

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Jambu Biji (*Psidium guajava*)

2.1.1 Taksonomi dan Morfologi

Taksonomi dari tanaman jambu biji (*Psidium guajava*) adalah (Utami, 2008):

Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Sub divisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Dicotyledonae</i>
Ordo	: <i>Myrtales</i>
Famili	: <i>Myrtaceae</i>
Genus	: <i>Psidium</i>
Spesies	: <i>Psidium guajava</i>



Gambar 2.1 Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*)

(Sumber: http://keyserver.lucidcentral.org/weeds/data/03030800-0b07-490a-8d04-0605030c0f01/media/Html/Psidium_guajava.htm)

Tanaman jambu biji adalah sejenis tanaman perdu atau pohon kecil dengan tinggi antara 2-8 m. Tanaman ini memiliki banyak percabangan dengan ranting yang berbulu halus. Cabangnya berkelok menyiku dengan daun

berbentuk bulat telur, oblong, atau elips yang arahnya menjauhi cabang. Panjang daun jambu biji antara 5-15 cm dan lebar antara 2,5-5 cm. Daun kaku dan tampak urat-urat yang jelas. Batang tanaman ini bertekstur keras, kuat, padat, dan tidak mudah patah. Batang ini berkayu dan memiliki kambium. Bentuk buah ada yang bermacam-macam, ada yang bulat, lonjong, atau seperti buah *pear* (Utami, 2008).

Tanaman jambu biji memiliki beberapa varietas antara lain: jambu biji kecil, jambu biji sukun, jambu biji Bangkok, jambu biji Australia, jambu biji Brasil, jambu biji merah getas, jambu biji susu, jambu biji Bangkok epal, dan jambu biji pasar minggu. Walaupun jambu biji memiliki beraneka ragam varietas, namun berasal dari spesies yang sama (Parimin, 2005).

2.1.2 Kandungan Kimia

Buah jambu biji mengandung vitamin A, vitamin C, besi, mangan, fosfor, kalsium, minyak atsiri (*essential oil*). Vitamin C yang terdapat pada buah jambu biji yang sudah masak dapat mencapai dua kali lipat lebih tinggi daripada vitamin C yang terdapat pada buah jeruk manis. Vitamin C sangat baik untuk antioksidan (Parimin, 2005).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan *Singh Medical Hospital and Research Center Morrabad*, India buah jambu biji dapat menurunkan kadar kolesterol total dan trigliserida darah serta tekanan darah penderita hipertensi *essensial* (Wirakusumah, 2002). Kandungan lengkap kadar gizi yang terdapat dalam 100 gram jambu biji masak segar adalah protein sebanyak 0,9 g; lemak 0,3 g; karbohidrat 12,2 g; kalsium 14 g; fosfor 28 g; besi 1,1 mg; vitamin A 25 SI; vitamin B1 0,02 mg; vitamin C 87 mg; dan air 86 g, dengan total kalori sebanyak 49 kalori (Parimin, 2005).

Kandungan dalam daun jambu biji tetap sama walaupun memiliki varietas yang berbeda. Daun jambu biji mengandung tannin, terpenoid, glikosida,

quercetin, galocatechin, saponin, flavonoid, sitosterol, asam guajavol, asam guavenol, charyophylene, copaene, azulene, eucalyptol, asam mallat, dan cineol (Milot, 2004). Selain itu daun jambu biji juga mengandung resin, lemak, selulose, klorofil, garam mineral, karoten, dan amygdalin (Heinnermen, 2003).

2.1.2.1 Tannin

Tannin adalah suatu nama deskriptif umum untuk satu grup substansi fenolik polimer yang mampu menyamak kulit atau mempresipitasi gelatin dari cairan, suatu sifat yang dikenal sebagai astringensi. Tannin mungkin dibentuk dengan kondensasi derivatif flavan yang ditransportasikan ke jaringan kayu dari tanaman. Tannin mungkin juga dibentuk dengan polimerisasi unit quinon (Naim, 2004).

Tannin merupakan salah satu senyawa kimiawi yang termasuk dalam golongan polifenol yang diduga dapat mengikat salah satu protein yang dimiliki oleh bakteri yaitu adhesin dan apabila hal ini terjadi maka dapat merusak ketersediaan *reseptor* pada permukaan sel bakteri. Tannin telah dibuktikan dapat membentuk kompleks senyawa yang *irreversibel* dengan prolin, suatu protein lengkap, yang mana ikatan ini mempunyai efek penghambatan sintesis protein untuk membentuk dinding sel (Agnol *et al.*, 2003). Pada penelitian terhadap daun kering jambu biji yang digiling halus diketahui, kandungan tanninnya berkisar antara 10-17,4%. Makin halus serbuk daun jambu bijinya, maka semakin tinggi kandungan tanninnya (Winarno, 2003).

2.1.2.2 Terpenoid

Terpenoid merupakan suatu golongan hidrokarbon yang banyak dihasilkan oleh tumbuhan dan terutama terkandung pada getah dan vakuola selnya. Pada tumbuhan, senyawa-senyawa golongan terpena dan modifikasinya, terpenoid, merupakan metabolit sekunder. Terpenoid dihasilkan pula oleh

sejumlah hewan, terutama serangga dan beberapa hewan laut. Di samping sebagai metabolit sekunder, terpenoid merupakan kerangka penyusun sejumlah senyawa penting bagi makhluk hidup. Sebagai contoh, senyawa-senyawa steroid adalah turunan skualena, serta karoten dan retinol (Rahman, 2005).

Terpenoid banyak terkandung pada minyak atsiri yang dihasilkan oleh tumbuhan. Kandungan minyak atsiri memiliki banyak manfaat baik sebagai bumbu, sebagai wewangian, serta sebagai bahan pengobatan, kesehatan, dan penyerta upacara-upacara ritual. Nama-nama umum senyawa golongan ini seringkali diambil dari nama minyak atsiri yang mengandungnya. Lebih jauh lagi, nama minyak itu sendiri diambil dari nama (nama latin) tumbuhan yang menjadi sumbernya ketika pertama kali diidentifikasi. Misalnya citral diambil dari minyak yang dihasilkan oleh jeruk (*Citrus*), eugenol diambil dari minyak yang dihasilkan oleh cengkeh (*Eugenia aromatica*) (Rahman, 2005).

Terpenoid memainkan peran yang sangat penting dalam kehidupan hewan dan tumbuhan. Untuk tanaman sangat berguna dalam berbagai proses termasuk respirasi, fotosintesis, pertumbuhan, perkembangan, dan adaptasi lingkungan. Dewasa ini terpenoid menjadi molekul yang sangat penting dalam dunia agrikultur dan medis. Terpenoid menjadi nutrisi penting untuk makanan, sebagai agen kemoterapi untuk pengobatan tumor, sebagai antibakteri, antifungi, anti inflamasi, anti *tuberculosis*, dan anti HIV. Sedang penggunaan pada bidang agrikultur mencakup sebagai substansi dasar untuk insektisida (Ethan, 2001).

Terpenoid dikenal sebagai komponen obat herbal tradisional serta memiliki efek antifungi, antibakteri, antineoplastik serta fungsi farmasi lainnya. Mekanisme kerja terpenoid sebagai antimikroba belum sepenuhnya dipahami. Tetapi beberapa penelitian menemukan adanya efek toksik terpenoid terhadap struktur dan fungsi membran sel bakteri. Bagian lipofilik pada terpenoid berpartisipasi ke dalam struktur dan fungsi membran sel bakteri sehingga

menyebabkan perubahan fluiditas membran, mengubah lingkungan lipid protein membran, melisiskan membran sel, dan mengganggu aktivitas enzimatik membran yang dapat menghambat pembentukan dinding sel bakteri (Niescier, 2000; Daisy *et al.*, 2008; Choi, 2008) .

2.1.2.3 Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu molekul bioaktif polifenol yang berperan penting dalam sintesis sel dan banyak ditemukan pada tumbuhan (Kumar, 2011). Flavonoid merupakan suatu komponen alam yang diketahui memiliki efek farmakologik seperti antioksidatif, antiinflamasi dan antidiuretik serta memiliki kemampuan sebagai zat antimikroba (Pepeljnjak *dkk.*, 2005).

Flavonoid mengandung 15 atom karbon dalam inti dasarnya, yang tersusun dalam konfigurasi $C_6-C_3-C_6$, yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh satuan tiga karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga (Basri, 2008). Flavonoid memiliki aktivitas antimikroba dengan cara mendenaturasi dinding sel yang terdiri atas lipid dan asam amino (Arini, 2014). Denaturasi tersebut menyebabkan koagulasi protein dan terganggunya fungsi fisiologis bakteri sehingga akan mengakibatkan rusaknya sel bakteri secara permanen (Agustin, 2007). Golongan flavonoid maupun alkaloid tanaman dapat menyebabkan gangguan pada membran sel sehingga berakibat komponen penyusunan membran akan berubah dan proses fisiologi membran akan terganggu dengan terjadi kerusakan dan pengkerutan pada membran tersebut (Wurlina, 2006).

Selain itu flavonoid tanaman dapat mengantagonisir perbaikan protein sitoskeleton yang menyebabkan pembundelan mikrotubulus dan gangguan dari struktur mikrotubulus yang diikuti dengan penghentian mitosis dan menghambat sintesis DNA secara progresif (Wurlina, 2006).

2.1.2.4 Saponin

Saponin merupakan glikosida yang banyak ditemukan pada tanaman. Saponin dapat ditemukan di berbagai bagian tanaman seperti akar, tunas, bunga, dan biji (Naidu, 2000). Saponin memiliki aktivitas antifungi dan antibakterial yang berspektrum luas, mampu menurunkan kolestrol dan menghambat pertumbuhan sel kanker. Saponin dapat bekerja sebagai komponen surfaktan yang dapat menurunkan tegangan permukaan dan memiliki aktivitas emulsi yang cenderung mengubah permeabilitas dinding sel (*Modern Medicine*, 2008). Saponin dapat bergabung dengan sterol membran sel untuk menghasilkan perubahan pada morfologi sel dan memicu terjadinya apoptosis (Geidarn *et al.*, 2007).

Saponin memiliki kemampuan merusak membran sel bakteri melalui interaksi gugus lipofiliknya dengan membran interna bakteri (retikulum endoplasma dan badan golgi) (Yunita, 2010). Interaksi ini menimbulkan gangguan pada permeabilitas sel bakteri sehingga bakteri tidak dapat melakukan aktivitas hidup dan menyebabkan kematian bakteri (Bruneton, 2008).

2.1.3 Manfaat Tanaman Jambu Biji

Hampir semua bagian tanaman jambu biji bermanfaat bagi kehidupan. Kayu jambu biji yang halus dan sangat padat baik digunakan untuk ukiran atau patung yang bernilai tinggi. Di samping itu kayunya yang halus, kuat, dan tahan lama ini banyak dimanfaatkan menjadi aneka macam gagang. Selain itu kayu dari jambu biji dimanfaatkan sebagai kayu bakar yang sangat baik karena apinya sangat panas, menghasilkan asap yang sedikit, dan nyala apinya tahan lama (Parimin, 2005).

Buah jambu biji dapat dikonsumsi dalam keadaan segar. Buahnya dapat diolah menjadi sirup, sari buah, nektar, buahvita, jeli, selai, kembang gula, dan

dodol (Parimin, 2005). Daun jambu biji memiliki banyak manfaat antara lain sebagai *astringent* untuk lapisan mukosa, antidiare, antiinflamasi, antidiabetes, serta antiseptik daerah mulut dan vagina. Selain itu juga bermanfaat untuk mengobati saluran kemih, radang tenggorokan, dan dapat membantu mengatasi epilepsi, malaria, rheumatik, serta mencuci dan membantu penyembuhan baik luka ringan, luka berdarah, luka bernanah, maupun luka bakar (Geidam *et al.*, 2007).

2.1.4 Asal dan Letak Geografis

Tanaman jambu dapat tumbuh dengan baik di daratan menengah. Meskipun demikian, tanaman ini masih bisa tumbuh di daerah pantai. Tanaman ini dapat tumbuh pada hampir semua jenis tanah dengan kondisi pH tanah yang dikehendaki 4,5-9,4 (Utami, 2008).

Tanaman jambu biji juga sering dikenal dengan nama jambu klutuk, jambu siki, atau jambu batu. Tanaman ini berasal dari Amerika tropis. Tanaman ini sering tumbuh liar dan dapat ditemukan hampir di setiap jalan di Hawaii. Tanaman jambu biji bisa sampai ke Filipina karena dibawa oleh Spanyol, sedangkan Portugis memperkenalkan tanaman ini sampai ke India. Sekarang jambu biji telah terdistribusi baik dan menjadi tanaman daerah tropis maupun subtropis (Kusaldi, 2005). Di Indonesia tanaman ini tersebar di Sumatra, Jawa, Nusa Tenggara, Sulawesi dan Maluku (Hermawan, 2012).

2.2 Lactobacillus

Secara historis, *Lactobacillus sp* adalah mikroorganisme pertama kali yang terlibat dalam pembentukan karies gigi. Bakteri tersebut muncul selama tahun pertama kehidupan anak-anak dan terdapat pada air liur dalam jumlah yang tinggi, pada dorsum lidah, selaput lendir, palatum durum, di plak gigi dan

dalam jumlah yang lebih sedikit pada permukaan gigi (Badet *and* Thebaud, 2008). Dalam keadaan normal, bakteri tersebut tidak menimbulkan penyakit. Akan tetapi, bakteri spesifik tersebut mampu mengubah glukosa dan karbohidrat pada makanan menjadi asam melalui proses fermentasi (Pratiwi, 2007).

2.2.1 Taksonomi *Lactobacillus acidophilus*

Taksonomi dari *Lactobacillus acidophilus* adalah (Kahl, 2007):

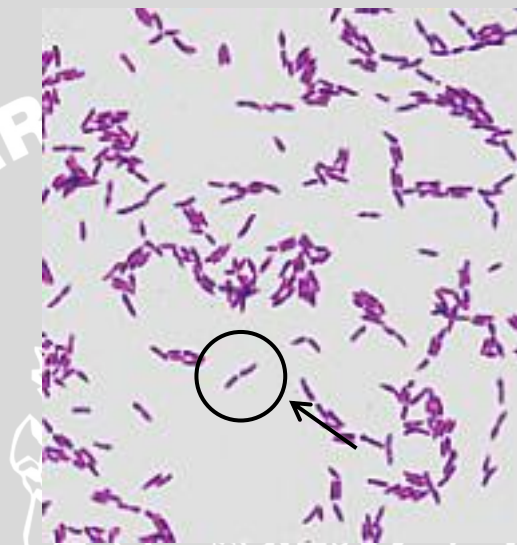
Kingdom	: <i>Bacteria</i>
Divisi	: <i>Firmicutes</i>
Kelas	: <i>Bacilli</i>
Ordo	: <i>Lactobacillales</i>
Famili	: <i>Lactobacillaceae</i>
Genus	: <i>Lactobacillus</i>
Spesies	: <i>Lactobacillus acidophilus</i>

2.2.2 Morfologi *Lactobacillus acidophilus*

Bakteri *Lactobacillus acidophilus* merupakan bakteri Gram positif yang tidak berspora dengan selnya berbentuk bacillus (batang) dan bersifat fakultatif anaerob. Bakteri ini dapat memecah glukosa, laktosa atau golongan gula lainnya menjadi asam laktat dan energi melalui proses metabolisme anaerobik dengan bantuan enzim laktat dehidrogenase (Rosiana, 2008).

Lactobacillus acidophilus merupakan mikroorganisme yang terdapat pada rongga mulut, jumlahnya kurang dari jumlah normal flora di mulut. Bakteri ini memiliki kemampuan untuk menghemolisis sel darah merah sampai berbagai tingkat dan menghasilkan berbagai zat ekstraseluler dan enzim. Oleh karena itu, jumlah bakteri *Lactobacillus* juga dipengaruhi oleh aktivitas karies dalam rongga mulut (Samaranayake, 2006).

Lactobacillus acidophilus merupakan *Lactobacilli* yang bersifat fakultatif anaerob, obligat homofermentatif, non motil, menghasilkan DL-asam laktat. Bakteri asam laktat homofermentatif membentuk murni laktat atau hampir (90%) murni. Suhu optimum pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* adalah 35-45°C, tidak terjadi pertumbuhan pada suhu kurang dari 15°C dan pH optimum untuk pertumbuhannya adalah 5,5-6,0 (Siswanti, 2002).



Gambar 2.2 Bakteri *Lactobacillus acidophilus* pada Pewarnaan Gram terdapat gambaran berbentuk batang dan berwarna ungu

(Sumber : <http://textbookofbacteriology.net/themicrobialworld/NormalFlora.html>)

2.2.3 Peran *Lactobacillus acidophilus* terhadap Karies

Beberapa detik setelah penyikatan gigi akan terbentuk deposit selapis tipis yang terutama terdiri dari glikoprotein pada permukaan gigi yang disebut dengan pelikel yang menjadi tempat awal menempelnya mikroorganisme. Dalam waktu beberapa menit, pelikel akan terdeposit dengan bakteri karena glikoprotein adalah nutrisi bagi bakteri sehingga bakteri akan tumbuh dan berkembang membentuk koloni-koloni. Saat mikroorganisme berkembang biak dan melakukan sintesis polisakarida, bakteri-bakteri lain berikatan dengan mikroorganisme tersebut, bukan pada pelikel, sehingga menghasilkan kompleks biofilm dari

berbagai spesies berbeda. Perlekatan dari spesies yang berbeda ini memungkinkan untuk terjadinya berbagai interaksi sinergis maupun antagonis (Soames and Southam, 2005).

Jumlah mikroorganisme pada plak gigi adalah sekitar 4×10^8 /mg dan *Lactobacillus* ditemukan di plak gigi penderita karies sekitar 10^4 – 10^5 sel/mg plak. Spesies *Lactobacillus* yang umum dijumpai di rongga mulut adalah *Lactobacillus acidophilus* (Pintauli dan Hamada, 2008).

Lactobacillus acidophilus diyakini sebagai agen penyebab karies gigi karena bakteri ini terdapat pada sebagian besar lesi karies gigi dalam jumlah yang besar (banyak penelitian sekarang ini yang menunjukkan bahwa bakteri ini memiliki prevalensi tinggi pada karies akar gigi). Selain itu jumlah *Lactobacillus acidophilus* yang terdapat dalam plak dan saliva mempunyai hubungan dengan aktivitas karies, kemampuan *Lactobacillus acidophilus* untuk tumbuh dalam lingkungan pH rendah (di bawah pH 5) dan menghasilkan asam laktat (Samaranayake, 2006).

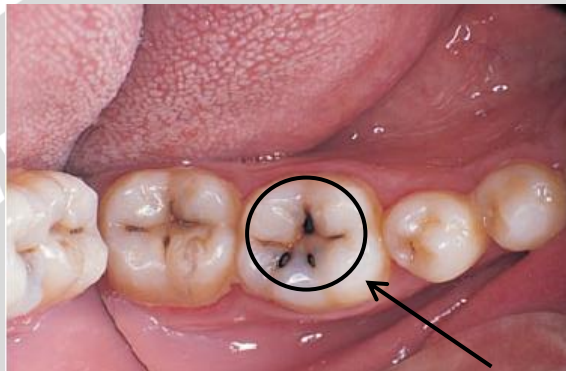
Penurunan pH yang berulang-ulang dalam waktu tertentu akan mengakibatkan demineralisasi permukaan gigi yang rentan dan proses karies pun dimulai (Kidd, 2005). *Lactobacillus acidophilus* juga memiliki kemampuan untuk mensintesis kedua polisakarida ekstraseluler dan intraseluler sehingga membentuk sukrosa dan kemampuan strain yang menyebabkan karies pada *gnatobiotic* (bebas kuman) tikus (Samaranayake, 2006).

2.3 Karies

2.3.1 Definisi

Karies merupakan suatu penyakit jaringan keras gigi, yaitu email, dentin, dan sementum, disebabkan oleh aktivitas suatu jasad renik dalam suatu

karbohidrat yang dapat diragikan. Tandanya adalah demineralisasi jaringan keras gigi yang kemudian diikuti oleh kerusakan bahan organiknya. Akibatnya, terjadi invasi bakteri dan kematian pulpa serta penyebaran infeksinya ke jaringan periapiks yang dapat menyebabkan nyeri. Walaupun demikian, mengingat mungkin terjadi remineralisasi, pada stadium yang sangat dini penyakit ini dapat dihentikan (Kidd dan Bechal, 2012).



Gambar 2.3 Karies Gigi (Kidd, 2005).

2.3.2 Etiologi

Ada tiga faktor utama yang memegang peranan dalam proses pembentukan karies yaitu faktor *host* atau tuan rumah, agen atau mikroorganisme, substrat atau diet, dan ditambah faktor waktu (Pintauli dan Hamada, 2008)

2.3.2.1 Faktor *Host* atau Tuan Rumah

Ada beberapa faktor *host* atau tuan rumah yang dapat mempengaruhi gigi untuk terjadinya karies, antara lain hiposaliva, enamel hipoplasia, perkembangan enamel yang tidak lengkap, morfologi gigi, faktor imunologi serta faktor genetik gigi seperti ukuran, permukaan, dan kedalaman *pit* dan *fisurre* (Vadiakas, 2008).

Pit dan *fisurre* gigi posterior sangat rentan terhadap karies karena sisa-sisa makanan mudah menumpuk di daerah tersebut terutama *pit* dan *fisurre* yang dalam (Pintauli dan Hamada, 2008). Selain itu, permukaan gigi yang

kasar juga dapat menyebabkan plak mudah melekat dan membantu perkembangan karies gigi (Samaranayake, 2006).

Peran saliva juga sangat menentukan kejadian karies gigi. Saliva banyak mengandung ion kalsium dan fosfat yang dapat menghambat pembentukan plak dan menetralkan asam dalam mulut, sehingga mampu remineralisasi karies sejak dini. Penurunan sekresi saliva seperti yang ditemukan pada penderita xerostomia dan aplasia kelenjar ludah dapat menyebabkan peningkatan aktivitas karies (Kidd dan Bechal, 2012; Neville *et al.*, 2002; Shah, 2007).

2.3.2.2 Faktor Agen atau Mikroorganisme

Plak merupakan lapisan lunak yang terdiri atas kumpulan mikroorganisme yang berkembang biak di atas suatu matriks yang terbentuk dan melekat erat pada permukaan gigi yang dibersihkan. Pada awal pembentukan plak, bakteri kokus gram positif seperti *Streptococcus* dan bakteri basil gram positif *Lactobacillus* banyak dijumpai. Pada penderita karies aktif, jumlah *Lactobacillus* pada plak gigi berkisar 10^4 - 10^5 sel/mg plak (Pintauli dan Hamada, 2008).

2.3.2.3 Faktor Substrat atau Diet

Faktor substrat atau diet dapat mempengaruhi pembentukan plak karena membantu perkembangbiakan dan kolonisasi mikroorganisme yang ada pada permukaan enamel. Selain itu, dapat mempengaruhi metabolisme bakteri dalam plak dengan menyediakan bahan-bahan yang diperlukan untuk memproduksi asam serta bahan lain yang aktif yang menyebabkan timbulnya karies. Penelitian menunjukkan bahwa orang yang mengkonsumsi karbohidrat terutama gula jenis sukrosa cenderung mengalami kerusakan pada gigi, sebaliknya pada orang dengan diet yang banyak mengandung lemak dan protein hanya sedikit atau sama sekali tidak mengalami karies gigi. Karbohidrat dapat membantu perlekatan plak dan merupakan sumber energi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan dan reproduksi bakteri-bakteri tersebut (Pintauli dan Hamada, 2008).

2.3.2.4 Faktor Waktu

Secara umum karies dianggap sebagai penyakit kronis pada manusia yang berkembang dalam waktu beberapa bulan atau tahun. Lamanya waktu yang dibutuhkan karies untuk berkembang menjadi suatu kavitas cukup bervariasi, diperkirakan 6-48 bulan (Pintauli dan Hamada, 2008).

2.3.3 Patogenesis Karies

Permukaan enamel yang bersih dalam beberapa detik ditutupi oleh lapisan molekul terabsorpsi yang terdiri dari glikoprotein dari saliva, dan pelikel yang menjadi tempat awal menempelnya mikroorganisme (Carranza, 2012). Setelah bakteri menempel pada permukaan gigi, mikroorganisme ini melakukan aktivitas dalam pembentukan polisakarida ekstraseluler dan intraseluler. Polisakarida intraseluler berfungsi sebagai penyedia nutrisi untuk organisme, dan terdegradasi untuk melepaskan energi dan asam organik. Mikrokoloni ini bersatu secara bertahap akibat dari adanya koagregasi yang kemudian menghasilkan tiga dimensi yang kompleks (Cowen *et al.*, 2000).

Biofilm yang dihasilkan disebut juga plak gigi, plak yang sudah matang memiliki jumlah dan keanekaragaman spesies yang bertambah. Tesktur yang dimiliki oleh plak tersebut menyebabkan bakteri lain dapat menempel pada plak dan dapat melakukan aktivitas yang dapat merusak struktur gigi (Samaranayake, 2006).

2.4 Uji Kepekaan Bakteri terhadap Antimikroba

Uji kepekaan antimikroba dapat dikerjakan dengan metode difusi cakram (*Disk Diffusion Test*), metode dilusi tabung (*Tube Dilution Test*), dan metode dilusi agar (*Agar Dilution Test*).

2.4.1 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. Tes ini dikerjakan dengan menggunakan cakram kertas saring yang mengandung bahan antimikroba yang telah ditentukan kadarnya. Cakram tersebut kemudian ditempatkan pada media padat yang telah diberi bakteri uji. Setelah diinkubasi, diameter area hambatan dihitung sebagai daya hambat obat terhadap bakteri uji (Jawetz *et al.*, 2005).

Area hambatan yang terbentuk ditunjukkan sebagai daerah yang tidak memperlihatkan adanya pertumbuhan bakteri di sekitar cakram kertas saring. Diameter zona hambat dipengaruhi oleh tingkat difusi agen antimikroba tersebut. Kadar agen yang diharapkan adalah yang dapat membentuk zona hambat dengan diameter ≥ 10 mm (Murray *et al.*, 1999).

Evaluasi dapat dilakukan dua cara seperti berikut ini :

a. Cara Kirby Bauer

Cara ini dilakukan dengan membandingkan diameter dari area jernih (zona hambatan) disekitar 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 (Murray *et al.*, 1999).

b. Cara Joan-Stokes

Cara ini dilakukan dengan membandingkan radius zona hambatan yang terjadi antara bakteri kontrol yang sudah diketahui kepekaannya terhadap obat tersebut dengan isolat bakteri yang diuji. Pada cara Joan-Stokes, prosedur uji kepekaan untuk bakteri kontrol dan bakteri uji dilakukan

bersama-sama dalam satu piring agar (Dzen *dkk.*, 2003). Kriterianya adalah:

- Sensitif: yaitu radius zona inhibisi kuman tes lebih luas, sama dengan atau lebih kecil tetapi tidak lebih dari 3 mm terhadap kontrol.
- Intermediet: yaitu radius zona inhibisi kuman tes lebih besar dari 3 mm, tetapi dibanding kontrol lebih kecil lebih dari 3 mm.
- Resisten: yaitu radius zona inhibisi kurang atau sama dengan 3 mm (Dzen *dkk.*, 2003).

2.4.2 Metode Dilusi Tabung (*Tube Dilution Test*)

Metode 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* (Dzen *dkk.*, 2003). Prinsip metode dilusi adalah menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi media cair dan sejumlah tertentu sel mikroba yang diuji. Kemudian, masing-masing tabung diisi dengan bahan 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 bahan pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan mikroba) adalah KHM dari bahan uji. Kemudian, biakan dari semua tabung yang jernih diinokulasikan pada media agar padat, diinkubasikan dan keesokan harinya diamati ada tidaknya koloni mikroba yang tumbuh. Konsentrasi terendah obat pada biakan padat yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni mikroba adalah KBM dari bahan terhadap bakteri uji (Madigan, 2003).

2.4.3 Metode Dilusi Agar (*Agar Dilution Test*)

Metode dilusi agar (*agar dilution test*) merupakan metode lain untuk menilai Kadar Hambat Minimal (KHM) namun Kadar Bunuh minimal (KBM) tidak dapat dilihat pada metode ini. Metode ini serupa dengan dilusi tabung namun perbedaannya pada media yaitu dengan media padat. Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antibakteri. Pada dilusi agar tiap konsentrasi antibakteri dicampur dengan media agar, lalu ditanami suspensi bakteri. Kadar terkecil dari enceran ekstrak yang tidak menunjukkan pertumbuhan koloni adalah sebagai Kadar Hambat Minimum (KHM). Keuntungan metode ini satu konsentrasi agen bakteri dapat digunakan untuk beberapa bakteri uji (Anesty, 2014).

