BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Staphylococcus aureus

Klasifikasi bakteri S. aureus adalah: (Baron, 1996)

Kingdom : Bacteria

Phylum : Firnicutes

Class : Bacili

Ordo : Lactobaciles

Family : Staphylococceae

Genus : Staphylococcus

Spesies : Staphylococcus aureus

S. aureus merupakan bakteri Gram positif dari genus Staphylococcus. Organisme ini pertama kali dikenalkan oleh Pasteur (1880) dan Ogsten (1880). Dalam genus Staphylococcus terdapat dua macam spesies selain S. aureus, yaitu S. epidermidis dan S. saprophyticus (Dzen et.al., 2003).

BRAWINAL

S. aureus berbentuk bulat atau kokus dengan diameter 0,4-1,2 μm. Seperti golongan Staphylococcus pada umumnya, bakteri ini membentuk koloni yang bergerombol menyerupai buah anggur, bersifat aerob atau anaerob fakultatif, tes katalase positif dan tahan hidup pada lingkungan yang mengandung garam konsentrasi tinggi, misalnya NaCl 10% (Dzen et al., 2003).

S. aureus dapat memfermentasikan manitol, sementara S. epidermidis dan S. saprophyticus tidak. Untuk mengetahui sifat

fermentasinya digunakan *Manitol Salt Agar* (MSA) dan akan terlihat pembentukan koloni berwarna kuning di sekitar koloninya (Dzen *et al.*, 2003).

- S. aureus merupakan flora normal pada tubuh manusia, terutama pada saluran nafas dan kulit terutama pada ketiak. Meskipun merupakan flora normal, S. aureus juga bisa bersifat patogen pada kondisi tertentu. Manifestasi dari infeksi S. aureus adalah timbulnya lesi pada bagian atas kulit dan terbentuk abses, infeksi pada bagian dalam kulit seperti bisul (furunkel) dan karbunkel, infeksi nosokomial pada penggunaan alat bedah atau alat-alat intubasi, bersifat toksik pada makanan dengan mengeluarkan endotoksin, dan menyebabkan sindroma toksik shock dengan melepaskan superantigen pada aliran darah (Ibler, 2014).
- S. aureus menghasilkan 7 tipe enterotoksin yaitu A, B, C1, C2, D, dan E. Faktor virulensi S. aureus yang dapat mengakibatkan infeksi meliputi: (Dwi, 2013)
- 1) Protein permukaan yang mengaktifkan kolonisasi dalam jaringan hospes (protein A, adhesion, hemaglutinin, glikoprotein, fibrionektin)
- Invasin membantu bakteri menyebar dalam jaringan (*leukocidine*, kinase, *hyarulodinase*)
- 3) Faktor permukaan yang menghalangi fagositosis (kapsul, protein A)
- Faktor biokimia yang meningkatkan ketahanan bakteri didalam fagosit (carotenoid, produksi katalase)
- 5) Reaksi imunologis (protein A, coagulase, clotting factor)
- 6) Toksin perusak membrane (hemolysin, leukotoxin, leucocydine)
- 7) Eksotoksin dalam jaringan yang menimbulkan kerusakan dan gejala penyakit

Proses infeksi bakteri *S. aureus* dipengaruhi oleh beberapa faktor resiko diantaranya menurunya perlindungan kulit akibat adanya goresan atau luka terbuka, penyakit kronis yang menurunkan daya tahan tubuh seperti diabetes mellitus dan infeksi virus HIV/AIDS atau juga penggunaan obat-obat yang bersifat imunosupresi seperti kortikosteroid atau obat-obatan anti kanker. Permasalahan lain dari bakteri ini adalah banyak dilaporkan kasus resistensi terutama pada antibiotik jenis β-lactam (Chambers, 2010).

2.2 Identifikasi Bakteri

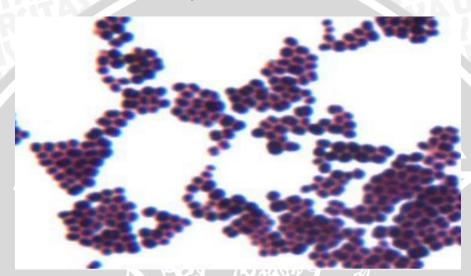
Terdapat 4 macam metode identifikasi *S. aureus* yang biasa digunakan, yaitu pewarnaan Gram, uji koagulase, uji katalase, uji *Mannitol Salt Agar* (MSA). (Dewi, 2013).

2.2.1 Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram bertujuan untuk mengamati morfologi sel Staphylococcus dan mengetahui kemurnian sel bakteri. Prinsip dari pewarnaan ini adalah bakteri Gram positif akan mempertahankan warna Gentian Violet sehingga berwarna ungu dan Gram negatif akan menyerap fuchsin setelahh dilakukan pencucian dengan alkohol 96% sehingga berwarna merah. Perbedaan ini terkait dengan struktur tubuh bakteri Gram positif dan negatif yang berbeda satu sama lain. Gram positif tersusun dari peptidoglikan yang dapat mengikat zat warna dan tidak tercuci dengan alkohol, sementara Gram negatif terdiri dari lapisan lipid yang kurang dapat mengikat warna sehingga dapat tercucikan dengan alkohol.

Prosedur pewarnaan Gram dimulai dengan mengambil koloni bakteri menggunakan ose, lalu disuspensikan dengan akuades dalam objek gelas steril kemudian direndam dengan gentian violet, lugol, alkohol absolut, dan safranin lalu dicuci dengan air mengalir dan diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000x (Dewi, 2013).

Bakteri S. aureus merupakan jenis bakteri Gram positif sehingga setelah dilakukan pewarnaan Gram akan diperoleh hasil berwarna ungu seperti pada Gambar 2.1 (Makghoto, 2009).



Gambar 2.1 Gram Positif S. aureus, perbesaran 1000x (Makgotlho, 2009)

2.2.2 Uji Koagulase

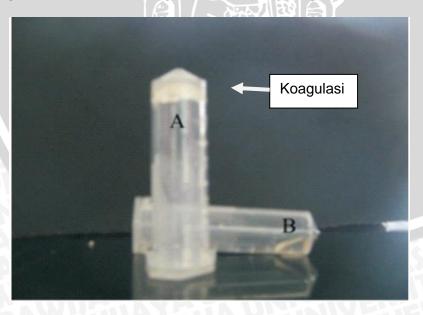
Terdapat dua macam cara uji koagulase yaitu uji koagulase slide dan uji koagulase tabung.

Uji koagulase slide dilakukan dengan cara meletakkan akuades steril diatas kaca benda lalu disuspensikan dengan biakan S. aureus kemudian setetes plasma diletakkan dekat suspensi dan dicampurkan lalu digoyanggoyang. Hasil positif berupa adanya presipitat granuler setelah 2-3 menit seperti pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Hasil uji Koagulase slide S. aureus (Dewi, 2013)

Uji koagulase tabung digunakan untuk mengetahui adanya koagulase bebas dengan cara 200 µl plasma dimasukan secara aseptis didalam tabung reaksi, lalu 3-4 koloni bakteri dimasukan dalam tabung dan diaduk secara perlahan dan diinkubasi pada suhu 37° C. Kemudian diamati setelahh 4 jam pertama dan 18-24 jam berikutnya. Reaksi positif ditandai dengan adanya koagulasi pada dasar tabung seperti terlihat pada gambar 2.3.



Gambar 2.3 Hasil Uji Koagulase tabung *S. aureus* (A) positif (B) negatif (Dewi, 2013)

2.2.3 Uji Katalase

Uji katalase dilakukan untuk membedakan antara *Staphylococcus* dan *Streptococcus* yaitu *Staphylococcus* bersifat katalase positif. Caranya adalah katalase dengan meneteskan hidrogen peroksida (H₂O₂) 3% pada gelas obyek lalu biakan *S. aureus* dioleskan pada gelas obyek kemudian suspensi diaduk secara perlahan, reaksi positif ditandai dengan timbulnya gelembung-gelembung udara (Dewi, 2013).

2.2.4 Uji Manitol Salt Agar (MSA)

Manitol Salt Agar merupakan media selektif dan media diferensial. Caranya adalah dengan mengoleskan biakan di atas MSA dan diinkubasi pada suhu 37° selama 24 jam. Hasilnya, *S. aureus* pada MSA akan berwarna putih kekuningan dan dikelilingi zona kuning karena kemampuan *S. aureus* dalam memfermentasi manitol. Bakteri yang tidak mampu memfermentasi manitol tampak zonanya akan berwarna merah atau merah muda (Dewi, 2013).

2.3 Bisul/furunkel

Bisul terjadi akibat infeksi bakteri *S. aureus* yang menyerang bagian bawah kulit melalui luka atau goresan, kemudian direspon oleh sistem pertahan tubuh kemudian mengalami inflamasi dan terbentuklah benjolan berisi pus yang membesar dan kemudian pecah setelah beberapa hari (Dunphy *et al.*, 2011). Munculnya bisul ditandai dengan peradangan pada kulit yang menyebabkan kulit memerah, membengkak, dan terdapat bintil putih yang berisi nanah serta menyebabkan rasa nyeri dan tidak nyaman disekitar bisul (Ibler, 2014).

Penyebab lain dari bisul adalah adanya infeksi dari bakteri Klebsiella, Enterobacter, dan bakteri Gram negatif lain akibat penggunaan antibiotik jerawat dalam jangka panjang, juga bakteri *Pseudomonas aeruginosa* walau jarang terjadi (Breedlove *et al.*, 2006).

Faktor resiko terjadinya bisul antara lain adalah luka/goresan pada kulit, kebersihan diri yang buruk, pakaian ketat, gesekan, terapi penekan sistem imun, diabetes, kegemukan, dan cuaca yang panas serta keringat berlebih (Breedlove et al., 2006; Dunphy et al., 2011).

2.4 Lengkuas (Alpinia galanga)

2.4.1 Klasifikasi

Klasifikasi dari lengkuas adalah sebagai berikut: (Verma et.a.l, 2011)

Kingdom :Plantae

Divisi : Magnolyophita

Kelas : Liiopsoda

Order : Zingiberalis

Sub family : Alpiniodeoe

Tribe : Alpiniodeae

Genus : Alpinia

Spesies : Alpinia galanga

2.4.2 Habitat dan Morfologi

Persebaran tanaman lengkuas banyak ditemukan di negara Asia tenggara seperti Indonesia, Malaysia, Thailand, India dan Pakistan serta beberapa negara Asia lainnya (Chudiwal, 2009). Habitat tumbuh dari lengkuas adalah pada daerah beriklim panas dan lembab pada tanah yang subur dan banyak mengandung humus serta memiliki drainase yang baik

(Samart, 2007). Gambar tanaman dan rimpang lengkuas dapat dilihat pada Gambar 2.4 dan 2.5.



Gambar 2.4 Tanaman Lengkuas (Samart, 2007)



Gambar 2.5 Rimpang Lengkuas (Alpinia galanga) (Samart, 2007)

Pemanenan lengkuas dilakukan setelah tanaman berusia 6 bulan dengan interval pemanenan setiap 3 bulan sampai bulan ke 48. Masa panen

terbaik untuk hasil minyak yang maksimal (127,4 L/ha) adalah pada bulan ke 42 (Verma *et al.*, 2011)

Lengkuas merupakan tanaman tahunan yang berbatang semu, tumbuhnya tegak dan bisa mencapai tinggi 1-2 meter. Pada bagian batangnya terdapat pelepah daun yang menyatu serta batang muda keluar sebagai tunas dari batang yang tua. Daun lengkuas berupa daun tunggal, bertangkai pendek, bentuk daun langset memanjang, ujungnya runcing dengan pangkal tumpul, memiliki tepian daun yang rata, pertulangan daunnya menyirip dengan panjang sekitar 25-50 cm dan lebar 7-15 cm. Bunga tanaman ini terbentuk di ujung batang berbentuk tandan, tegak, gagangnya panjang, ramping, dan bunga dibagian bawah lebih banyak dari pada yang diatas. Kelopak bunga berwarna putih kehijauan dengan bentuk lonceng. Buahnya merupakan buah buni, bulat, keras, berwarna hijau saat masih muda, dan coklat kehitaman ketika tua. Rimpang merayap, berdaging, kulitnya mengkilap, beraroma khas, berwarna merah atau kuning pucat, dan akan berserat saat tua. Untuk mendapatkan rimpang yang tidak terlalu berserat dilakukan pemanenan saat usia tanaman 2,5- 4 bulan (Kehati, 2010).

2.4.3 Khasiat Lengkuas

Lengkuas yang memiliki nama lokal yaitu laos (dalam bahasa Jawa) merupakan salah satu bumbu dapur yang biasa digunakan orang Indonesia dan asia tenggara sebagai bumbu penyedap atau rempah. Selain itu sering pula dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional untuk mengatasi gangguan lambung, menghilangkan kembung, anti jamur, gatal, menambah napsu makan dan sakit tenggorokan (Hartono, 2009). Di India lengkuas banyak

digunakan sebagai antiseptik dan anti bakteri (Latha, 2009). Pada pengobatan ayurvedic lengkuas digunakan untuk meningkatkan nafsu makan, bronkitis, dan penyakit yang berhubungan dengan jantung. Pada sistem pengobatan unani rimpang lengkuas digunakan untuk aprodisiak, penawar racun, diuretik, ekspektoran, serta karminatif. Selain itu biasa digunakan sebagai analgesik dan anti diabetes (Chudiwal *et.al.*, 2010). Pada sumber lainnya diketahui lengkuas biasa digunakan sebagai anti jamur, inflamasi, nyeri sendi, dyspepsia, demam, dan inkonsistensi urin (Khattak, 2004)

Ekstrak etanol lengkuas (*Alpinia galanga*) dilaporkan memiliki daya hambat kuat terhadap bakteri *S. aureus* (Chudiwal *et.al.*, 2010). Berdasarkan Oonmeta-aree (2006) ekstrak etanol lengkuas memiliki kadar hambat minimal (KHM) pada konsentrasi 0,325 mg/ml dan kadar bunuh minimal (KBM) pada konsentrasi 1,3 mg/ml. mekanismenya adalah dengan cara mempengaruhi integritas dari membran sel bakteri hingga mengakibatkan selnya pecah (Oonmeta-aree *et al.*, 2006)

Menurut Mayachiew dan sakamon (2007) aktifitas antibakteri dari rimpang lengkuas dipengaruhi oleh senyawa fenol yang terkandung di dalamnya. Senyawa terbanyak yang terkandung dalam ekstrak lengkuas yaitu 1,8-cineole dilaporkan memiliki efek anti bakteri terhadap bakteri Gram positif seperti *S. aureus* dengan mekanisme merusak membran sitoplasma bakteri tersebut (Mayachiew, 2007).

Salah satu senyawa yang terkandung dalam lengkuas adalah galangin, yang termasuk dalam golongan flavonoid. Senyawa ini diketahui memiliki potensi efek penghambatan pada bakteri *S. aureus* (Samart, 2007).

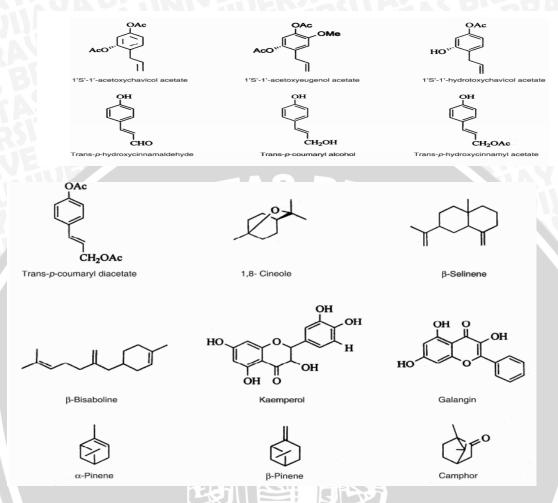
2.4.4 Kandungan Lengkuas

Rimpang lengkuas (*Alpinia galanga*) memiliki 3 konstituen kimia utama yaitu flavonoid, glikosida, dan diarylheptanoid. Aktivitas biologis dari lengkuas diantaranya adalah antitumor, antiulser, antibakteri, dan antijamur (Samart, 2007).

Lengkuas berdasarkan berbagai penelitian mengandung banyak konstituen aktif terutama senyawa fenol seperti flavonoid dan asam fenol. Komponen yang banyak diisolasi dari rimpang lengkuas adalah galangisoflavonoid, β-situsterol diglucosyl caprate, methyleugenol, p-coumaryl diacetate, 1'acetoxyeugenol acetate, trans-p-acetoxycinammil alkohol, p-hidroxybenzaldehyde, trans-3, 4-dimethoxyxinnamil alkohol, p-hydroxycinnamaldehyde, trans-p-coumaryl alkohol, galangin, trans-p-coumaric acid, dan galanganol B. Minyak menguap dari tanaman yang berasal dari Indonesia dilaporkan mengandung β-farnesene, myrcene dan 1,8 cineole (Kaushik, 2011).

Pada penelitian lain diketahui komponen utama pada rimpang lengkuas (*Alpinia galanga*) adalah 1,8 cineole (20,95%), β -Caryophyllen (13,16%), β -Selinene (10,56%) dan diperkirakan kandungan senyawa fenol dalam ekstrak lengkuas adalah 40,9 \pm 0,2 mg/g ekstrak. Namun besarnya konsentrasinya juga dipengaruhi oleh faktor lain seperti lingkungan,cara tanam, dan iklim sehingga bisa jadi kandungannya akan berbeda di tempat

lain (Mayachiew, 2007).



Gambar 2.6 Kandungan Lengkuas (Alpinia galanga) (Samart, 2007)

2.5 Penyarian Senyawa Aktif Tanaman

Ekstrak adalah sediaan padat yang diperoleh dari menyari zat aktif dari tanaman atau hewan dengan menggunakan pelarut yang sesuai kemudian dilakukan penguapan terhadap pelarut tersebut sedemikian hingga tersisa massa serbuk atau ekstrak sesuai baku yang ditetapkan (Depkes RI, 1995)

Ekstraksi adalah suatu proses untuk mendapatkan kandungan kimia dari suatu tanaman dan hewan dengan menggunakan pelarut atau penyari

yang sesuai. Pelarut yang biasa digunakan adalah air, etanol, atau campuran dari keduanya (Depkes RI, 1979).

Secara garis besar ada 2 macam proses ekstraksi yaitu cara dingin dan cara panas.

2.5.1 Cara dingin

Ekstraksi dengan metode ini memiliki keuntungan yaitu meminimalkan kerusakan kandungan yang bersifat termolabil (Istiqomah, 2013).

2.5.1.1 Maserasi

Maserasi berasal dari bahasa latin *macerace* yang berarti mengairi atau melunakkan. Maserasi adalah salah satu dari metode ekstraksi cara dingin dengan cara merendam simplisia tanaman dengan menggunakan pelarut didalam wadah tertutup selama kurun waktu tertentu dengan diselingi pengadukan dan dilakukan pada suhu kamar (Istiqomah, 2013).

Prinsip dari metode ini adalah diperolehnya kesetimbangan antara konsentrasi di dalam dan luar sel tanaman sehingga mampu melarutkan/mengeluarkan konstituen aktif dari dalam sel tanaman melalui mekanisme difusi (Istigomah, 2013)

Keunggulan dari metode ini adalah pengerjaan yang cukup mudah dengan dengan alat sederhana dan murah dalam pengerjaannya. Sedangkan kerugiannya adalah pengerjaannya cukup lama dan membutuhkan banyak pelarut (Istiqomah, 2013).

2.5.1.2 Perkolasi

Perkolasi yang berasal dari kata *percolare* yang berarti penetesan adalah proses penyarian dengan menggunakan prinsip mengalirkan pelarut didalam bejana percolator yang telah berisi serbuk simplisia secara terus

menerus sampai diperoleh ekstrak yang beratnya 1-5 kali bahan (Istiqomah, 2013).

2.5.2 Cara panas

2.5.2.1 Refluks

Refluks merupakan metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut pada titik didihnya selama beberapa waktu tertentu dan berulang-ulang tanpa mengganti atau menambah pelarut hal ini bisa dilakukan karena terdapat mekanisme pendinginan balik sehingga pelarut yang menguap akan kembali mengembun dan masuk ke dalam wadah untuk diuapkan lagi (Istiqomah, 2013).

2.5.2.2 Digesti

Merupakan jenis maserasi kinetik (menggunakan pengadukan) namun tidak dilakukan pada suhu ruangan melainkan pada suhu 40-50 °C (Istoqomah, 2013).

2.5.2.3 Infusa

Merupakan jenis ekstraksi yang cocok digunakan untuk bahan tanaman yang lunak. Metodenya adalah dengan memanaskan bejana infusa yang berisi air dan simplisia diatas penangas air yang mendidih selama sekitar 15 menit (Istgomah, 2013)

2.5.2.4 Dekokta

Secara prinsip mirip dengan infusa hanya saja waktu yang digunakan untuk menyari lebih lama yaitu 30 menit. Metode ini cocok digunakan untuk simplisia tanaman yang keras seperti dari akar atau batang tanaman (Istiqomah, 2013).

2.5.2.5 Soxhletasi

Soxhletasi merupakan suatu metode penyarian cara panas dengan prinsip menyerupai refluks hanya saja dengan menggunakan suatu alat khusus yaitu ekstraktor soxhlet. Metode ini menggunakan suhu yang lebih rendah dibandingkan refluks dan memungkinkan penggunaan pelarut yang lebih sedikit (Siahaan, 2010).

2.5.3 Pelarut

Kegunaan pelarut dalam proses ekstraksi adalah untuk melarutkan senyawa aktif yang terkandung di dalam tanaman. Jenis pelarut yang sering digunakan untuk melarutkan senyawa dalam tanaman salah satunya adalah etanol karena memiliki kelarutan yang relatif tinggi dan bersifat inert sehingga tidak bereaksi dengan komponen lain. Selain itu etanol juga dapat dicampurkan dengan air dalam perbandingan berapapun dan juga memiliki titik didih yang rendah, yaitu 78°C, sehingga mudah untuk dipisahkan nantinya. Pelarut lain yang sering digunakan adalah N-heksana, isopropanol, etil asetat, dan aseton (Susanti, 2012).

Pertimbangan pemilihan pelarut dalam proses ekstraksi adalah: (Susanti, 2012)

- Selektivitas pelarut terhadap senyawa yang akan diekstrak sehingga proses ekstraksi menjadi lebih cepat
- b. Harus memiliki titik didih rendah sehingga mudah dipisahkan dengan penguapan
- c. Tidak larut dalam air
- d. Pelarut tidak bereaksi dengan senyawa atau komponen lainnya (inert)
- e. Berharga murah

f. Aman dan tidak berbahaya ketika digunakan.

2.6 Sediaan Gel

Gel merupakan sediaan semisolid yang terdiri dari suspensi yang terbuat dari partikel anorganik kecil atau molekul organik besar dimana terdapat suatu cairan yang terpenetrasi di dalamnya. Struktur tiga dimensi dari gel terbentuk akibat adanya interaksi antar polimer yang memiliki tingkat ikatan silang yang tinggi (baik fisik maupun kimia). Jenis-jenis polimer yang sering digunakan sebagai basis gel meliputi gom arab, tragakan, pektin, karagen, agar, alginat, dan bahan-bahan sintetis maupun semi-sintetis seperti metilselulosa, hidroksietilselulosa, karboksimetilselulosa,dan carbopol (Muthoharoh, 2008).

Gel merupakan suatu dispersi koloid karena mengandung partikelpartikel berukuran koloid. Gel yang dalam makromolekulnya tidak terlihat
adanya batas dan tersebar diseluruh molekulnya dinamakan gel satu fase.
Apabila massa gel terdiri dari kelompok-kelompok kecil partikel yang berbeda
disebut gel dua fase. Sediaan gel karena memiliki konsentrasi air yang tinggi
sehingga tidak menyebabkan iritasi dan bisa diaplikasikan pada jaringan luka
atau terbakar dan jaringan mukus (Setyaningum, 2013).

Keuntungan dari sediaan gel adalah tidak lengket, konsentrasi bahan gel yang dibutuhkan sedikit, dan viskositas gel tidak mengalami perubahan yang berarti dalam suhu penyimpanan (Setyaningum, 2013).

2.6.1 Komponen sediaan gel

Komponen yang biasa digunakan dalam pembuatan suatu sediaan gel adalah basis gel, peningkat pH, peningkat penetrasi, humektan, dan pelarut.

Basis dalam sediaan gel ini menggunakan carbomer. Carbomer berupa polimer serbuk yang bila terdispersi pada suasana netral (pH sekitar 6) akan membentuk gel dengan viskositas tinggi. Bahan yang bisa digunakan untuk menetralkan carbomer adalah asam amino, kalium hidroksida, natrium bikarbonat, dan natrium hidroksida. Jumlah yang diperlukan sebagai basis gel adalah 0,5-2% (Rowe, 2009). Carbomer akan mengembang ketika didispersikan dengan air dengan adanya zat-zat alkali seperti Trietanolamin (TEA) atau diisopropilamin untuk membentuk sediaan semi padat (Mulyono, 2010).

Trietanolamin atau biasa disingkat TEA merupakan cairan jernih, tidak berwarna atau sedikit kekuningan, dan sedikit berbau amoniak. Biasanya digunakan sebagai bahan untuk meningkatkan pH (rowe, 2009). TEA adalah campuran dari trietanolamin, dietanolamin, dan monoetanolamin. Mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 104,7% dihitug terhadap zat anhidrat sebagai trietanolamin. Fungsinya adalah sebagai Peningkat pH sehingga meningkatkan viskositas gel (Wulaningsih, 2010).

Komponen lainnya yang digunakan adalah peningkat penetrasi (penetration enhancer) yaitu propilenglikol. Kegunaan dari propilenglikol ini adalah meningkatkan kemampuan penetrasi sediaan ke kulit. Selain sebagai penetration enhancer, propilen glikol juga bisa berfungsi sebagai humektan. Sifat dari propilenglikol adalah jernih, tidak berbau atau berasa dan viskositasnya bagus (Rowe, 2009)

Bahan terakhir yang digunakan untuk membuat gel adalah akuades atau air suling. Merupakan suatu bahan yang digunakan secara luas pada industri farmasi. Untuk mendapatkannya pertama harus dipisahkan bagian

tak larutnya melalui koagulasi sampai filtrasi, kemudian mikroorganisme patogen harus dibersihkan dari air dengan cara aerasi, klorinasi atau prosedur lain yang diperlukan. Akuades/air merupakan dasar dari hampir semua komponen biologi, dapat dipastikan bahwa akuades/air suling aman digunakan dalam industri farmasi selama memenuhi kadar baku yang ditentukan. Walau begitu, penggunaan akuades/air suling tidak bisa digunakan untuk bahan-bahan yang rentan terhidrolisis (Rowe, 2009).

2.7 Uji aktivitas mikroba

Pengujian aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan dua metode yaitu metode pengenceran (dilusi) atau metode perembesan (difusi) (Jawetz et al., 2005).

2.7.1 Metode Dilusi

Metode Dilusi Tabung

Metode dilusi menggunakan satu set tabung reaksi yang diisi dengan media cair dan sejumlah mikroba. Lalu masing-masing tabung diuji dengan zat antimikroba yang telah diencerkan. Kemudian dilakukan inkubasi pada suhu ±36°C selama 18-24 jam kemudian diamati koloni bakteri yang berkembang. Metode ini dapat digunakan untuk menentukan kadar hambat minimal (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM) dari suatu zat (Jawetz *et al.*, 2005).

KHM ditentukan dari konsentrasi terendah zat yang menunjukan hasil biakan mulai tampak jernih. Sedangkan KBM ditentukan dari konsentrasi terendah dari zat yang menunjukan tidak adanya pertumbuhan bakteri dalam tabung dibuktikan dengan penampakan tabung yang jernih. Syarat

jumlah bakteri untuk uji kepekaan adalah 10⁵-10⁸ CFU/mL (Jawetz *et al.*, 2005).

b. Metode Dilusi Agar

Metode ini dilakukan dengan menggunakan media agar padat. Caranya dengan mencampurkan zat antimikroba dengan agar yang masih cair dan tidak terlalu panas sampai homogen kemudian dibiarkan sampai campuran tersebut memadat. Lalu bakteri yang akan diuji dioleskan diatas media tersebut, syaratnya adalah jumlah bakteri adalah 10⁵-10⁸ CFU/mL. lalu diinkubasi pada suhu 35° C selama 24 jam. Interpretasinya adalah konsentrasi terendah yang mengandung kurang dari tiga koloni disebut sebagai KHM (Jawetz *et al.*, 2005).

2.7.2 Metode difusi

a. Difusi Cakram

Merupakan salah satu metode uji aktivitas antibakteri yang sering digunakan. Prinsip metode ini adalah zat antibakteri dari cakram akan berpindah ke dalam media agar melalui mekanisme perembesan atau difusi sehingga menghasilkan area hambatan yang bebas dari koloni bakteri. Semakin bagus aktivitas antibakterinya maka semakin besar pula area hambatannya (Mohanty *et al.*,2010)

Metodenya adalah dengan meratakan bakteri pada permukaan agar kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama semalaman. Cakram yang sudah diberi zat uji diletakan di atas media agar lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama sehari. Syarat jumlah bakteri untuk metode ini adalah 10⁵-10⁸ CFU/mL (Pati, 2011).

b. Difusi Epsilometer test (e-test)

Metode ini menggunakan ssatu set strip plastik yang sudah diberi agen antimikroba dari konsentrasi terendah hingga tinggi kemudian diletakan di atas media agar yang sudah ditanami bakteri lalu diinkubasi. Interpretasinya adalah diukur area jernih pada media agar yang menunjukan adanya daya hambat bakteri pada media agar. Syarat jumlah bakteri untuk metode ini adalah 10⁵-10⁸ CFU/mL (Pratiwi, 2009).

c. Difusi sumuran

Metode ini diawali dengan membuat sumur (lubang) secara membujur pada media agar, kemudian zat antimikroba diletakan pada sumur tersebut selanjutnya bakteri uji dioleskan ke arah parit yang sudah berisi agen anti mikroba. Syarat jumlah bakteri untuk metode ini adalah 105-108 CFU/mL (Pratiwi, 2009).