasar mulut. Ulkus ini memiliki diameter yang

besarnya kurang dari 1 cm dan sembuh tanpa disertai pembentukan jaringan parut sekitar 7-10 hari. Ulkus mayor biasanya terdapat pada mukosa faring, bibir, palatum lunak. Dimana diameter ulkusnya berukuran lebih dari 1 cm dan akan membentuk jaringan parut setelah penyembuhannya. Ulkus herpetiform adalah yang paling jarang terjadi dan biasanya merupakan lesi berkelompok dan terdiri dari ulkus berukuran kecil dengan jumlah banyak yang sembuh selama 1 hingga 2 minggu (Regezi, 2012).

2.2.5 Manifestasi Klinis SAR

Tiga bentuk stomatitis aftosa rekuren yaitu minor, major, herpetiform ketiganya dipercaya merupakan bagian dari penyakit yang sama dan memiliki etiologi secara umum. Adanya perbedaan ketiga bentuk *aphthous ulcer* penting untuk membedakan secara klinis. Semua bentuk SAR memiliki gejala yang sama yaitu nyeri berulang. Pasien seringkali diawali gejala prodromal seperti rasa kebas atau rasa terbakar sebelum ulkus muncul (Regezi, 2012)

Terbentuknya ulkus tidak diawali dengan vesikel, yang merupakan tanda klinis penting untuk membedakan SAR dengan ulkus akibat herpes dan secara khas ulkus terbentuk di mukosa bukal, vestibulum, lidah, palatum molle dan lain lain. Pada kasus yang sangat jarang, SAR terbentuk di palatum durum dan gingiva. Pada pasien dengan HIV, SAR dapat terjadi di mukosa bagian manapun (Regezi, 2012).

2.2.6 Patogenesis Infeksi *Streptococcus sanguis* SAR

Individu yang memiliki genetik HLA B51 berisiko tinggi menimbulkan SAR. Karena adanya gen HLA ini menyebabkan terjadinya reaksi hipersensitivitas tipe lambat (tipe IV) terhadap antigen *S.sanguis* di rongga mulut sehingga memiliki kecenderungan lebih besar untuk terjadi reaksi hipersensitivitas tipe lambat

terhadap *S.sanguis* di antara pasien SAR. Adanya reaksi hipersensitivitas ini dapat menimbulkan kerusakan jaringan di mukosa mulut sehingga menimbulkan terjadinya SAR (Galeone, 2011).

Adanya reaksi silang antara antigen *heat shock protein* (hsp) dari *S.sanguis* dengan antigen *heat shock protein* (hsp) di mitokondria mukosa rongga mulut dapat meningkatkan serum antibodi pada penderita SAR. Karena adanya protein hsp dari *S.sanguis* ini menyebabkan terjadinya limfopliperatif (proliferasi limfosit/ limfosit memperbanyak diri akibat adanya antigen hsp *S.sanguis* sebagai respon imunologi untuk melawan infeksi) sehingga terjadi pembentukan antibodi dari limfosit untuk bereaksi atau merusak antigen hsp dari *S.sanguis*. Karena antigen hsp *S.sanguis* mirip dengan antigen hsp mitokondria mukosa mulut, menyebabkan antibodi tidak hanya menyerang hsp dari *S.sanguis* tetapi juga hsp dari rongga mulut sehingga menimbulkan kerusakan pada mukosa rongga mulut oleh antibodi. Hal ini disebut sebagai reaksi silang atau *molecular mimicry* karena antigen hsp *S.sanguis* sama dengan antigen hsp mukosa mulut sehingga antibodi juga menyerang mukosa mulut selain *S.sanguis* (Galeone, 2011).

2.2.7 Pengobatan SAR

Stomatitis aftosa rekuren sebetulnya dapat sembuh sendiri, karena sifat dari kondisi ini adalah *self-limiting*. Pasien juga dianjurkan menghindari makanan yang mengandung pengawet benzoate (E210-219), keripik kentang dan coklat. Obat-obatan untuk mengatasi SAR diberikan sesuai dengan tingkat keparahan lesi. Banyak obat-obatan, termasuk vitamin, obat kumur antiseptik, steroid topikal dan imunomodulator sistemik untuk mengatasi rekuren aftosa stomatitis minor. Walaupun demikian hanya sebagian kecil yang secara ilmiah terbukti efisien. Kombinasi vitamin B1 (thiamin, 300 mg sehari) dan vitamin B6 (pyridoxine, 50

mg setiap 8 jam) diberikan selama 1 bulan dianjurkan sebagai penatalaksanaan empiris tahap awal. Penggunaan terapi anxiolytic atau rujukan hipnoterapi dapat membantu bagi penderita yang diperkirakan memiliki faktor presipitasi berupa stress. Beberapa pasien memberikan respon yang baik terhadap obat kumur seperti klorheksidin, benzydamine, sodium bikarbonat dan obat topical kortikosteroid seperti hidrokortison, triamsinolon dan fluocinolon. Fluticason nasal spray yang disemprotkan 2 semprotan 2 kali sehari pada daerah ulkus juga membantu penyembuhan (Lewis, 2012).

2.3. Uji Kepekaan Bakteri terhadap Antimikroba

Secara *in vitro* uji antimikroba dapat dilakukan dengan 3 macam metode, yaitu *tube dilution test*, *agar dilution test*, dan *disk diffusion test* (Murray, 1999). Uji kepekaan antibakteri secara *in vitro* pada dasarnya dapat dikerjakan dengan dua cara yaitu metode dilusi dan difusi. Selain itu, kedua metode ini dapat mendeteksi level resistensi dari bakteri (Kayser et al, 2005). Uji kepekaan bakteri terhadap obat-obatan secara *in vitro* bertujuan untuk mengetahui obat antibakteri yang masih dapat digunakan untuk mengatasi infeksi oleh bakteri tersebut. Uji kepekaan terhadap obat antibakteri pada dasarnya dapat dilakukan melalui dua cara yaitu metode dilusi dan metode difusi cakram (Dzen dkk, 2003).

2.3.1 Metode Difusi Cakram (*Disk Diffusion Test*)

Keunggulan uji difusi cakram agar (metode Kirby-Bauer) mencakup fleksibilitas yang lebih besar dalam memilih obat yang akan diperiksa, kemudahan mengenali biakan campuran dan biaya yang relatif murah (Ronald, 2004).

Pada metode ini, biakan kaldu yang tumbuh secara eksponensial atau suspensi segar dari biakan agar satu malam isolat yang secara klinis penting

digunakan sebagai inokulum. Kepadatan organisme dalam inokulum disesuaikan untuk menyamai kepadatan pada standar kekeruhan (1×10^8 CFU/ml). Suspensi diinokulasikan ke suatu lempeng agar dengan apusan yang dibasahi inokulum. Ke permukaan agar diletakkan cakram-cakram kertas kering bergaris tengah 6 mm yang sudah diisi antimikroba. Medium dan kondisi inkubasi yang dianjurkan oleh NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standards*) adalah sebagai berikut :

- a) Bakteri yang tidak rewel diinokulasikan pada agar Mueller-Hinton dan diinkubasikan secara aerobik selama 16 sampai 18 jam pada suhu 35°C.
- b) Isolat *Streptococcus* sp. diinokulasikan hanya dari suspensi yang disiapkan dari biakan agar satu malam. Suspensi diinokulasikan ke kaldu Mueller-Hinton yang kationnya sudah disesuaikan dan ditambahi darah kuda 2 sampai 5% yang sudah dilisiskan dan diinkubasikan selama 20 sampai 24 jam pada suhu 35°C (Ronald, 2004).

Selama inkubasi biakan uji, obat antimikroba berdifusi ke dalam agar secara radial, sehingga tercipta suatu gradient konsentrasi. Dalam beberapa jam pertama inkubasi, interaksi yang terjadi antara perubahan konsentrasi obat antimikroba dan peningkatan jumlah bakteri di permukaan agar menentukan ukuran akhir zona inhibisi di sekitar cakram. Setelah inkubasi, garis tengah zona inhibisi diukur dan dibandingkan dengan suatu bagan referensi. Bagan referensi mencantumkan titik ambang garis tengah zona yang menerjemahkan aktivitas antimikroba menjadi kategori rentan (S), rentan intermediet (I) atau resisten (R) (Ronald, 2004).

Suatu varian dari metode difusi agar yang semakin populer adalah metode uji E yang menggunakan suatu strip plastik segiempat tertara yang telah diisi oleh obat antimikroba dengan konsentrasi bergradasi. Uji dilakukan dengan cara yang sama seperti pada metode difusi cakram agar dengan pembentukan

zona inhibisi pertumbuhan yang lebih eliptis daripada bundar. Perpotongan zona dengan strip mengindikasikan MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) antimikroba dengan merujuk ke nilai terkalibrasi di lokasi strip tersebut. Uji E dapat digunakan untuk memeriksa spektrum bakteri yang sama dengan yang diperiksa oleh metode difusi agar. Selain itu, telah dilaporkan adanya metode uji E untuk bakteri anaerob, ragi dan mikrobakteri. Tidak ada metode uji E yang telah disetujui oleh NCCLS (Ronald, 2004).

2.3.2 Metode Dilusi

2.3.2.1 Metode Dilusi Tabung (*Tube Dilution Test*)

Ini digunakan untuk menentukan konsentrasi minimal, biasanya dalam mg/ml, suatu bahan antimikroba dibutuhkan untuk menghambat atau membunuh mikroorganisme tertentu dengan menggunakan media agar atau *broth*. Tes ini dikerjakan dengan mencampurkan bahan antimikroba dalam jumlah yang bertingkat, kedalam media perbenihan bakteri baik dalam bentuk cair maupun padat. Media perbenihan kemudian ditanami dengan bakteri uji dan diinkubasikan pada suhu 37° selama 18-24 jam, kemudian diamati terjadinya kekeruhan pada tabung. Kadar atau konsentrasi minimal bahan uji yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji yang ditandai dengan tidak terdapatnya kekeruhan pada bahan uji dalam media yang telah diberi bakteri uji tersebut. adalah Kadar Hambat Minimal (KHM). Untuk menentukan KHM bahan uji, dapat juga menggunakan medium agar padat yang disebut dengan *metode E test*. *Metode E test* ini dilakukan bila pada metode *tube dilution test* nilai KHM tidak dapat dianalisa, hal ini dapat terjadi karena partikel bahan uji menyebabkan kekeruhan pada media perbenihan cair. Konsentrasi bakteri pada uji ini adalah 10^6 CFU/ml (Dzen *et al.*, 2003).

Setelah didapat nilai KHM, selanjutnya biakan dan semua tabung yang jernih diinokulasikan pada media agar padat lalu diinkubasikan dan keesokan harinya diamati ada tidaknya koloni bakteri yang tumbuh. Konsentrasi terendah bahan uji pada biakan padat yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri adalah Kadar Bunuh Minimal (KBM) dari bahan uji terhadap bakteri uji tersebut (Dzen *et al.*, 2003).

2.3.2.2 Metode Dilusi Agar

Pada metode dilusi agar, bahan antimikroba yang sudah diencerkan secara serial dicampurkan ke dalam medium agar yang masih cair (tetapi tidak terlalu panas) kemudian agar dibiarkan memadat, selanjutnya agar yang sudah mengandung antimikroba diinokulasikan dengan bakteri dengan konsentrasi 1×10^4 CFU/ml. Antimikroba dan mikroba ditanamkan pada media agar padat ditambah 1 kontrol tanpa disertai antimikroba. Dengan metode ini, dapat diuji satu atau lebih bakteri terisolasi untuk setiap cawan dengan satu konsentrasi antimikroba. Selanjutnya, diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Setelah di inkubasi, cawan diamati KHM pertumbuhan bakteri (Forbes, 2001).

2.4 Cara Kerja Antimikroba

Agen antimikroba yang ideal memperlihatkan prinsip toksisitas selektif, yang berarti bahwa obat tersebut haruslah bersifat sangat toksik untuk mikroba, tetapi relatif tidak toksik untuk hospes (Syarif, 2005). Prinsip toksisitas selektif adalah perbedaan antara struktur sel mikroba dengan sel hospes. Toksisitas selektif juga bersifat relatif, dapat berupa reseptor spesifik untuk perlekatan atau hambatan proses biokimia obat antimikroba terhadap mikroba tetapi tidak terhadap hospes. Obat antibakteri mempunyai selektif toksisitas yang tinggi oleh karena sel manusia dengan sel bakteri (prokariot) berbeda dalam hal dinding sel,

komponen membran sel, struktur ribosom, dan metabolismenya (Dzen dkk, 2003)

2.4.1 Inhibisi Sintesis Dinding Sel

Dinding sel bakteri terdiri dari peptidoglikan. Oleh karena tekanan osmotik dalam sel kuman lebih tinggi daripada di luar sel, maka kerusakan dinding sel kuman akan menyebabkan terjadinya lisis (Syarif, 2005). Bakteri mempunyai lapisan luar yang kaku, yaitu dinding sel. Dinding sel mempertahankan bentuk dan ukuran mikroorganisme, yang mempunyai tekanan osmotik internal tinggi. Cedera pada dinding sel (misal, karena lisozim) atau inhibisi pada pembentukannya dapat menyebabkan sel menjadi lisis. Dalam lingkungan hipertonik (misal sukrosa 20%), kerusakan pembentukan dinding sel mengakibatkan terbentuknya protoplas bakteri sferis pada organism Gram positif atau sferoplas pada organism Gram negatif. Bentuk-bentuk tersebut dilapisi oleh membrane sitoplasma yang rapuh. Jika protoplas atau sferoplas tersebut ditempatkan pada lingkungan dengan tonisitas normal, keduanya akan mengambil cairan secara cepat, membengkak dan dapat pecah. Spesimen dari pasien yang telah diobati dengan antibiotik aktif-dinding sel sering memperlihatkan bakteri yang membengkak atau mengalami kerusakan bentuk (Jawetz *et al.*, 2012).

Dinding sel mengandung polimer kompleks mukopeptida (peptidoglikan) yang khas secara kimiawi, yang terdiri dari polisakarida dan polipeptida dengan banyak hubungan silang. Polisakarida tersebut biasanya mengandung gula amino N-asetilglukosamin dan asam asetilmuramat. Asam asetilmuramat ditemukan hanya pada bakteri. Rantai peptida pendek menempel pada gula amino. Rigiditas akhir dinding sel dibentuk oleh ikatan silang rantai peptide (misal

melalui ikatan pentaglisin) sebagai akibat reaksi transpeptidase yang dikerjakan oleh beberapa enzim. Lapisan peptidoglikan lebih tebal pada dinding sel bakteri Gram positif daripada bakteri Gram negatif (Jawetz *et al.*, 2012).

Semua obat β -laktam merupakan inhibitor selektif terhadap sintesis dinding sel bakteri sehingga secara aktif melawan pertumbuhan bakteri. Inhibisi ini hanyalah salah satu dari beberapa aktivitas obat, tetapi inilah yang paling dimengerti. Langkah awal kerja obat berupa pengikatan obat ke reseptor sel. Terdapat juga sampai enam PBP (protein pengikat penisilin), beberapa di antaranya adalah enzim transpeptidase. Reseptor yang berbeda mempunyai afinitas yang berbeda untuk suatu obat dan masing-masing reseptor dapat memperantarai efek yang berbeda. Misalnya, perlekatan penisilin ke suatu PBP dapat menyebabkan pemanjangan sel yang abnormal, sedangkan pada perlekatan PBP lain dapat menyebabkan defek di tepi dinding sel, sehingga mengakibatkan lisis sel. PBP dikendalikan oleh kromosom dan mutasi dapat mengubah jumlah atau afinitas PBP terhadap obat-obat β -laktam (Jawetz *et al.*, 2012).

Setelah obat β -laktam melekat pada suatu reseptor atau lebih, reaksi transpeptidase dihambat dan sintesis peptidoglikan tertahan. Langkah selanjutnya kemungkinan melibatkan perpindahan atau inaktivasi inhibitor enzim autolitik di dinding sel. Ini mengaktifkan enzim litik dan dapat menyebabkan lisis bila lingkungannya isotonic. Pada lingkungan yang sangat hipertonik, mikroba berubah menjadi protoplas dan sferoplas yang hanya dilapisi oleh membrane sel yang rapuh. Pada sel tersebut, sintesis protein dan asam nukleat dapat berlanjut beberapa waktu lamanya. Inhibisi enzim transpeptidase oleh penisilin dan sefalosporin mungkin karena adanya kesamaan struktur obat-obat tersebut dengan asil-D-alanil-D-alanin. Reaksi transpeptidase melibatkan hilangnya D-alanin dari pentapeptida (Jawetz *et al.*, 2012).

2.4.2 Inhibisi Fungsi Membran Sel

Sitoplasma semua sel yang hidup diikat oleh membrane sitoplasma, yang bekerja sebagai barrier permeabilitas selektif, berfungsi sebagai transport aktif, sehingga mengontrol komposisi internal sel. Jika integritas fungsional membran sitoplasma terganggu, makromolekul dan ion dapat keluar dari sel sehingga dapat menyebabkan kerusakan atau kematian sel. Membran sitoplasma bakteri dan jamur mempunyai struktur yang berbeda dari sel-sel hewan dan dapat lebih mudah dirusak oleh agen tertentu. Oleh karenanya, kemoterapi selektif mungkin untuk dilakukan (Jawetz *et al.*, 2012).

Contoh mekanisme tersebut adalah polimiksin yang bekerja pada bakteri Gram negatif dan poliene yang bekerja pada jamur. Poliene perlu berikatan dengan sterol yang ada dalam membran sel jamur tetapi tidak ada pada membran sel bakteri. Sebaliknya, polimiksin tidak aktif melawan jamur dan poliene tidak aktif melawan bakteri (Jawetz *et al.*, 2012).

2.4.3 Inhibisi Sintesis Protein

Telah dibuktikan bahwa eritromisin, linkomisin, tetrasiklin, aminoglikosida dan kloramfenikol dapat menghambat sintesis protein pada bakteri. Mekanisme kerja yang tepat dari obat-obat tersebut belum sepenuhnya diketahui (Jawetz *et al.*, 2012).

Bakteri mempunyai ribosom 70S, sedangkan sel-sel mamalia mempunyai ribosom 80S. Subunit setiap tipe ribosom, komposisi kimianya dan spesifisitas fungsionalnya cukup berbeda untuk menjelaskan mengapa obat antimikroba dapat menghambat sintesis protein pada ribosom bakteri tanpa berefek besar

pada ribosom mamalia. Pada sintesis protein mikroba normal, pesan mRNA (messenger Ribonucleic Acid) secara simultan dibaca oleh beberapa ribosom yang memanjang di sepanjang rantai mRNA yang disebut sebagai polisom (Jawetz *et al.*, 2012)

2.4.4 Inhibisi Sintesis Asam Nukleat

Contoh obat yang bekerja dengan cara inhibisi sintesis asam nukleat adalah kuinolon, pirimetamin, rifampin, sulfonamide, trimetroprim dan trimetreksat. Rifampin menghambat pertumbuhan bakteri dengan secara kuat berikatan pada RNA polymerase dependen DNA (Deoxyribonucleic Acid) bakteri. Oleh karena itu, rifampin menghambat sintesis RNA bakteri. Resistansi rifampin disebabkan oleh perubahan RNA polymerase akibat mutasi kromosom yang terjadi dengan frekuensi tinggi. Mekanisme kerja rifampin pada virus berbeda. Obat tersebut menghambat tahap lanjut pada perakitan poxivirus (Jawetz *et al.*, 2012).

Semua kuinolon dan fluorokuinolon menghambat sintesis DNA mikroba dengan menghambat DNA girase. Untuk banyak mikroorganisme, asam p-aminobenzoat (PABA) merupakan metabolit penting. Cara kerja spesifik PABA berupa kondensasi suatu pteridin yang dependen adenosine trifosfat (ATP) dengan PABA untuk menghasilkan asam dihidropteroat, yang kemudian diubah menjadi asam folat. PABA berperan dalam sintesis asam folat, suatu prekursor yang penting dalam sintesis asam nukleat. Sulfonamid adalah analog struktural PABA dan menghambat dihidropteroatsintetase (Jawetz *et al.*, 2012).

Sulfonamid dapat masuk ke dalam reaksi di tempat PABA dan bersaing untuk pusat aktif enzim. Akibatnya, terbentuk analog asam folat nonfungsional, yang mencegah pertumbuhan sel bakteri lebih lanjut. Kerja penghambat sulfonamid pada pertumbuhan bakteri dapat ditiadakan dengan PABA yang berlebihan dalam lingkungan (inhibisi kompetitif). Sel-sel hewan tidak dapat

mensintesis asam folat dan harus bergantung pada sumber eksogen. Beberapa bakteri, seperti sel hewan, tidak dihambat oleh sulfonamide. Namun banyak bakteri lain, mensintesis asam folat seperti yang disebutkan di atas dan akibatnya rentan terhadap kerja sulfonamid (Jawetz *et al.*, 2012).

Trimetoprim (3,4,5-trimetoksibenzilpirimidin) menghambat asam dihidrofolat reduktase 50000 kali lebih efisien dalam bakteri daripada dalam sel mamalia. Enzim ini mereduksi asam dihidrofolat menjadi tetrahidrofolat, suatu tahap pada sequens yang menyebabkan sintesis purin dan akhirnya DNA. Sulfonamid dan trimetoprim masing-masing dapat digunakan secara tunggal untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Jika digunakan bersamaan, akan menimbulkan penghambatan sekuensial, menyebabkan peningkatan aktivitas yang nyata (sinergisme). Campuran sulfonamide (lima bagian) ditambah trimetoprim (satu bagian) telah digunakan pada pengobatan pneumonia pneumositis, malaria, enteritis *Shigella*, infeksi *Salmonella* sistemik, infeksi saluran kemih dan banyak lainnya. Pirimetamin juga menghambat dihidrofolat reduktase, tetapi lebih aktif melawan enzim dalam sel-sel mamalia sehingga bersifat lebih toksik daripada trimetoprim (Jawetz *et al.*, 2012).