

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Mengenai Mimba

2.1.1 Taksonomi Mimba

Mimba atau dalam bahasa latin *Azadirachta indica* A. Juss adalah tanaman yang sudah dikenal oleh masyarakat luas sebagai pestisida alami. Penyebaran tanaman mimba banyak ditemukan di kawasan Asia Tenggara dan Asia Selatan sedangkan plasma nutfah tanaman ini banyak terdapat di negara India dan Vietnam. Di Indonesia tanaman mimba banyak tersebar di Jawa, Bali, dan Nusa Tenggara Barat. Dibeberapa negara, tanaman mimba banyak digunakan sebagai obat tradisional, seperti di Vietnam rebusan daun mimba dapat digunakan sebagai obat malaria dan obat untuk mengatasi masalah pencernaan, sedangkan di Bali daun mimba sering digunakan sebagai obat kutu rambut dan juga sebagai salah satu sarana persembahyangan bagi umat Hindu (Rukmana *et al*,2002). Dalam sistematika tanaman mimba dapat diklasifikasikan sebagai berikut::

Divisio	: Spermatophyta
Subdivisio	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Rutales
Famili	: Meliaceae
Genus	: <i>Azadirachta</i>
Spesies	: <i>Azadirachta indica</i> A. Juss sinonim <i>Melia azadirachta</i>



Gambar 2.1. Daun Mimba (*Azadirachta indica* A.Juss) , Penampakan daun
(Rukmana *et al.*, 2002)

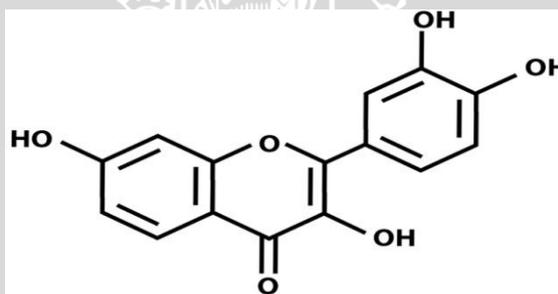
2.1.2 Identifikasi Tumbuhan Mimba

Di kawasan Asia terdapat tiga spesies tanaman mimba yaitu *Azadirachta indica*, *Azadirachta siamensis* dan *Azadirachta excelsa*. Tanaman mimba dengan spesies *Azadirachta indica* merupakan tanaman mimba yang tumbuh dikawasan Asia Tenggara termasuk di Indonesia. Mimba merupakan tanaman yang tumbuh hijau sepanjang tahun, dengan batang tanaman yang lurus dan berkayu keras tanaman mimba dapat tumbuh setinggi 7 m – 20 m dengan lingkaran batang mencapai 100 cm. Tanaman mimba biasanya akan tumbuh rimbun dan memiliki daun yang tidak mudah rontok sehingga banyak dimanfaatkan sebagai tanaman perindang ataupun dimanfaatkan sebagai tanaman hias. Daun mimba berbentuk lonjong dengan tepi bergerigi dan ujung runcing serta bersip genap (majemuk). Daun mimba berwarna hijau muda hingga hijau tua dengan permukaan daun bagian atas mengkilap (Rukmana *et al.*, 2002).

2.1.3 Kandungan Daun Mimba

2.1.3.1 Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman. Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa phenolik dengan struktur kimia $C_6-C_3-C_6$, dengan kerangka cincin senyawa yang terdiri dari satu cincin aromatic A, satu cincin aromatic B dan cincin yang terletak ditengah merupakan heterosiklik yang mengandung oksigen. Flavonoid dibagi menjadi beberapa sub kelompok berdasarkan bentuk teroksidasi dari cincin tersebut (Redha, 2010).



Gambar 2.2 Kerangka $C_6-C_3-C_6$ Flavonoid

Flavonoid dapat ditemukan secara luas diberbagai jenis tanaman yang melakukan fotosintesis, dan memberikan warna tertentu pada tanaman berbunga. Senyawa ini merupakan bagian dari diet manusia dan hewan. Pada makanan dapat mengandung senyawa flaonoid dengan kelas atau kelompok yang berbeda-beda. Pada makanan yang biasa dikonsumsi oleh manusia, senyawa flavonoid banyak ditemukan dengan kadar tinggi pada isoflavon kedelai, flavonol dan flavon. Senyawa ini banyak memiliki peran dalam mengatasi berbagai macam penyakit. Beberapa studi yang pernah dilakukan mengatakan bahwa kandungan flavonoid pada buah beri memiliki efek positif

dalam melawan penyakit Parkinson dan dapat membantu untuk meningkatkan kemampuan daya ingat pada orang tua. Fraksi flavonoid pada *Astragalus complanatus* dapat memberikan efek antihipertensi sedangkan antioksidan yang terkandung dalam flavonoid dapat menurunkan resiko demensia. Efek terapeutik yang dimiliki oleh flavonoid dipengaruhi oleh kelarutannya, dimana kelarutan yang rendah dari aglikon flavonoid dalam air ditambah dengan singkatnya waktu saat di dalam usus halus serta absorpsi yang rendah tidak akan menyebabkan manusia terserang efek toksik akut akibat konsumsi flavonoid, dengan pengecualian kejadian alergi (Kumar *et al.*,2013).

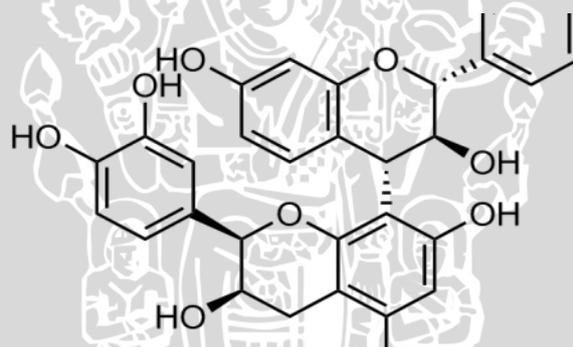
Flavonoid memiliki banyak manfaat bagi ilmu kedokteran yaitu sebagai antioksidan, antimikrobal, hepatoprotektif, anti-inflamasi, anti-kanker dan antiviral. Flavonoid sebagai antimikrobal telah banyak diteliti secara *in vitro* dan dapat melawan struktur mikroorganisme secara luas. Beberapa kelompok flavonoid telah diketahui memiliki potensi sebagai antimikrobal seperti apigenin, galangin, flavones, dan glikosida flavonol, isoflavoson, flavanone, dan khalkason. Flavonoid sebagai antimikrobal memiliki beberapa mekanisme untuk membunuh bakteri, seperti kemampuan inaktivasi adhesi dari mikroba, enzim, transport protein sel, dan kerusakan membran mikroba (Kumar *et al.*,2013).

Mekanisme kerja dari senyawa flavonoid sebagai antimikroba adalah dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler yang akan dapat merusak membran dari sel bakteri selanjutnya diikuti dengan keluarnya komponen intraseluler yang menyebabkan kematian dari sel bakteri. Selain itu flavonoid juga dapat menghambat sintesis DNA/RNA dengan cara interkalasi atau berikatan dengan hidrogen diikuti penumpukan basa asam nukleat, senyawa ini juga berperan dalam menghambat metabolisme energi dari sel bakteri

dengan cara menghambat sistem respirasi dari bakteri sehingga dapat mengakibatkan terhambatnya biosintesis dari makromolekul dan penyerapan aktif metabolit (Ngajow *et al.*, 2013).

2.1.3.2 Tanin

Senyawa tanin adalah senyawa phenol yang larut dalam air. Senyawa tanin dibagi menjadi dua kelompok yaitu *hydrolysable tanin* dan *condensed tannis (proanthocyanidins)*. Molekul *hydrolysable tanin* memiliki gugus karbohidrat (biasanya D-glukosa) yang berada ditengah. Karbohidrat dan asam phenolik yang ada pada struktur senyawa ini dihasilkan melalui hidrolisa senyawa ini oleh asam lemah atau basa lemah (Ismarani, 2012).



Gambar 2.3 Struktur kimia senyawa tanin

Tanin dapat ditemukan pada sebagian besar tanaman di dunia, selain itu tanin juga dapat ditemukan pada kulit pohon, teh, *wine*, dan *beer*. Senyawa tanin disebut sebagai antinutrisi karena senyawa ini akan mengganggu penyerapan zat besi melalui pembentukan kompleks dengan zat besi ketika didalam lumen gastro-intestinal yang akan menurunkan bioavailabilitas dari zat besi. Selain itu senyawa tanin juga berperan dalam bidang medis sebagai antidiare, hemostatik,

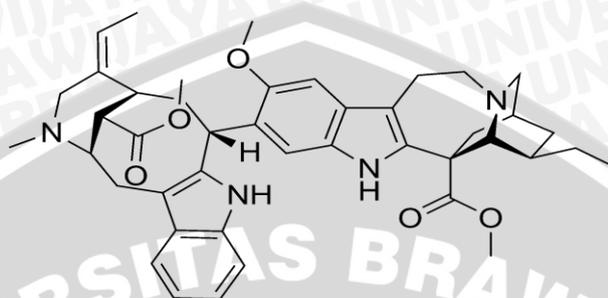
dan antihemorodial. Senyawa ini juga mempunyai efek sebagai anti-inflamasi, antiviral, anti bakteri, dan antiparasitik (Ashok *et al.*,2012)

Senyawa tanin memiliki efek antimikroba dengan beberapa mekanisme kerja, yaitu (1)bersifat astrigen (zat yang dapat menciutkan) dimana tanin dapat membentuk kompleks dengan enzim mikroba maupun substrat, (2) masuk ke dalam sel mikroba dengan memanfaatkan dinding sel yang terbuat dari polisakarida dan protein , dan (3) senyawa ini dapat membuat kompleks ion metal seperti Cu dan Fe, yang akan direduksi oleh tanin (fitrial *et al.*,2012). Mekanisme kerja tanin sebagai antimikrobia adalah dengan menghambat enzim *reverse transcriptase* dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk. Selain itu tanin juga dapat menginaktifkan adhesi sel mikroba, dan mengganggu transport protein pada sel mikroba. Senyawa tanin juga dapat merusak dinding sel mikroba dengan mengganggu polipeptida dinding sel mikroba (Ngajow *et al.*,2013)

2.1.3.3 Alkaloid

Senyawa alkaloid dapat ditemukan di bacteria, jamur, tanaman dan hewan.Senyawa ini dapat ditemukan pada 300 famili tanaman. Senyawa alkaloid memiliki struktur yang kuat dengan atom nitrogen sebagai dasar. Kebanyakan senyawa alkaloid terdiri dari 1 atom nitrogen, tapi beberapa senyawa memiliki hingga 5 atom nitrogen. Senyawa ini akan membentuk amino primer (RNH_2), amino sekunder (R_2NH_2) atau amino tersier (R_3N) dengan penambahan atom karbon, hidrogen dan nitrogen, kebanyakan alkaloid mengandung oksigen. Senyawa ini bisa ditemukan sebagai monomer, dimer, trimer, atau tetramer.

Biasanya senyawa ini berbentuk homooligomer, tapi terkadang bisa ditemukan dalam bentuk heterooligomer (Chusnie *et al.*, 2014).



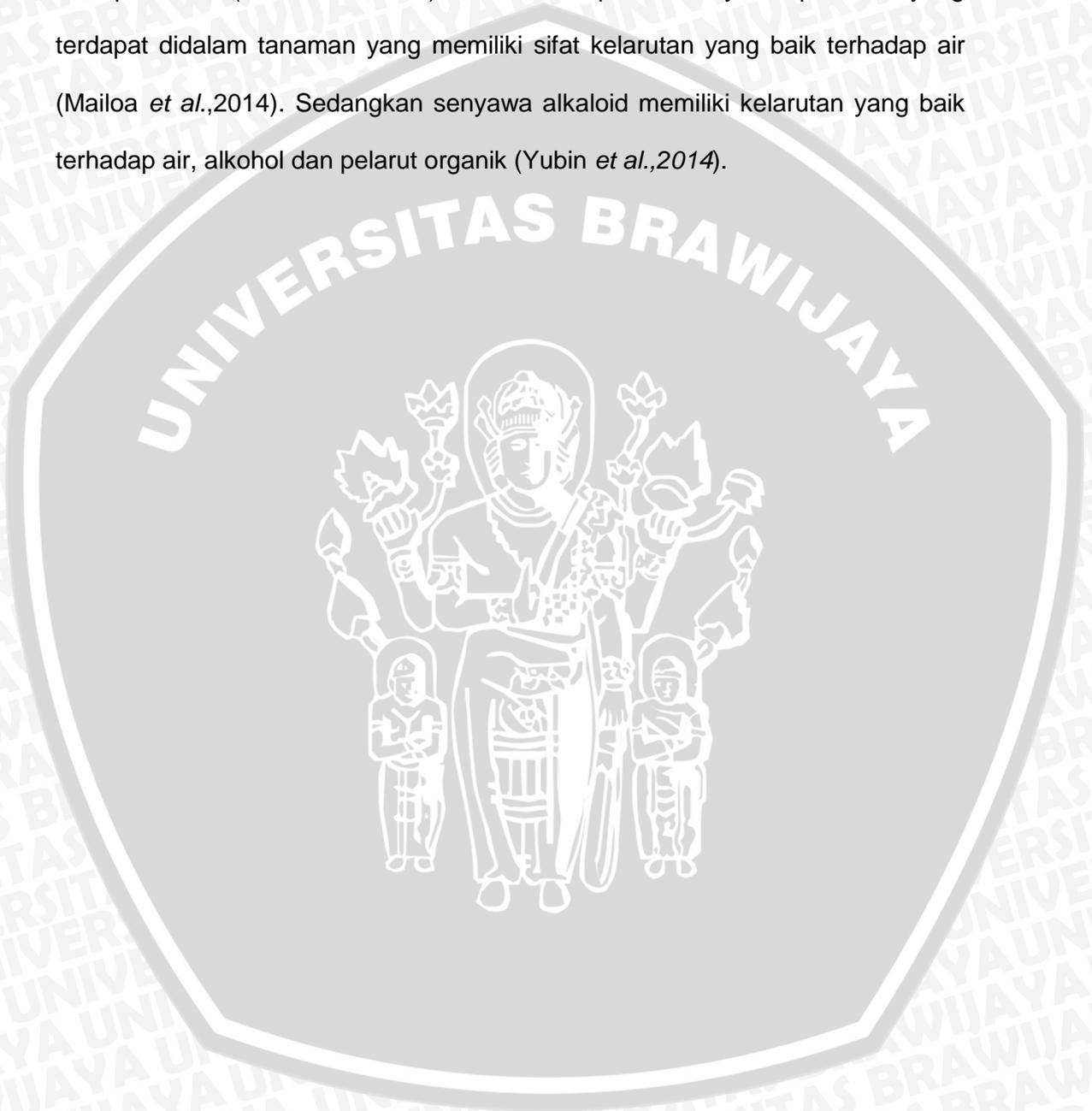
Gambar 2.4 Struktur kimia senyawa alkaloid

Alkaloid merupakan suatu senyawa yang memiliki banyak kegunaan dalam bidang farmasi dan pengobatan. Alkaloid pada umumnya mempunyai kemampuan sebagai antimikrobal, dan antifungi yang kuat. Dari hasil penelitian yang sudah dilakukan alkaloid memiliki kemampuan dalam melawan berbagai jenis bakteri gram positif dan Gram negatif seperti *S.aureus*, *E.coli*, dan *P.aeruginosa*. Selain itu alkaloid juga memiliki efek sebagai antiparasitik dan anti fungi seperti *Candida albicans*, dan *Aspergillus niger* (Aniszewski, 2007). Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antimikroba dengan mekanisme mengganggu komponen penyusun peptidoglikan sehingga dinding sel bakteri tidak dapat terbentuk secara sempurna. Mekanisme kerusakan dari dinding sel bakteri menyebabkan terhambatnya pertumbuhan sel bakteri yang dapat berakhir dengan kematian dari sel bakteri tersebut (Retnowati *et al.*, 2011).

2.1.4 Kelarutan Senyawa Aktif

Senyawa aktif antimikroba yang terkandung dalam ekstrak daun mimba adalah flavonoid, tanin dan alkaloid yang masing-masing memiliki sifat kelarutan yang berbeda satu sama lainnya. Flavonoid merupakan senyawa yang memiliki

sifat kelarutan yang berbeda pada beberapa jenis bahan pelarut, dimana senyawa aktif flavonoid memiliki sifat kelarutan yang baik pada methanol, etanol dan pada air (Tan *et al.*,2014). Tanin merupakan senyawa polifenol yang terdapat didalam tanaman yang memiliki sifat kelarutan yang baik terhadap air (Mailoa *et al.*,2014). Sedangkan senyawa alkaloid memiliki kelarutan yang baik terhadap air, alkohol dan pelarut organik (Yubin *et al.*,2014).



2.2 Tinjauan Mengenai Bakteri

2.2.1 Taksonomi Bakteri

Salmonella Typhi memiliki taksonomi sebagai berikut : (Todar,2008)

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gamma Proteobacteria
Order	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Salmonella</i>
Spesies	: <i>Salmonella enterica</i> subspecies enteric serotipe Typhi atau <i>Salmonella</i> Typhi.



Gambar 2.5. *Salmonella* Typhi, Gram negatif, berbentuk batang (Todar,2008)

2.2.2 Morfologi *Salmonella* Typhi

Salmonella memiliki panjang tubuh yang bermacam-macam dan bentuk flagella yang berbeda-beda. Bakteri ini kebanyakan bersifat motil dengan banyak flagella (*peritrichous flagella*). *Salmonella* dapat tumbuh dengan baik di berbagai media sederhana, dan bakteri ini tidak memfermentasikan laktosa atau sukrosa (Carroll *et al.*, 2013). *S. Typhi* merupakan bakteri gram negative yang berbentuk batang dengan diameter tubuh 0,7-1,5 μm dan panjang 2-5 μm . *S. Typhi* merupakan bakteri fakultatif aerob yang mampu bertahan hidup dengan atau tanpa oksigen (Hammack, 2012). *Salmonella* dapat membentuk asam atau gas lainnya, biasanya gas H_2S dari glukosa dan manosa. *Salmonella* mampu bertahan dalam keadaan beku di dalam air pada jangka waktu yang lama. *Salmonella* resisten terhadap beberapa bahan kimia seperti hijau brilian, natrium tetrasetat, natrium deoksikolat, yang memiliki kemampuan untuk menghambat bakteri enterik lain. Sehingga senyawa-senyawa tersebut dapat digunakan untuk inklusi isolate *Salmonella* dari feses pada medium (Carroll *et al.*, 2013).

Salmonella digolongkan kedalam bakteri gram negatif karena *Salmonella* merupakan bakteri yang tidak dapat mempertahankan zat metal ungu pada pewarnaan gram sehingga semua bakteri gram negatif berwarna merah atau merah muda. Sifat patogen pada bakteri ini memiliki kaitan dengan komponen penyusun dinding sel bakteri yaitu lapisan lipopolisakarida atau endotoksin (Hammack, 2012)

2.2.3 Struktur Antigenik

Struktur antigen yang kompleks dimiliki oleh bakteri familia *Enterobacteriaceae* termasuk juga spesies *S. Typhi*. Terdapat tiga jenis antigen yaitu antigen H atau antigen flagellar, O atau antigen somatic, dan Vi atau antigen kapsular (Brooks *et al*,2013).

Antigen O merupakan bagian terluar dari dinding sel lipopolisakarida dan beberapa diantaranya memiliki susunan gula yang khas. Antigen O resisten terhadap panas dan alkohol serta bisa dideteksi oleh aglutinasi dari sel bakteri (Brooks *et al*,2013). Antigen O dan H merupakan antigen utama yang digunakan untuk penggolongan *Salmonella*, dimana antigen O miliki *Salmonella* akan mirip dengan antigen O dari *Enterobacteriaceae* yang lain. Sedangkan antigen H akan berbeda dengan yang lainnya karena adanya proses *diphase*. Antigen H dapat muncul dalam dua fase antigenik mayor, pada fase 1 atau fase 2, dimana fase 1 merupakan fase yang spesifik dan fase 2 merupakan fase nonspesifik. Antigen H yang muncul pada fase 1 hanya dimiliki oleh beberapa organisme, dan hanya dapat bereaksi dengan antisera homolog. Sedangkan antigen H yang muncul pada fase 2 dimiliki oleh kebanyakan organisme dan bereaksi dengan antisera yang heterolog (Dzen *et al*, 2010).

Antigen O merupakan rantai samping dari susunan unit gula yang terdapat pada lapisan terluar lipopolisakarida dinding sel bakteri. Antigen O resisten terhadap panas, dan tidak terpengaruh oleh pemanasan pada suhu 100°C selama 2-5 jam, dan stabil dalam alkohol (Parija,2009).

Antigen H hanya dimiliki oleh organisme yang memiliki flagella. Antigen H dapat ditemukan didalam protein flagella. Antigen H pada *Salmonella* merupakan antigen yang bersifat spesifik, dimana antigen ini dapat berubah-ubah menjadi

antigen H fase 1 atau antigen H fase 2. Sehingga organisme yang memiliki antigen H dapat menggunakan antigen ini sebagai alat untuk mengelabui respon imun (Parija, 2009).

Sel bakteri yang kehilangan antigen H dapat menjadi tidak motil lagi, sedangkan apabila kehilangan antigen O akan menyebabkan perubahan pada bentuk koloni bakteri dari bentuk yang halus menjadi kasar, dan antigen Vi dapat hilang sebagian atau seluruhnya. Antigen dapat didapatkan kembali atau hilang ketika terjadi proses transduksi (Carroll *et al.*, 2013).

2.2.4 Patofisiologi

Salmonella Typhi merupakan patogen yang dapat menginfeksi manusia. Bakteri ini biasanya akan masuk melalui mulut atau *oral route*, dan biasanya ditemukan pada makanan atau minuman yang terkontaminasi (Carroll *et al.*, 2013). Setelah melewati mulut dan lambung, *S. Typhi* akan menyerang mukosa dari usus halus dan melakukan invasi ke dalam sel M (*microfold cells*) yang terdapat pada *peyer patches* di dalam sel usus halus. Bakteri akan bereplikasi di dalam vakuola endositik. Setelah bereplikasi bakteri dapat menembus sitoplasma dan dapat menyebar ke dalam peredaran darah atau ke dalam sirkulasi limfatik (Murray *et al.*, 2013). Selain menyebar melalui peredaran darah dan limfe, bakteri juga dapat menyebar ke seluruh organ retikuloendotelial tubuh, terutama hati dan limpa. Di dalam organ-organ tersebut bakteri akan keluar dari makrofag dan berkembangbiak di luar sel dan dapat masuk ke dalam sirkulasi darah. Di dalam hati, bakteri masuk ke kandung empedu, bereplikasi dan bersama cairan empedu akan disekresikan ke dalam lumen usus. Sebagian bakteri akan keluar melalui feses dan sebagian lagi akan kembali ke peredaran darah. Selanjutnya akan terjadi pelepasan mediator inflamasi yang akan

menimbulkan gejala reaksi inflamasi sistemik akibat makrofag yang hiperaktif. Selain menimbulkan gejala inflamasi sistemik, hiperaktif makrofag juga akan menyebabkan induksi reaksi hipersensitivitas tipe lambat, hyperplasia jaringan organ dan nekrosis organ. Perdarahan saluran cerna dapat terjadi akibat adanya nekrosis dan hyperplasia akibat akumulasi sel-sel mononuclear di dinding usus (Widodo, 2009).

2.2.5 Manifestasi Klinis

Salmonella menimbulkan tiga jenis penyakit utama pada manusia yaitu demam enteric (demam tifoid), bakterimia dengan lesi fokal, dan enterokolitis (Murray *et al*, 2013).

2.2.5.1 Demam Enterik (Demam Tifoid)

Karier *S. Typhi* merupakan penderita yang baru sembuh dari penyakit yang mengekskresikan mikroorganisme ini dalam jangka waktu yang pendek atau pada kronik karier yang dapat mengeluarkan organisme ini sampai lebih dari satu tahun. Kebanyakan karier *S. Typhi* adalah wanita (Chaurasia *et al.*, 2009).

S. Typhi yang tertelan akan mencapai usus halus akan masuk ke dalam sirkulasi limfatik dan kemudian masuk ke dalam peredaran darah. Organisme ini akan terbawa oleh darah ke berbagai organ, termasuk usus. *S. Typhi* akan bereplikasi di jaringan limfoid usus dan dikeluarkan melalui feses. *S. Typhi* akan menimbulkan gejala demam, malaise, sakit kepala, konstipasi, bradikardi, dan myalgia (Carroll *et al.*, 2013).

2.2.5.2 Bakterimia (Septisemia) dengan Lesi Fokal

Semua spesies *Salmonella* dapat menyebabkan bakterimia, dan yang paling sering adalah *S. Choleraesuis*, *S. Paratyphi*, dan *S. Typhi*. Kondisi bakterimia akan mudah terjadi pada beberapa pasien seperti pada pasien anak-anak, pasien geriatric, dan pada pasien dengan HIV. Infeksi supuratif lokal seperti osteomyelitis, abscess, endocarditis, arthritis, dan meningitis dapat terjadi pada 10% pasien (Greenwood *et al.*, 2012). Bakterimia atau septisemia ditandai dengan gejala demam, menggigil, anoreksia, dan anemia. Bakterimia yang bersifat kronik dapat dijumpai pada pasien dengan schistosomiasis (Dzen *et al.*, 2010).

2.2.5.3 Enterokolitis (Gastroenteritis)

Gastroenteritis atau enterokolitis merupakan infeksi pada kolon yang biasanya terjadi setelah 18-24 jam organisme *Salmonella* masuk ke dalam tubuh (Dzen *et al.*, 2010). Infeksi ini biasanya disebabkan oleh bakteri *Salmonella* dengan serotype *typhimurium* dan *enteritidis*. Gejala seperti mual, sakit kepala, muntah, dan diare hebat akan terjadi setelah 48 jam bakteri masuk ke dalam tubuh. Pada pemeriksaan feses akan ditemukan beberapa leukosit di dalamnya (Brooks *et al.*, 2007). Pada kebanyakan kasus yang terjadi, penderita tidak memerlukan penanganan medis karena penyakit ini dapat sembuh sendiri (*self limited*) dalam waktu 2-5 hari. Pada beberapa kasus berat pada pasien bayi dan geriatri akan diperlukan perhatian lebih untuk menangani kemungkinan terjadinya dehidrasi dan ketidakseimbangan elektrolit (Dzen *et al.*, 2010). Gejala lain yang dapat menyertai adalah kram perut, myalgia, dan nyeri kepala. Demam jarang melebihi 39°C dapat terjadi pada setengah dari pasien yang terinfeksi. Diagnosis

pasti dapat ditentukan dengan pemeriksaan laboratorium dengan membuat isolasi atau kultur *Salmonella* dari specimen feses pasien (Parija, 2009).

2.2.6 Pengobatan

Terapi lini pertama untuk infeksi dari *Salmonella* adalah dengan menggunakan *ampicillin*, *trimethoprim-sulfametoxazol*, atau dengan *cephalosporin* generasi ke-3 (Hawkey *et al.*, 2006). Pengobatan dengan antimikroba biasanya digunakan untuk demam tifoid dan bakterimia dengan lesi fokal, tetapi untuk enterocolitis tidak dengan antimikroba. Pada bayi dengan enteritis pengobatan antibiotik sangat penting, sedangkan untuk diare berat terapi rehidrasi sangat diperlukan untuk mencegah terjadinya dehidrasi (Carroll *et al.*, 2013).

Terapi antibiotik tidak direkomendasikan untuk enteritis karena akan menyebabkan perpanjangan waktu ekskresi atau pengeluaran dari bakteri sehingga gejala dari penyakit akan lebih lama. Uji sensitivitas antimikroba diperlukan untuk terapi infeksi *Salmonella*. Antimikroba yang dapat digunakan adalah *fluoroquinolones*, *chloramphenicol*, *trimethoprim-sulfamethoxazole* atau *cephalosporin* spectrum luas (Murray *et al.*, 2013).

2.2.7 Resistensi Bakteri

Resistensi *Salmonella* terhadap obat-obat antimikroba ditransmisikan secara genetik oleh plasmid bakteri. Sehingga uji sensitivitas sebelum pemberian terapi merupakan hal yang penting yang harus dilakukan untuk dapat memilih antibiotik yang sesuai (Brooks *et al.*, 2007).

Multidrug-Resistant Typhoid fever (MDRT) merupakan defisini dari demam tifoid yang disebabkan oleh strain *S. Typhi* yang resisten terhadap semua terapi lini pertama yaitu *chloramphenicol*, *ampicillin*, dan *co-trimoxazole*.

Sebagian besar kasus tersebut ditemukan diantara wisatawan yang kembali dari daerah yang telah menjadi endemik terhadap MDR strain *S. Typhi* (Zaki, 2011).

Mekanisme resistensi yang berkembang pada bakteri *S. Typhi* terbagi menjadi dua mekanisme. Mekanisme pertama diperantai oleh plasmid bakteri (*Plasmid-mediated Mechanism*) dan mekanisme kedua diperantai oleh kromosom DNA (*Chromosomal DNA-mediated Mechanism*). Selain itu resistensi bakteri terhadap terapi dapat juga disebabkan oleh penurunan permeabilitas dan penghambatan agen aktif pada antimikroba (Zaki, 2011).

2.3 Antimikroba

2.3.1 Mekanisme Kerja Antimikroba

Antimikroba yang ideal adalah antimikroba yang memiliki kemampuan selektifitas yang tinggi, yang berarti antimikroba tersebut dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan sel bakteri patogen tetapi tidak berbahaya atau tidak mengganggu bakteri dari sel hospesnya (Carroll *et al.*, 2013).

2.3.1.1 Menghambat Sintesis Protein

Beberapa jenis antimikroba menghambat sintesis protein bakteri dengan cara berikatan dengan ribosom dari sel bakteri. Antimikroba jenis makrolida, klorampenikol, dan klindamisin berikatan dengan 50S ribosom subunit sehingga dapat mencegah terjadinya proses sintesis protein dalam sel bakteri. Sedangkan antimikroba jenis aminoglikosida dan tetrasiklin berikatan dengan 30S ribosom subunit yang kemudian akan memblokir jalannya proses sintesis protein (Carroll *et al.*, 2013).

2.3.1.2 Menghambat Sintesis Asam Nukleat

Asam nukleat berperan dalam replikasi sel, sehingga hambatan sintesisnya akan menghambat pertumbuhan bakteri. Beberapa contoh antibakteri yang dapat menghambat sintesis asam nukleat antara lain adalah quinolon yang menghambat girase DNA dan topoisomerase DNA, flusitosin dan griseofulvin sebagai antibakteri yang bekerja dengan cara menghambat buisintesis asam nukleat, serta jenis rifampisin, rifabutin, dan rifapentin yang memiliki mekanisme dalam menghambat sintesis dari mRNA (Carroll *et al.*, 2013).

2.3.1.3 Mengganggu Fungsi Membran Plasma

Membran plasma merupakan suatu lapisan membran yang memisahkan lingkungan ekstrasel dan intrasel. Membran plasma mempunyai fungsi selektif permeabilitas seluler, sebagai tempat transport aktif ke dalam atau keluar sel, dan berfungsi untuk menjaga posisi komposisi didalam sel. Apabila terjadi kerusakan pada membran plasma akan mengakibatkan keluarnya makromolekul dan ion keluar sel yang dapat mengakibatkan kematian sel. Beberapa jenis antimikroba seperti imidazole bekerja dengan cara menghambat biosintesis ergosterol. Sedangkan yang lainnya dengan mekanisme berikatan dengan membran sterol yaitu pada jenis antimikroba polimiksin, amphoterasin B dan nistatin (Carrol *et al.*, 2013).

2.3.1.4 Menghambat Sintesis Dinding Sel

Antimikroba dengan mekanisme menghambat sintesis dinding sel bertujuan untuk membuat sel bakteri tersebut mudah lisis karena rusaknya dinding sel yang menyebabkan kenaikan tekanan osmotik pada sitoplasma. Penisilin, cephalosporin, aztreonam dan imipenem dapat menghambat sintesis dinding sel

dengan menghambat cross-linking peptidoglikan dengan menginaktifkan transpeptida (PBPs). Antimikroba vankomisin dan teikoplanin akan berikatan dengan D-ala-D-ala terminal dan mencegah pertumbuhan peptidoglikan. Menghambat sintesis dinding sel juga dapat dilakukan dengan menghambat transglukosilasi, menghambat deospolirasi dari karier pospolipid dalam struktur peptidoglikan. Selain itu dapat dilakukan dengan cara mencegah inkorporasi D-alanin ke dalam peptidoglikan (Carrol et al.,2013).

2.3.2 Uji Kepekaan Antimikroba

Perkembangan pengujian terhadap kepekaan antimikroba telah dimulai ketika WHO memprakarsai pertemuan di Jenewa pada tahun 1977. Kejadian kasus resistensi terhadap suatu antimikroba yang semakin meluas memicu adanya pengawasan yang lebih baik untuk memantau adanya resistensi antimikroba dengan menggunakan metode yang tepat. Metode yang tepat yang dapat membantu tenaga medis dalam menentukan pengobatan yang tepat (Soleha,2015).

Uji kepekaan antimikroba dapat menggunakan metode Kadar Hambat Minimal (KHM) atau *Minimum Inhibitory Concentration (MIC)* dan Kadar Bunuh Minimal (KBM) atau *Minimum Bactericida Concentration (MBC)*. Metode KHM digunakan untuk mengukur konsentrasi antibakteri minimal yang diperlukan untuk dapat menghambat terjadinya pertumbuhan inokulum standar dalam keadaan tertentu (bakteriostatik). Sedangkan metode KBM digunakan untuk mengukur konsentrasi minimal yang diperlukan untuk dapat membunuh bakteri (bakteriosidal). KHM dapat dilihat dari tabung kultur yang tetap jernih yang berarti tidak ada pertumbuhan mikroba. Nilai KBM dapat diketahui dari pengkulturan ulang tabung tersebut pada media padat tanpa antimikroba yang ditandai dengan

adanya pengurangan jumlah koloni hingga 99,9% dibawah control (Carroll *et al.*, 2013). Uji kepekaan antimikroba dapat dilakukan dengan dua metode yaitu:

2.3.2.1 Metode Difusi

2.3.2.1.1 Metode Difusi Cakram

Penggunaan metode difusi cakram dapat digunakan untuk melihat tingkat kepekaan sesuai dengan kategori yang telah ditentukan (peka, sedang, dan resisten). Pada kertas saring yang bebentuk cakram ditetesi dengan antimikroba kemudian diletakkan pada media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri. Akan terjadi absorpsi dari antrimikroba pada media tersebut yang akan menghambat pertumbuhan bakteri. Zona bersih yang muncul dari koloni bakteri disebut zona inhibisi.

Media agar yang digunakan adalah agar Mueller-Hinton. Proses persiapan media mirip dengan metode dilusi agar, yakni dilakukan proses *autoclaving* kemudian dibiarkan di air hangat bersuhu 45-50°C dan dituangkan ke dalam cawan petri. Kedalamannya diatur 4 mm tidak boleh kurang atau lebih untuk menghindari hasil resisten/kepekaan palsu. Tingkat pH antara 7,2 – 7,4 pada suhu ruangan. Media yang telah siap dapat langsung digunakan atau disimpan dalam wadah tertutup pada suhu 2-8°C. Inokulasi dilakukan menggunakan *swab* kapas steril. Kemudian kapas dioleskan ke salah satu sisi media beberapa kali, putar cawan petri dengan sudut 60° dan lakukan olesan lagi hingga terdapat 3 sisi media yang terinokulasi. Dalam waktu 15 menit setelah inokulasi, cakram yang berisi antibakteri diletakkan pada permukaan agar menggunakan forcep steril. Pada cawan petri berdiameter 150 mm dapat diletakkan cakram hingga 12 buah, dan pada diameter 100 mm dapat diletakkan maksimal 5 buah. Inkubasi kemudian dilakukan pada suhu 35°C tidak lebih dari

15 menit sejak cakram diletakkan. Lama inkubasi berkisar antara 16-18 jam. Inkubasi selama 24 jam dilakukan untuk uji kepekaan vancomycin dan oxacillin pada bakteri enterococcus dan staphylococcus (Jorgensen, 2015).

2.3.2.1.2 Metode Difusi Sumuran

Metode difusi sumuran dilakukan dengan cara membuat lubang pada media agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri yang akan diuji. Jumlah dan letak lubang sumuran disesuaikan dengan tujuan dari penelitian. Kemudian pada lubang diinjeksikan dengan ekstrak yang diuji dengan jumlah yang ditentukan. Setelah dilakukan inkubasi selama 18 – 24 jam pada suhu 37°C. Setelah dilakukan inkubasi, akan terlihat pertumbuhan bakteri yang diamati dengan melihat ada atau tidaknya zona hambatan disekitar lubang sumuran. Zona inhibisi yang terbentuk diukur dengan mengurangi diameter total zona dan lubang sumuran dengan diameter lubang sumuran yang digunakan (Dewi, 2010).

2.3.2.2 Metode Dilusi

Metode dilusi digunakan untuk mengukur KHM atau KBM. Media yang digunakan dapat berupa media agar (dilusi agar) atau media kaldu (dilusi cair).

2.3.2.2.1 Dilusi Agar

Dilusi agar menggunakan media agar Mueller-Hinton. Agar dimasukkan ke dalam tabung, kemudian disterilkan dengan *autoclaving* pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah itu dibiarkan pada air hangat bersuhu 48-50°C hingga mencapai keseimbangan. Larutan antibakteri yang akan diuji kemudian dimasukkan bersamaan dengan suplemen tambahan (misalnya darah kuda terdefibrinasi 5% untuk pengujian dengan streptococcus). Agar kemudian dituangkan ke cawan petri dan dibiarkan mengeras. Selain media yang berisi

berbagai konsentrasi larutan antibakteri, disediakan juga media tanpa antibakteri sebagai kontrol. Media agar disimpan dalam kantong plastik tertutup pada suhu 4-5°C dan sebaiknya segera digunakan dalam waktu 5 hari. Inokulasi dilakukan dengan memasukkan suspensi mikroorganisme ke permukaan agar menggunakan pipet. Proses inokulasi harus disamakan untuk mencegah besar inokulum yang berbeda-beda. Besar inokulum akhir yang direkomendasikan adalah 10^4 CFU per titik. Media agar kemudian diinkubasi pada suhu 35°C selama 16-20 jam dan dilihat hasilnya (Jorgensen, 2015).

2.3.2.2.1.1 Dilusi Cair

Metode ini menggunakan media kaldu Mueller-Hinton dengan kation disesuaikan (*Cation-adjusted Mueller-Hinton Broth/CAMHB*). Proses persiapan dilusi mirip seperti metode dilusi agar, namun media tidak perlu dituangkan ke dalam cawan petri. Tabung kemudian ditutup rapat dan disimpan pada suhu 4-8°C dan sebaiknya segera digunakan dalam waktu 5 hari. Selanjutnya dilakukan inokulasi dengan besar inokulum akhir yang direkomendasikan adalah 5×10^5 CFU/mL. Inkubasi dilakukan pada suhu 35°C selama 16-20 jam dan dilihat hasilnya. Inkubasi dapat diperpanjang hingga 24 jam untuk mendeteksi *Enterococcus* atau *Staphylococcus* yang resisten vancomycin (Jorgensen, 2015).

2.4 Ekstraksi

Metode ekstraksi digunakan untuk mendapatkan suatu senyawa kimia yang terdapat pada suatu sampel yang akan digunakan. Ada beberapa jenis metode ekstraksi yang sering digunakan seperti metode ekstraksi Soxhletasi, perkolasi, maserasi, refluks, dan penyulingan.

2.4.1 Metode ekstraksi soxhletasi

Proses ekstraksi ini menggunakan proses pemanasan, penguapan dan pendinginan. Dimana cairan penyari akan dipanaskan hingga mendidih lalu uap dari cairan penyari tersebut akan diembunkan oleh pendingin tegak. Embun tersebut akan turun untuk menyari zat aktif pada sampel. Kemudian apabila cairan penyari mencapai sifon, cairan tersebut akan turun ke labu alas bula untuk disirkulasi kembali. Proses tersebut dapat berulang-ulang hingga zat aktif pada sampel tersari seluruhnya yang diketahui dengan jernihnya cairan yang melewati sifon (Fitokimiaumi,2009).

2.4.2 Metode ekstraksi perkolasi

Proses ini menggunakan cara membasahi atau merendam sampel yang akan diekstraksi dengan cairan penyari. Pertama-tama sampel dibasahi sesuai dengan derajat halus yang cocok dan dimasukkan dibejana tertutup selama 3jam. Selanjutnya massa tersebut dipindahkan kedalam percolator dan disimpan selama 24 jam. Setelah itu difiltrasi, dan hasil dari filtrasi tersebut disimpan dalam keadaan tertutup selama 2 hari dan harus terhindar dari cahaya (Fitokimiaumi,2009).

2.4.3 Metode ekstraksi maserasi

Proses ekstraksi ini menggunakan teknik pemerasan, dimana sampel dimasukkan kedalam bejana dan diisi dengan cairan penyari 75 bagiannya, lalu ditutup dan disimpan selama 5 hari. Sampel tersebut disimpan dalam ruangan yang terlindung dari cahaya. Sampel diaduk setiap harinya lalu diperas, dan ampasa dari perasannya dimaserasi kembali dengan penyari seperti semula.

Hasil terakhir disimpan dalam bejana tertutup dan terlindung dari cahaya selama 2 hari, lalu endapannya dipisahkan (Fitokimiaumi,2009).

2.4.4 Metode ekstraksi refluks

Proses ini pada dasarnya adalah proses ekstraksi yang berkesinambungan. Sampel yang akan diekstraksi direndam dengan cairan penyari kemudian dipanaskan hingga mendidih. Cairan penyari yang menguap akan diembunkan oleh pendingin tegak sehingga embun tersebut turun dan menyari sampel, demikian seterusnya. Proses ini bisa dilakukan 3 kali dan setiap kali diekstraksi membutuhkan waktu selama 4 jam (Fitokimiaumi,2009).

2.4.5 Metode ekstraksi penyulingan

Proses ini biasanya digunakan pada sampel yang mempunyai titik didih yang tinggi pada tekanan udara yang normal. Proses ini digunakan untuk mencegah kerusakan zat aktif dari sampel jika diekstraksi dengan metode pemanasan biasa (Fitokimiaumi,2009).