

## BAB 2

## TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Lobak (*Raphanus sativus* L.)

## 2.1.1 Taksonomi

Taksonomi lobak adalah sebagai berikut :

Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Ordo	: Brassicales
Famili	: Brassicaceae
Genus	: <i>Raphanus</i>
Spesies	: <i>Raphanus sativus</i> L.



Gambar 2.1. Lobak (*Raphanus sativus* L.) (Schippers, 2004).

### 2.1.2 Nama Lokal

Lobak (Sunda), lobak (Jawa), sing li mei atau cina uobo/daikon (China), radish (Inggris). (Nirmala, 2004).

### 2.1.3 Morfologi

Lobak memiliki bunga majemuk tak terbatas berbentuk tandan, bunga mekar berturut-turut dari bawah ke atas. Panjang tangkai bunga 0,75-2 cm sedangkan umbi kelopak berbentuk panjang linear dengan panjang 6-10 mm. Mahkota bunga berwarna ungu, kadang putih dan terdapat urat-urat yang berwarna hijau, ukuran panjang mahkotanya 0,75-1,75 cm. Buah polong yang dihasilkan tebal, berambut dan menghasilkan 2-5 biji. Batangnya berongga di tengah sedangkan umbinya sedikit berambut kasar, gundul atau hampir gundul dengan panjang umbi 5-30 cm dan pangkal akarnya tumbuh tegak ke bawah. Tanaman lobak tumbuh di Jawa di dataran tinggi, dataran rendah, tempat yang cukup air dan di pematang sawah (Backer dan Bakhuizen v.d Brink, 1968).

Di Jawa terdapat 3 jenis varietas lobak yaitu var. hortensis Back., var. niger Willd. dan var. radicula Pers. Lobak varietas hortensis Back. merupakan lobak yang sering ditanam, umbinya berwarna putih berbentuk silindris dan memanjang. Varietas niger Willd. berbentuk bulat besar, berwarna hitam atau abu-abu sedangkan untuk varietas radicula Pers. merupakan varietas yang jarang ditanam memiliki bentuk bulat, elips atau kadang silindris berwarna merah, putih, merah dan putih atau ungu (Backer dan Bakhuizen v.d Brink, 1968).

#### 2.1.4 Manfaat Umbi Lobak

Umbi Lobak dapat digunakan untuk menangkal batuk, demam, peluruh dahak/ lendir yang menyumbat hidung dan tenggorokan. Umbi lobak yang direbus airnya diminum dapat meredakan masalah pencernaan. Air perasan umbi lobak yang diparut dan dicampur madu dapat digunakan untuk mencegah flu. Vitamin C dalam umbi lobak merupakan antioksidan dan anti peradangan. Umbi lobak juga mempunyai khasiat yang penting bagi tubuh guna memperbaiki jaringan agar tetap berfungsi dengan baik. Umbi lobak mempunyai kegunaan sebagai herba kecantikan yang dapat mengobati penyakit kulit kering, berjerawat dan sensitif. Kaum wanita disarankan memakan umbi lobak karena kandungan betakarotin dan vitamin A dapat menyeimbangkan peredaran darah dan mengurangi bau tidak sedap ketika haid. Manfaat lain dari lobak adalah untuk mengobati gondokan, batuk, TBC, paru-paru, mencegah kanker, bisul dan eksim (Kumalaningsih, 2008). Senyawa yang terkandung dalam umbi lobak memiliki sifat bakterisida, bakterisida, nematicidal dan sifat allelopati, dan baru-baru ini menarik perhatian karena chemoprotective mereka melawan kanker (Schipper, 2004).

#### 2.1.5 Kandungan Umbi Lobak

Umbi lobak merupakan salah satu sayuran yang dapat juga dimanfaatkan sebagai obat tradisional karena mengandung berbagai khasiat dan manfaat. Umbi lobak mengandung saponin, flavonoid dan polifenol. Umbi lobak mengandung 87% kandungan air, kaya dengan mineral, vitamin A, B, C, D, E, minyak atsiri, kolin, serat kasar, kalsium, fosfor, zat besi, asam oksalat karbohidrat serta bebas dari kandungan lemak dan kolestrol. Bijinya mengandung 30-40% minyak lemak

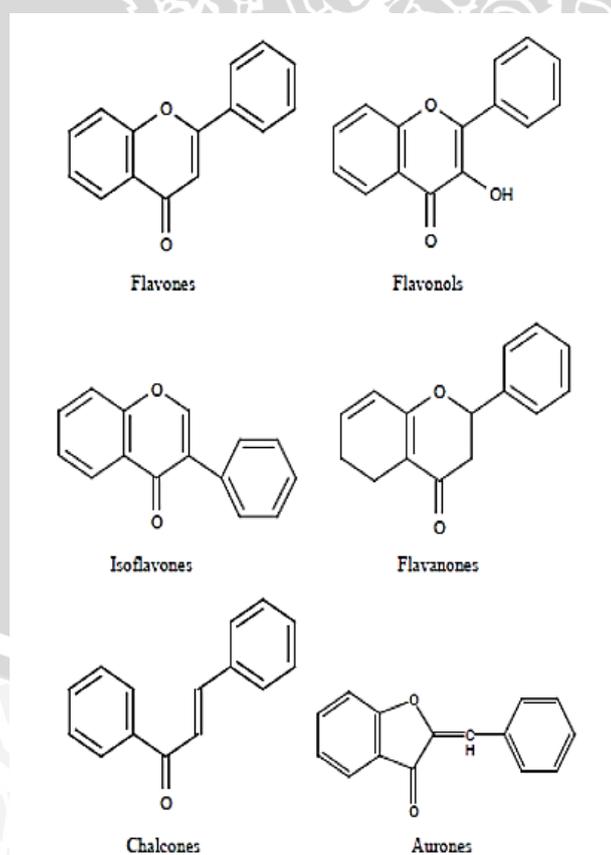
dan minyak atsiri. Dalam umbi lobak juga terkandung senyawa *allyl isothiocyanates* dan *glucosinolate* (Mursito, 2007; Schipper, 2004).

Saponin dapat menyebabkan destruksi membran. Saponin adalah senyawa aktif yang kuat dan menimbulkan busa jika digosok dalam air sehingga bersifat seperti sabun (Robinson, 1995) dan mempunyai kemampuan antibakterial (Ilmi, 1995). Saponin dapat meningkatkan permeabilitas membran sel bakteri sehingga dapat mengubah struktur dan fungsi membran, menyebabkan denaturasi protein membran sehingga membran sel akan rusak dan lisis (Siswandono dan Soekarjo, 1995). Saponin memiliki aktivitas antibakteri dan antibakterial berspektrum luas. Gugus lipofilik pada saponin dapat merusak membran sel (Cowan, 1999).

Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenol yang terbanyak ditemukan di alam. Senyawa ini umumnya ditemukan pada tumbuhan yang berwarna merah, ungu, biru, atau kuning (Lenny, 2006). Keberadaannya dalam umbi dipengaruhi oleh adanya proses fotosintesis sehingga umbi muda umumnya belum terlalu banyak mengandung flavonoid (Harborne, 1987). Sebagian besar senyawa flavonoid di alam ditemukan dalam bentuk glikosid. Glikosida adalah kombinasi antara suatu gula dan suatu alkohol yang saling berikatan melalui ikatan glikosida. Gula yang terikat pada flavonoid cenderung menyebabkan flavonoid akan larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetilsulfoksida, dimetilformamida, dan air (Lenny, 2006). Aglikon yang kurang polar seperti isoflavan, flavanon, dan flavon serta flavonol yang termetoksilasi cenderung lebih mudah larut dalam pelarut seperti eter dan kloroform (Harborne, 1987). Flavonoid merupakan deretan senyawa C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C<sub>6</sub> (cincin benzena) yang dihubungkan oleh

rantai alifatik tiga karbon. Kelas yang berlainan dalam golongan flavonoid dibedakan berdasarkan cincin heterosiklik-oksigen tambahan dan gugus hidroksil yang tersebar menurut pola yang berlainan. Berdasarkan penambahan rantai oksigen dan perbedaan distribusi dari gugus hidroksilnya flavonoid digolongkan menjadi enam jenis, yaitu flavon, isoflavon, flavonol, flavanon, kalkon, dan auron (Grotewold, 2005).

Flavonoid berfungsi sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran sel bakteri. Flavonoid merupakan senyawa fenol, sementara senyawa fenol dapat bersifat koagulator protein (Dwidjoseputro, 1994).



Gambar 2.2. Jenis-Jenis Flavonoid.

Senyawa-senyawa polifenol secara umum berkhasiat sebagai antibakteri dan antioksidan. Senyawa-senyawa polifenol mengandung gugus hidroksil yang dapat bertindak sebagai donor hidrogen terhadap radikal bebas. Selain itu, senyawa-senyawa polifenol juga dapat membunuh bakteri dan bakteri dengan cara denaturasi protein dan pengurangan tegangan permukaan sehingga meningkatkan permeabilitas dinding sel bakteri (Silalahi, 2006).

*Allyl Isothiocyanates* adalah senyawa yang berasal dari *allyl glucosinolates*, sekelompok glikosida yang disimpan di dalam vakuola sel dari tanaman family *Brassicaceae*. *Isothiocyanates* memberi efek baik microstatik maupun mikrobisida. Aktivitas antimikroba *Isothiocyanates* dihasilkan dari inaktivasi enzim intraseluler bakteri melalui pembelahan oksidatif disulfida (Delaquis, 1995).

*Allyl Isothiocyanates* merupakan senyawa tidak berwarna dan mudah menguap. Sebagian besar senyawa ini membawa bau yang kuat dan khas untuk tanaman seperti mustard, lobak dan wasabi. *Allyl Isothiocyanates* sedikit larut dalam air, tetapi juga larut dalam sebagian besar pelarut organik. *Allyl Isothiocyanates* merupakan agen antimikroba yang efektif untuk menghambat pertumbuhan mikroorganismenya. (Luciano, 2009)

Kemampuan antijamur dan antibakteri dari *Allyl Isothiocyanates* terbukti oleh banyak penelitian. *Allyl Isothiocyanates* diakui sebagai inhibitor sulfhidril, yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganismenya melalui pembelahan oksidatif disulfida untuk menonaktifkan enzim intraseluler bakteri dan menghambat penyerapan oksigen untuk jamur. (Luciano, 2009)

Telah dilakukan penelitian tentang pengaruh metode isolasi kadar dan jumlah minyak atsiri. Rendaman minyak atsiri yang diperoleh dengan metode peras tanpa perendaman adalah 0,27 mg%, sedangkan metode peras dengan

perendaman adalah 0,39 mg%, dan dengan metode destilasi uap air 2,04 mg%. Dan hasil kromatografi gas diketahui bahwa minyak atsiri yang diisolasi dengan metode peras tanpa perendaman terdiri dari 20 komponen, sedangkan metode peras dengan perendaman terdiri dari 22 komponen, dan metode destilasi uap terdiri dari 18 komponen (DepKes RI, 2000).

Minyak atsiri mengandung campuran senyawa kimia yang sangat kompleks. Beberapa tipe senyawa organik terkandung dalam minyak atsiri, seperti hidrokarbon (kelompok seskuiterpen dan diterpen), alkohol (lavandulol, linalool, guaiol, menthol, bomeol, dan lain-lain), keton (menthon, carvon, pulegon, germacron, thujon), fenol (carvacrol, thymol, chavicol), ester (benzil asetat), aldehid (citronellal, geranial, neral dan cuminal) dan lakton (kumarin dan furokumarin) yang tidak terhitung jumlahnya (Ellyana, 2008).

Komponen kimia minyak atsiri sangat kompleks yang menentukan aroma khas dari suatu minyak atsiri walau komponen kimia dengan persentase tinggi memberi pengaruh yang dominan. Kehilangan satu komponen kimia yang persentasenya kecil dapat memungkinkan terjadinya perubahan aroma pada buah atau sayur (Ellyana, 2008).

Berbagai jenis komponen kimia menentukan bau, aroma, dan efek terapi dari suatu minyak atsiri, maka klasifikasi kimia minyak atsiri harus didasarkan komponen kimia yang pada prinsipnya menentukan sifat minyak tersebut. Saat ini para ahli masih berpendapat, kemampuan minyak atsiri sebagai obat justru karena keragaman senyawa-senyawa tersebut. Bahkan dikatakan kehilangan satu jenis komponen dapat menghilangkan efektivitasnya (Ellyana, 2008).

Minyak atsiri dapat digunakan sebagai aromaterapi dalam bentuk tunggal, banyak contoh untuk ini, seperti peppermint untuk gangguan pencernaan, lavender

untuk sakit kepala, insomnia, luka bakar, dan pegal-pegal, cengkih untuk sakit gigi, cendana untuk depresi dan kecemasan. (Ellyana, 2008).

Alkohol yang terdapat sebagai salah satu komponen minyak atsiri efektif membunuh bakteri, bakteri, dan virus berkapsul. Mekanisme kerjanya merusak membran plasma, denaturasi protein dan melarutkan komponen virus berkapsul (Dzen et al., 2003).

## 2.2 *Streptococcus mutans*

### 2.2.1 Klasifikasi

*Streptococcus mutans* memiliki klasifikasi sebagai berikut:

Nama Binomial : *Streptococcus mutans*

Kingdom : *monera*

Divisio : *firmicutes*

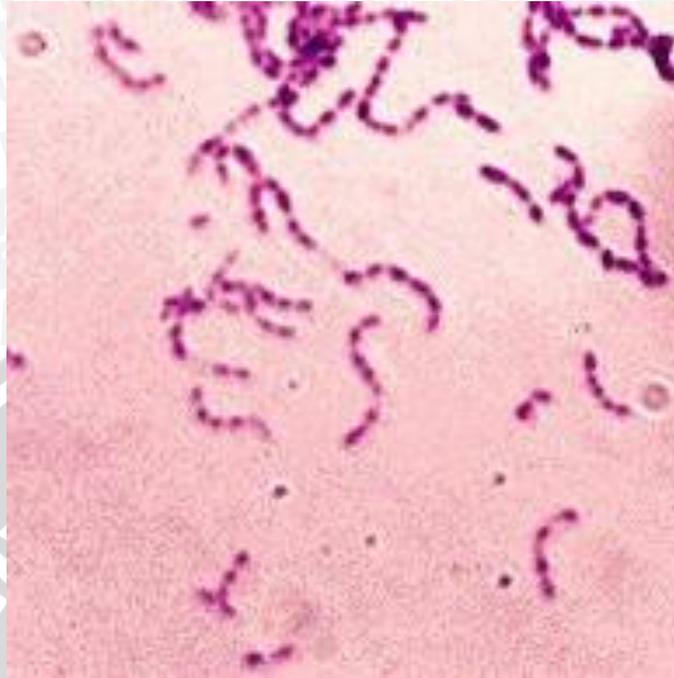
Class : *bacilli*

Order : *lactobacillales*

Family : *streptococcaceae*

Genus : *Streptococcus*

Species : *Streptococcus mutans*



Gambar 2.3. *Streptococcus mutans*. Gram stain (textbookofbacteriology.net).

Ada tujuh spesies *Streptococcus mutans* yang berbeda pada manusia dan hewan dan delapan serotip yang diakui, berdasarkan sifat antigenik dari dinding sel karbohidratnya. *Streptococcus mutans* yang terdapat pada manusia terbatas pada tiga serotipe (c, e dan f) (Samarayanake, 2002).

Serotipe	Nama Spesies	Hospes
c, e, f	<i>Streptococcus mutans</i>	Manusia
B	<i>Streptococcus ratus</i>	Tikus
A	<i>Streptococcus cricetus</i>	Hamster dan manusia
d, g	<i>Streptococcus sobrinus</i>	Manusia
C	<i>Streptococcus ferus</i>	Tikus liar
E	<i>Streptococcus downei</i>	Monyet berekor pendek
H	<i>Streptococcus macacae</i>	Monyet berekor pendek

Gambar 2.5. Subdivisi *Streptococcus mutans* (George, 1978).

### 2.2.2 Morfologi

*Streptococcus mutans* merupakan bakteri gram positif, bakteri anaerob fakultatif karena dapat tumbuh dengan atau tanpa adanya oksigen. Biasanya pertumbuhan optimal terjadi pada keadaan anaerob yang mengandung gas nitrogen, 5% CO<sub>2</sub>. Memiliki bentuk kokus yang sendirian berbentuk bulat atau bulat telur dan tersusun dalam rantai. Bakteri ini tumbuh secara optimal pada suhu sekitar 37° C. *Streptococcus mutans* biasanya ditemukan pada rongga mulut manusia dan menjadi bakteri yang paling kondusif menyebabkan karies untuk email gigi. Berwarna opak, berdiameter 0,5-1 mm, permukaannya kasar (hanya 7% yang licin dan bersifat mukoid). Beberapa koloni *Streptococcus mutans* menunjukkan hemolisis pada media agar darah. Keadaan ini disebabkan karena bakteri ini membuat hemolisin yang menyebabkan pemecahan eritrosit disekitar koloni (Devijanti, 2005).

Mikroba ini pertama kali ditemukan oleh Clarke pada tahun 1924. Clarke (1924) memberi nama *Streptococcus* karena morfologinya yang bervariasi. Nama *mutans* adalah hasil dari transisi dari bentuk kokus ke kokobasil. Sehingga *Streptococcus mutans* merupakan kumpulan dari sel-sel berbentuk bulat atau oval yang tersusun seperti rantai atau berpasang-pasangan (Handaya, 2008)

### 2.2.3 Sifat

*Streptococcus mutans* bersifat nonmotil (tidak bergerak). Selain itu juga bersifat asidogenik yaitu menghasilkan asam, asidodurik, mampu tinggal pada lingkungan asam, dan menghasilkan suatu polisakarida yang lengket disebut dextran. Oleh karena kemampuan ini, *Streptococcus mutans* bisa menyebabkan lengket dan mendukung bakteri lain menuju ke email gigi, lengket mendukung

bakteri-bakteri lain, pertumbuhan bakteri asidurik yang lainnya, dan asam melarutkan email gigi (Nugraha, 2008).

#### 2.2.4 *Streptococcus mutans* sebagai Penyebab Karies

Penyakit yang disebabkan *Streptococcus mutans* adalah karies gigi, beberapa hal yang menyebabkan karies gigi bertambah parah adalah seperti gula, air liur, dan juga bakteri pembusuknya. Setelah memakan sesuatu yang mengandung gula, terutama adalah sukrosa, dan bahkan setelah beberapa menit Penyikatan gigi dilakukan, glikoprotein yang lengket (kombinasi molekul protein dan karbohidrat) bertahan pada gigi untuk mulai pembentukan plak pada gigi. Pada waktu yang bersamaan berjuta-juta bakteri yang dikenal sebagai *Streptococcus mutans* juga bertahan pada glikoprotein itu. Walaupun, banyak bakteri lain yang juga melekat, hanya *Streptococcus mutans* yang dapat menyebabkan rongga atau lubang pada gigi. Pada penderita karies aktif jumlah laktobasilus pada plak gigi berkisar 10<sup>4</sup>-10<sup>5</sup> set/mg plak. Walaupun demikian, *Streptococcus mutans* yang diakui sebagai penyebab utama karies karena *Streptococcus mutans* mempunyai sifat *asidogenik* dan *asidurik* (Pintauli dan Taizo, 2008).

#### 2.2.5 Protein Permukaan dan Enzim *Streptococcus mutans*

Proses karies gigi diawali dengan interaksi antara komponen saliva dengan protein permukaan sel bakteri, salah satunya *Streptococcus mutans*. Protein permukaan *Streptococcus mutans* yang sering dilaporkan berperan dalam proses karies gigi adalah Glucan binding protein (Gbp) dan antigen 1/11 (Ag1/11) (Gani, 2006).

*Streptococcus mutans* mempunyai 2 enzim yaitu fruktosiltransferase (FTF) dan glukosiltransferase (GTF) yang terdapat pada permukaan dinding selnya. Glukosiltransferase akan mengubah sukrosa polisakarida ekstraselular bentuk glukosa  $\alpha$ -1,3 yang berupa serat matrik plak. Sedangkan fruktosiltransferase akan mengubah sukrosa menjadi levan yang merupakan sumber energi dari *Streptococcus mutans* setelah diglikolisis (Kanzil, 2002).

### 2.2.6 Metabolisme *Streptococcus mutans*

Secara umum *Streptococcus mutans* dikenal karena kemampuannya untuk mensintesa polisakarida ekstraselular dari sukrosa, mengalami agregasi sel ke sel ketika bercampur dengan sukrosa atau dekstran, dapat berkembang dalam lingkungan yang mengandung antibiotik sulfadimetin dan bakitrasin (Calvin, 2008).

Sedangkan secara khusus, mempunyai sifat dapat bertahan hidup dalam lingkungan yang bersifat asam (asidurik) dan dapat menghasilkan asam (asidogenik). Bakteri ini memanfaatkan enzim glycosiltransferase (GTF) dan fruktosiltransferase (FTF) yang terdapat di atas permukaannya, berfungsi untuk mengubah sukrosa menjadi dekstran (glukosa) dan fruktan (levan) sehingga dapat mensintesa molekul glukosa yang memiliki berat molekul yang tinggi yang terdiri dari ikatan glukosa  $\alpha$ (1-6) dan  $\alpha$ (1-3). Pembentukan  $\alpha$ (1-3) ini sangat lengket, sehingga tidak larut dalam air. Pematangan plak baru terjadi bila terbentuk polisakarida ekstra seluler berupa matriks yang akan melekatkan plak pada gigi. Jenis bakteri yang mempunyai kemampuan paling besar untuk membentuk polisakarida ekstra seluler adalah *Streptococcus mutans*. Hal itu disebabkan

enzim tersebut dimanfaatkan oleh bakteri *Streptococcus mutans* untuk berkembang dan membentuk plak pada gigi (Kanzil, 2002).

Sukrosa adalah satu-satunya jenis gula yang dimanfaatkan *Streptococcus mutans* untuk membentuk pelikel. Sebaliknya banyak jenis gula, seperti glukosa, fruktosa, laktosa dan sukrosa dapat dicerna untuk menghasilkan asam laktat sebagai produk akhir (Samarayanake, 2006).

Enzim yang sama melanjutkan untuk menambahkan banyak molekul glukosa ke satu sama lain untuk membentuk dextran yang mana memiliki struktur sangat mirip dengan amylose dalam tajin. Dextran bersama dengan bakteri melekat dengan erat pada gigi enamel dan menuju ke pembentukan plak pada gigi (Nugraha, 2008). Melalui pelikel ini *Streptococcus mutans* akan membuat kolonisasi di permukaan gigi serta membentuk lapisan dasar untuk formasi kompleks biofilm, yang dikenal sebagai plak gigi (Loesche, 1996).

Pada langkah selanjutnya, bakteri menggunakan fruktosa dalam suatu metabolisme glikolisis untuk memperoleh energi. Hasil akhir dari glikolisis di bawah kondisi-kondisi anaerob adalah asam laktat. Asam laktat ini menciptakan kadar keasaman yang ekstra untuk menurunkan pH yang sejumlah tertentu menghancurkan zat kapur fosfat di dalam email gigi mendorong ke arah pembentukan suatu rongga atau lubang (Handaya, 2008).

Kedua hal yaitu membentuk lapisan dasar kompleks biofilm yang disebut plak gigi dan hasil akhir glikolisis di bawah kondisi anaerob yang membentuk asam laktat yang akan mengarah ke pembentukan karies gigi (Handaya, 2008).

### 2.2.7 Antigen dan Dinding Sel

Dinding sel dari bakteri *Streptococcus mutans* merupakan salah satu faktor terjadinya perlekatan bakteri pada lapisan pelikel yang dihasilkan saliva pada gigi. Protein dinding sel bakteri *Streptococcus mutans* tersusun atas 3 molekul utama yaitu dengan berat molekul 185, 59, 29 kDa. Protein 185 kDa mempunyai fungsi perlekatan pada sel inang, protein 59 kDa berfungsi dalam inisiasi kolonisasi pada *Streptococcus mutans*, sedangkan protein 29 kDa berfungsi dalam mendukung fungsi agregasi (Kriswandini, 2000).

### 2.2.8 Sifat Pertumbuhan *Streptococcus mutans* pada Media Padat

Beberapa koloni Streptococci mulut menunjukkan hemolisis a pada media agar darah. Keadaan ini disebabkan karena bakteri ini membuat hemolisin yang menyebabkan pemecahan eritrosit di sekitar koloni.

*Streptococcus* rongga mulut bersifat fakultatif anaerob, karena dapat tumbuh dengan atau tanpa adanya oksigen. Tetapi biasanya pertumbuhan optimal terjadi pada keadaan anaerob yang mengandung gas Nitrogen, 5% CO<sub>2</sub>. *Streptococcus* ini akan tumbuh dengan baik pada suhu optimal yaitu 37°C (White, 1991). Beberapa media untuk menumbuhkan *Streptococcus mutans*, diantaranya:

- a. Medium yang mengandung Bacitracin dan 20% sukrosa (Soerodjo 1989).
- b. TYC (Medium Trypton Yeast Cystine) yang terutama menumbuhkan bakteri pembentuk dekstran dalam plak (Soerodjo, 1989).
- c. Agar Mitis Salivarius digunakan untuk menumbuhkan Streptococci sehubungan dengan karies dan yang penghitungannya dibandingkan dengan lain Streptococci dalam plak gigi (Soerodjo, 1989).

Pembenihan media kultur bakteri dilakukan dengan cara memasukkan koloni dari *Streptococcus mutans* yang sudah dipilih ke dalam tabung berisi cairan Brain Heart infusio Broth (BHIB) lalu direndam di dalam *anaerobic jar* selama 3x24 jam pada suhu 37°C (Handaya, 2008).

### 2.2.9 Tes sensitivitas

Berdasarkan Dzen dkk. (2003) tes sensitivitas terhadap bakteri bisa dilakukan dengan 2 metode yaitu metode dilusi dan metode difusi cakram.

#### 2.1.9.1 Tes sensitivitas dengan Metode Dilusi

Cara ini digunakan untuk menentukan KHM dan KBM dari obat antimikroba. Prinsip dari metode dilusi adalah dengan menggunakan satu tabung reaksi yang diisi media cair dan sejumlah tertentu sel mikroba yang diuji. Kemudian masing-masing tabung diisi dengan obat yang telah diencerkan secara serial. Selanjutnya, seri tabung diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18- 24 jam dan diannati terjadinya kekeruhan pada tabung. Konsentrasi terendah obat pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan mikroba) adalah KHM dari obat. Selanjutnya biakan dari semua tabung yang jernih diinokulasikan pada media agar padat, diinkubasikan dan keesokan harinya diamati ada dan tidaknya koloni mikroba yang tumbuh. Konsentrasi terendah obat pada biakan padat ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni mikroba adalah KBM dari obat terhadap bakteri uji. Untuk menentukan KHM obat, dapat juga dengan cara menggunakan medium agar padat yang disebut dengan metode E test (Dzen dkk, 2003).

### 2.1.9.2 Tes sensitivitas dengan Metode Difusi Cakram

Obat dijenuhkan ke dalam kertas saring (cakram kertas). Cakram kertas 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 disekitar cakram kertas 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:

- a. Cara Kirby Bauer, yaitu dengan cara membandingkan diameter dari area jernih (zona hambatan) disekitar cakram dengan tabel standar yang dibuat NCCLS (National Commitee foe Clinical Laboratiry Standard). Dengan tabel NLSS ini dapat diketahui kriteria sensitif, sensitif intermediet dan resistan.
- b. Cara Joan-Stokes, yaitu dengan cara membandingkan radius zona hambatan yang terjadi antara bakteri kontrol yang sudah diketahui kepekaanya terhadap obat tersebut dengan isolat bakteri yang diuji. Pada cara Joan-Stroke, 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. Resistan: yaitu radius zona inhibisi kurang atau Sama dengan 3 mm (Dzen dkk, 2003).