

**UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA EKSTRAK ETANOL DAUN  
SIRIH HUTAN (*Piper aduncum* L.)**

**SKRIPSI**



**Oleh:**

**DYAH KOMALA PUTRI**

**NIM : 1804186**

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA  
PADANG  
2024**

## ABSTRAK

Sirih hutan (*Piper aduncum* L.) merupakan herba yang mudah ditemukan sebagai tumbuhan liar diketahui memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid, tannin, steroid, fenolik dan alkaloid. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antimikroba ekstrak etanol daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* serta jamur *Candida albicans* serta konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) ekstrak. Metode yang digunakan pada uji aktivitas adalah metode Kirby-Bauer dan pada uji KHM dan KBM menggunakan metode pengukuran *optical density* (OD) menggunakan spektrofotometer UV/Vis. Hasil pengujian aktivitas antimikroba terhadap bakteri *Escherichia coli* memiliki rata-rata zona hambat terbesar pada konsentrasi 20% (7,86 mm) yang termasuk kategori lemah. Sedangkan pada *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans* konsentrasi ekstrak 80% memiliki rata-rata zona hambat terbesar berurutan yaitu 12,72 mm dan 18,54 mm yang termasuk kategori sedang. Pengujian konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak terhadap mikroba uji menunjukkan pada ketiga mikroba uji didapatkan KHM nya adalah konsentrasi ekstrak 10%. pengujian kemudian dilanjutkan dengan konsentrasi bunuh minimum (KBM) tidak terdapat hasil karena semua konsentrasi pada semua mikroba uji menunjukkan pertumbuhan mikroba.

Kata kunci: Daun Sirih Hutan, *Piper aduncum* L., Ekstrak Etanol, Aktivitas Antimikroba, KHM, KBM

## ABSTRACT

Forest betel (*Piper aduncum* L.) is a herb that is easily found as a wild plant known to contain secondary metabolite compounds, namely flavonoids, tannins, steroids, phenolics and alkaloids. The purpose of this study was to determine the antimicrobial activity of ethanol extract of forest betel leaves (*Piper aduncum* L.) against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria and *Candida albicans* fungi as well as the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bacteriside concentration (MBC) of the extract. The method used in the activity test is the Kirby-Bauer method and in the MIC and MBC tests using the optical density (OD) measurement method using a UV / VIS spectrophotometer. The results of testing antimicrobial activity against *Escherichia coli* bacteria have the largest average inhibition zone at a concentration of 20% (7.86 mm) which is included in the weak category. While in *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*, the 80% extract concentration has the largest average inhibition zone, 12.72 mm and 18.54 mm respectively, which is included in the moderate category. Testing the minimum inhibitory concentration (MIC) of the extract against the test microbes showed that in all three test microbes the MIC was obtained at a concentration of 10% extract. testing then continued with the minimum bacteriside concentration (MBC) there were no results because all concentrations on all test microbes showed microbial growth.

Keywords: Forest Betel Leaf, *Piper aduncum* L., Ethanol Extract, Antimicrobial Activity, MIC, MBC

## **BAB I. PENDAHULUAN**

### **1.1. Latar Belakang**

Berdasarkan data dari *World Health Organization* (WHO) (2021) tingkat resistensi terhadap ciprofloxacin, antibiotik yang biasa digunakan untuk mengobati infeksi saluran kemih, bervariasi dari 8,4% hingga 92,9% untuk *Escherichia coli* dan dari 4,1% hingga 79,4% untuk *Klebsiella pneumoniae* di negara-negara yang melaporkan kepada *Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance* (GLASS). Sementara itu di Indonesia menurut data dari *Antimicrobial Resistant in Indonesia* (AMRIN-Study) dari 2.494 sampel individu di masyarakat, 43% *Escherichia coli* telah resisten terhadap berbagai jenis antibiotik seperti ampisilin, kotrimoksazol dan kloramfenikol (Menkes, 2011). Adanya peningkatan kasus resistensi dari tahun ketahun mendorong ilmuwan di berbagai negara untuk menyelidiki dan menemukan sumber baru yang memiliki kemampuan antibakteri yang lebih baik dan dapat mengatasi bakteri yang sudah resistan. Salah satu usahanya yaitu mengeksplorasi sumber antimikroba baru dari tanaman yang ada disekitar dan diketahui telah dimanfaatkan secara turun-temurun sebagai obat tradisional di daerah tertentu.

Tanaman sirih hutan (*Piper aduncum* L.) merupakan semak dan pohon tahan naungan yang berasal dari Hindia Barat dan Amerika tropis. Tanaman ini kemudian diperkenalkan ke Indonesia khususnya pulau jawa sekitar tahun 1860an sebagai spesies tanaman hias lalu dinaturalisasi dan menjadi tanaman invasif. (Padmanaba, 2022). Di daerah asalnya, tanaman ini memiliki nilai ekonomi yang tinggi karena minyak atsiri nya digunakan sebagai insektisida (Morais *dkk*, 2023).

Merujuk pada penelitian yang dilakukan Pohlit (2006) dalam Morais *dkk*, (2023) diketahui ekstrak, fraksi maupun senyawa aktif sirih hutan (*Piper aduncum* L.) yang tumbuh di Brazil memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri gram positif maupun gram negatif bahkan ampuh terhadap *Neisseria gonorrhoeae*. Pada penelitian yang lain juga diketahui tanaman sirih hutan yang diambil di Kuba memiliki aktivitas anti protozoa yang tinggi terhadap *Plasmodium falciparum* (Monzote *dkk*,2017).

Penelitian yang dilakukan oleh Junior *dkk* (2012) melakukan analisis minyak atsiri daun sirih hutan berhasil mengidentifikasi 23 zat berbeda, termasuk monoterpen (90,4%) dan seskuiterpen (7,0%), komponen utama dicirikan sebagai 1,8-cineole (53,9%). Minyak atsiri menunjukkan aktivitas antibakteri yang signifikan terhadap Gram-positif, *S. epidermidis* dan *S. aureus*, dan terhadap jamur, *C. albicans* (MIC 100 µg/ml). Dilaporkan bahwa 1,8-cineole menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *K. pneumoniae*, *E. coli*, *Salmonella enteritidis*, *S. aureus*. Sebagian besar monoterpen menunjukkan aktivitas antibakteri yang kuat. Potensiator obat antibakteri seperti streptomisin, gentamisin, nafsillin, tobramisin dan amikasin, 75% adalah monoterpen dan diterpen. Selain itu  $\alpha$ -terpineol,  $\alpha$ -pinene dan linalool terbukti mempunyai aktivitas antibakteri pada *E. coli* (Moo, 2021).

Penelitian terhadap bioaktivitas tanaman sirih hutan yang tumbuh di Indonesia belum terlalu banyak. Pemanfaatan yang telah banyak diuji yaitu sebagai insektisida pada industri pertanian. Penelitian yang dilakukan Hallianah *dkk* (2019) menunjukkan aktivitas antimikroba ekstrak etanol dari daun sirih hutan terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yang ditandai dengan adanya zona hambat sebesar 14 mm pada konsentrasi ekstrak 60%. Penelitian lain yang dilakukan oleh Safriana *dkk*

(2019) menunjukkan adanya zona hambat dari ekstrak etanol daun sirih hutan konsentrasi 75% terhadap bakteri *Streptococcus mutans* sebesar 13,1 mm.

Peneliti tertarik melakukan penelitian tentang uji aktivitas antimikroba ekstrak etanol tanaman sirih hutan (*Piper aduncum* L.) yang tumbuh di kepulauan Mentawai terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans* dengan metode difusi cakram dan dilusi. *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* adalah bakteri yang dapat ditemukan secara alami pada manusia, namun dapat juga mengakibatkan infeksi dan penyakit pada manusia dan sudah banyak diketahui mengembangkan resistensi terhadap antibiotik yang sudah ada (WHO, 2021). Jamur *candida* juga hidup di kulit dan beberapa bagian tubuh manusia seperti di mulut, usus dan vagina dan tidak menyebabkan penyakit. Namun ketika jumlahnya melebihi batas normal atau masuk ke aliran darah, jamur *candida* dapat menyebabkan infeksi (CDC, 2020). Pemilihan *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans* sebagai mikroba uji didasarkan pada kemudahan akses, dapat tumbuh di medium yang relatif murah, tidak membentuk agregat, pengetahuan yang luas terhadap genetiknya, beberapa strain khususnya dari *Escherichia coli* dianggap aman secara hayati (Idalia & Bernardo, 2016).

## **1.2. Rumusan Masalah**

1. Apakah ekstrak etanol daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) mempunyai aktivitas antimikroba terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*?

2. Berapakah Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*?
3. Berapakah Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*?

### **1.3. Tujuan Penelitian**

1. Mengetahui aktivitas antimikroba ekstrak etanol daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*.
2. Mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*.
3. Mengetahui Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*.

### **1.4. Manfaat Penelitian**

Memberikan informasi ilmiah mengenai aktivitas antimikroba ekstrak etanol tanaman sirih hutan (*Piper aduncum* L.) yang tumbuh di Indonesia terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*.



## BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Tinjauan Tanaman Sirih Hutan (*Piper aduncum* L.)

#### 2.1.1. Klasifikasi Tanaman Sirih Hutan (*Piper aduncum* L.)



**Gambar 1. Tanaman Sirih Hutan (University of Florida, 2019)**

Domain : Eukaryota

Kingdom : Plantae

Phylum : Spermatophyta

Subphylum : Angiospermae

Class : Dicotyledonae

Order : Piperales

Family : Piperaceae

Genus : Piper

Species : *Piper aduncum* L. (Padmanaba,2022)

#### 2.1.2. Nama Lain

- a. Nama daerah : seuseureuhan (sunda), sirihan, suruhan

- b. Nama asing : *spiked pepperbush* (Inggris), *cordoncillo* (Spanyol), *pimenta-de-macaco* (Portugis), *aperta-ruao* (Brazil), *platanillo de cuba* (Kuba), *yaqona ni onolulu* (Fiji), *cordoncillo blanco* (Meksiko) (Padmanaba, 2022)

### **2.1.3. Daerah Asal**

*Piper aduncum* berasal dari Hindia Barat (subwilayah Amerika Utara, dikelilingi oleh Samudra Atlantik Utara dan Laut Karibia) dan Amerika tropis. Negara-negara di wilayah asalnya termasuk Meksiko, Barbados, Belize, Bolivia, Brasil, Kolombia, Kosta Rika, Kuba, Dominika, Ekuador, El Salvador, Guyana Prancis, Grenada, Guatemala, Guyana, Honduras, Jamaika, Martinik, Nikaragua, Panama, Peru, Puerto Riko, St. Vincent dan Grenadines, Suriname dan Venezuela (Starr *dkk*, 2003).

*Piper aduncum* juga banyak ditemukan di luar daerah asalnya di Florida selatan, Puerto Riko, Malaysia, Indonesia, Filipina, Papua Nugini, Kepulauan Solomon, Vanuatu, Fiji, Hawaii, Mikronesia, Samoa Amerika, Niue, Mariana, Tonga, Samoa, Kepulauan Cook dan Palau (Hartemink, 2010). Distribusi *P. aduncum* di Asia Tenggara diperkirakan lebih luas dibandingkan dengan yang dilaporkan dalam literatur yang dipublikasikan.

### **2.1.4. Morfologi**

Catatan paling awal *Piper aduncum* di Asia terdapat di Kebun Raya Bogor, Jawa Barat, Indonesia pada tahun 1860-an, sebagai tanaman hias (Rogers & Hartemink, 2000; Hartemink, 2010). Pada tahun 1920-an, *Piper aduncum* telah

menyebar secara dramatis dari titik ini hingga radius hingga 100 km (Hartemink, 2010).

Akar tunggang berwarna putih kecokelatan. Batang berkayu, bentuk bulat telur, ujung runcing, pangkal membulat, tepi rata pada setiap buku, tangkai berbulu halus. Daun berwarna hijau muda, pertulangan menjari, panjang daun 10-14 cm lebar 5-6 cm. Bunga majemuk, bentuk buli, berkelamin satu atau dua, benang sari pendek, kepala putik pendek, putih, putih kekuningan. Buah buni, bertangkai pendek, panjang bulir 12-14 cm, masih muda berwarna kuning kehijauan, setelah tua berwarna hijau. Biji kecil berwarna coklat. (Kinho & Arini, 2011).

#### **2.1.5. Senyawa Kimia**

Komposisi kimia minyak atsiri dalam berbagai penelitian menunjukkan dua kelompok besar yaitu fenilpropanoid dan monoterpen. Menurut Salehi *dkk* (2019), genus Piper diketahui merupakan sumber minyak atsiri dan tanaman Piper mungkin mengandung minyak atsiri yang berbeda-beda dari beberapa organ dan jaringan seperti biji, daun, buah, cabang, batang, dan akar.

Studi mengenai komposisi minyak atsiri dari spesies Piper yang berbeda menemukan sembilan kemotipe yang dicirikan oleh 1,8-*cineole*, (E)-*nerolidol*, *dillapiole* dan *asaricin*. *Dillapiole* hampir selalu menjadi komponen utama yang menjadi ciri minyak, diikuti oleh *miristisin*. *Dillapiole* adalah komponen yang paling banyak dikutip dan memiliki sifat yang paling menjanjikan, namun yang penting *dillapiole* menunjukkan aktivitas yang lebih baik sebagai komponen keseluruhan

minyak atsiri dibandingkan sebagai senyawa terisolasi. Karena variabilitas ini, jumlah *dillapiole* berkisar antara 9,20% hingga 94,84%, meskipun beberapa penelitian melaporkan bahwa *dillapiole* mewakili lebih dari 70% total komposisi minyak atsiri (Durofil *dkk.*, 2021)..

#### **2.1.6. Bioaktivitas**

Ekstrak dari *Piper aduncum* terbukti memiliki berbagai efek farmakologis, termasuk antiparasit, antimikroba, insektisida, antitumor, dan sifat antikanker, dapat menyembuhkan banyak penyakit dan kanker (Lucena *dkk.*, 2017; Mee *dkk.*, 2009; Monzote *dkk.*, 2017).

Sebuah studi menemukan bahwa minyak atsiri *Piper aduncum* memiliki aktivitas antimikroba yang kuat terhadap banyak mikroorganisme umum yang menyebabkan luka terinfeksi, seperti *Staphylococcus epidermis*, *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Dalam sebuah penelitian, nilai MIC senyawa terisolasi untuk *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, dan *Staphylococcus aureus* dilaporkan lebih dari 100 µg/mL (Okunade *dkk.*, 1997).

#### **2.2. Ekstraksi**

Ekstraksi adalah penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Simplisia yang diekstrak mengandung senyawa aktif yang dapat larut dan senyawa yang tidak dapat larut seperti serat, karbohidrat, protein dan lain-lain. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan minyak atsiri,

alkaloid, flavonoid dan lain-lain. Dengan diketahuinya senyawa aktif yang terkandung dalam simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (Depkes RI, 2000).

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI, 2000).

Ada beberapa cara metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut yaitu :

#### 1) Cara Dingin

- a. Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur kamar. Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya.
- b. Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (exhaustive extraction) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Prosesnya terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahapan maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan (Depkes RI, 2000).

#### 2) Cara Panas

- a. Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga proses ekstraksi sempurna.
- b. Soxhletasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstrak kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.
- c. Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur kamar, yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50 C.
- d. Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air 96-98 C (bejana infus tercelup dengan penangas air mendidih selama 15-20 menit).
- e. Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama ( $\geq 30$  C) dan temperatur sampai titik didih air (Depkes RI, 2000).

### **2.3. Parameter Dan Metode Uji Ekstrak**

#### **2.3.1. Parameter Non Spesifik**

1. Kadar air

Parameter kadar air adalah pengukuran kandungan air yang berada di dalam bahan, dilakukan dengan cara yang tepat diantara cara titrasi, destilasi atau gravimetri (Depkes RI, 2000).

2. Kadar abu

Parameter kadar abu adalah bahan dipanaskan pada temperatur dimana senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap. Sehingga tinggal unsur mineral dan anorganik. Tujuannya adalah memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak (Depkes RI, 2000).

### **2.3.2. Parameter Spesifik**

#### **1. Identitas**

Parameter identitas ekstrak deskripsi tata nama yaitu nama ekstrak, nama latin tumbuhan dan bagian tumbuhan yang digunakan dan ekstrak dapat mempunyai senyawa identitas. Tujuannya adalah untuk memberikan identitas obyektif dari mana dan spesifik dari senyawa identitas.

#### **2. Organoleptik**

Parameter organoleptik ekstrak adalah penggunaan panca indera mendeskripsikan bentuk (padat, serbuk-kering, kental, cair), warna, bau (aromatik, tidak berbau), dan rasa (Depkes RI, 2000).

## **2.4. Mikroba Uji**

### **2.4.1. Bakteri Escherichia coli**

Klasifikasi *Escherichia coli* (*E.coli*) sebagai berikut (Sumampouw, 2019):

Domain : Bacteria  
Filum : Proteobacteria  
Class : Gamma Proteobacteria  
Ordo : Entrobacteriales

Family : Enterobacteriaceae  
Genus : Escherichia  
Spesies : *Escherichia coli*

*E.coli* merupakan bakteri yang hidup dalam saluran pencernaan hewan berdarah panas termasuk hewan menyusui dan burung-burung. Bakteri ini pertama kali diisolasi pada tahun 1885 oleh Theodor Escherich dan dinamai sesuai dengan nama penemunya. Klasifikasi bakteri menurut *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, volume I section 5*, family *Enterobacteriaceae* memiliki 14 genera, yaitu *Escherichia, Shigella, Citrobacter, Klebsiella, Enterobacter, Erwinia, Serratia, Hafnia, Edwardiella, Proteus, Providencia, Morganella* dan *Yersinia* (Sumampouw, 2019).

*E. coli* merupakan bakteri gram negative berbentuk batang. Sel *E. coli* memiliki ukuran panjang 2,6-6,0 mikro dan diameter 1,1-1,5 mikro, tunggal atau berpasangan dan bersifat non motil atau motil dengan peritrikus flagella. Beberapa galur *E. coli* bersifat aerogenik dan kebanyakan dapat melakukan fermentasi terhadap laktosa, hanya beberapa yang tidak dapat melakukannya, atau melakukannya secara lambat. Jumlah guanin dan cytosine (G+C) dari DNA adalah 50-51 mol% (Sumampouw, 2019).

Pertumbuhan optimum *E. coli* pada pH 7,0-7,5 dan kisaran pH pertumbuhan 4,0-9,0. Pertumbuhan *E. coli* dalam keju paling tinggi dipengaruhi oleh pH, kemudian diikuti oleh konsentrasi garam NaCl dan temperatur. Pertumbuhan patogenik *E. coli* berkisar pada pH 4,4-8,5. *E. coli* sangat sensitif terhadap panas dan dapat diinaktifkan

pada temperatur pasteurisasi atau selama pemasakan makanan. Kisaran temperatur pertumbuhan berkisar antara 10 -11°C. Temperatur minimum untuk pertumbuhan *E. coli* ada yang mencapai 4°C. Temperatur pertumbuhan *E. coli* patogen berkisar pada 10-48°C dengan temperatur optimum 37°C (Sumampouw, 2019).

#### 2.4.2. Bakteri *Staphylococcus aureus*

Klasifikasi *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) sebagai berikut (Soedarto, 2015):

Domain	: Bacteria
Kingdom	: Eubacteria
Phylum	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Famili	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Species	: <i>Staphylococcus aureus</i>

Bakteri *Staphylococcus* adalah bakteri berbentuk bulat dimana koloni mikroskopik cenderung berbentuk menyerupai buah anggur. Menurut bahasa Yunani, *Staphyle* berarti anggur dan *coccus* berarti bulat atau bola. Salah satu spesies menghasilkan pigmen berwarna kuning emas sehingga dinamakan aureus (berarti emas, seperti matahari). Bakteri ini dapat tumbuh dengan atau tanpa bantuan oksigen (Radji, 2016).

*Staphylococcus aureus* bersifat koagulasi positif, yang membedakannya dari spesies lain. *Staphylococcus aureus* merupakan patogen utama untuk manusia. Hampir setiap orang akan mengalami beberapa jenis infeksi *Staphylococcus aureus*

sepanjang hidup, dengan kisaran keparahan dari keracunan makanan atau infeksi kulit minor hingga infeksi berat yang mengancam jiwa (Jawetz *dkk*, 2014).

### 2.4.3. Jamur *Candida albicans*

Klasifikasi jamur *Candida albicans* sebagai berikut :

Domain : Eukariotik  
Phylum : Ascomycota  
Class : Saccharomycetes  
Order : Saccharomycetales  
Family : Saccharomycetaceae  
Genus : *Candida*  
Species : *Candida albicans*

Dideskripsi pertama pada tahun 1839 oleh *Langenbeck*. Berasal dari bahasa latin *candidus*, berarti 'putih berkilau' dan *albicare*, yang berarti 'memutihkan', menunjukkan eksudat putih pada permukaan mukosa yang terinfeksi. *C. albicans* hidup sebagai flora normal pada hewan berdarah panas. Jamur ini dapat ditularkan dari ibu ke bayi baru lahir dan melalui infeksi nosokomial. Sekitar 30–70% individu sehat membawa setidaknya satu spesies *Candida* secara komensal. Namun, jamur ini dapat menyebabkan infeksi sistemik pada individu dengan sistem kekebalan yang lemah (Gow dan Yadav, 2017)

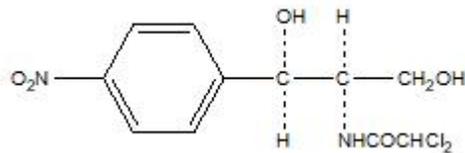
*Candida albicans* termasuk keluarga Candidaceae, berkapsul dan diploid, merupakan jamur polimorfik karena dapat muncul sebagai ragi atau bentuk pseudohyphal tergantung pada suhu, pH, dan nutrisi. Bentuk ragi dengan tunas blastoconidia adalah yang paling umum, dan bentuk pseudohifa tidak memiliki

bentuk struktural yang tepat seperti dinding paralel dan septasi hifa sejati, yang berbentuk seperti tunas dan dapat mengembangkan klamidospora berdinding tebal. Reproduksi aseksual terjadi dengan cara bertunas dan membentuk blastoconidia. Koloni muncul dalam waktu 48-72 jam ketika dikultur pada media jamur seperti agar glukosa Sabourand pada suhu 37°C. Koloni aslinya berkerut, yang kembali menjadi koloni halus ketika disubkultur (Public Health Agency of Canada, 2014)

## 2.4. Antimikroba pembeding

### 2.5.1. Kloramfenikol

Karakteristik kloramfenikol digunakan sebagai antibakteri pembeding adalah sebagai berikut:



**Gambar 2. Rumus Struktur Kloramfenikol (Kemenkes RI, 2023)**

#### 2.5.1.1. Rumus Kimia

C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (Kemenkes RI, 2023).

#### 2.5.1.2. Nama Lain

D-treo-(-)-2,2-Dikloro-N-[β-hidroksi-α-(hidroksimetil)-p-nitrofenetil] asetamida (Kemenkes RI, 2023).

### **2.5.1.3. Pemerian**

Hablur halus berbentuk jarum atau lempeng memanjang; Putih hingga putih kelabu atau putih kekuningan; Larutan praktis netral terhadap lakmus P; stabil dalam larutan netral atau larutan agak asam (Kemenkes RI, 2023)

### **2.5.1.4. Kelarutan**

Sukar larut dalam air; mudah larut dalam etanol, dalam propilen glikol, dalam aseton dan dalam etil asetat (Kemenkes RI, 2023).

### **2.5.1.5. pH**

Antara 4,5 dan 7,5 (Kemenkes RI, 2023).

### **2.5.1.6. Wadah dan Penyimpanan .**

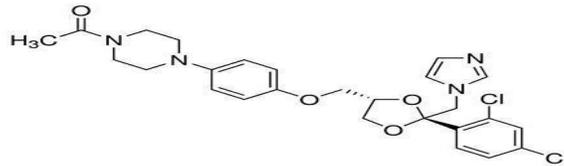
Dalam wadah tertutup rapat. Simpan ditempat sejuk dan kering (Kemenkes RI, 2023).

Kloramfenikol adalah antibiotik yang bersifat bakterostatik dan mempunyai spectrum luas. Kloramfenikol pertama kali diisolasi dari *Streptomyces venezuelae*, sekarang telah dapat dibuat melalui sintesis total, yang metodenya relative lebih sederhana dan biayanya lebih murah dibanding cara ekstraksi media fermentasi. Kloramfenikol efektif terhadap riketsia dan konjungtivitis akut yang disebabkan oleh mikroorganisme, termasuk *Pseudomonas sp.* kecuali *Pseudomonas aeruginosa*. Senyawa juga efektif untuk pengobatan infeksi berat yang disebabkan oleh bakteri Gram positif dan Gram negatif, seperti *Bacteroides fragilis*, *Haemophilus influenza*,

*Neisseria meningitides* dan *Streptococcus pneumonia*, yang telah kebal terhadap turunan penisilin (Siswandono, 2016).

### 2.5.2. Ketokonazol

Karakteristik ketokonazol yang digunakan sebagai antijamur pembeding adalah sebagai berikut:



**Gambar 3. Rumus Struktur Ketokonazol (Kemenkes RI, 2023)**

#### 2.5.1.1. Rumus Kimia

$C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$  (Kemenkes RI, 2023).

#### 2.5.1.2. Nama Lain

(±)-cis-1-Asetil-4-(4-[(2-[2,4-diklorofenil]-2-[1H-imidazol-1-ilmetil]-1,3-dioksolan-4-yl)-metoksi] fenil) piperazina (Kemenkes RI, 2023).

#### 2.5.1.3. Pemerian

Berupa serbuk putih atau hamper berwarna putih (Kemenkes RI, 2023)

#### 2.5.1.4. Kelarutan

Praktis tidak larut dalam air; dapat larut dalam alkohol, dalam dikolorometan; dan larut dalam metil alkohol (Kemenkes RI, 2023).

#### **2.5.1.5. pH**

6,51 (Kemenkes RI, 2023).

#### **2.5.1.6. Wadah dan Penyimpanan .**

Dalam wadah tertutup rapat. Simpan ditempat sejuk dan kering (Kemenkes RI, 2023).

Ketokonazol merupakan kelompok azol pertama yang digunakan secara klinis dan diberikan secara oral. Obat ini mempunyai spektrum yang luas dan efektif terhadap spesies *Candida albicans*. Mekanisme kerja obat ketokonazol bekerja dengan cara menghambat biosintesis ergosterol (sterol utama) untuk mempertahankan integritas pada membran sel jamur dan dengan cara menghambat enzim sitokrom yang mengakibatkan terjadinya penghancuran jamur (Katzung, 2018)

### **2.6. Antimikroba**

Antimikroba adalah suatu senyawa atau agen yang dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan suatu mikroorganisme dan terutama mikroorganisme patogen manusia (Syarif *dkk*, 2007). Agen senyawa antimikroba dapat digolongkan menurut jasad renik yang dibasmi, yaitu antibiotik, antivirus, antifungi, antiprotozoa dan antihelminthes. Berdasarkan cara kerjanya terhadap bakteri, antibakteri dapat digolongkan menjadi dua, yaitu (Dzen & Sjoekoer. M, 2003):

1. Bakterisidal, efek ini membunuh sel bakteri tetapi tidak menyebabkan sel lisis atau pecah. Hal ini ditunjukkan dengan ditambahkannya antimikrobia pada

kultur mikrobial yang masih berada pada fase logaritmik, didapatkan bahwa jumlah sel total tetap, namun jumlah sel hidup berkurang.

2. Bakteriostatik, efek ini dapat menghambat pertumbuhan bakteri namun tidak membunuhnya, efek ini menghambat sintesis protein atau mengikat ribosom. Hal ini ditunjukkan dengan ditambahkan antimikrobia pada kultur mikrobial yang masih berada pada fase logaritmik, didapatkan bahwa jumlah sel total maupun jumlah sel hidup masih tetap.

### **2.6.1. Mekanisme Kerja Antimikroba**

Menurut Jawetz (2014), mekanisme kerja antibakteri dapat dilakukan dengan empat cara yaitu:

1. Penghambatan sintesis dinding sel

Sel bakteri dikelilingi oleh suatu struktur kaku yang disebut dinding sel, yang melindungi protoplasma dibawahnya. Setiap zat yang mampu merusak dinding sel atau mencegah sintesisnya, menyebabkan terbentuknya sel-sel yang peka terhadap tekanan osmosis.

2. Penghambatan sintesis protein

Sintesis protein merupakan hasil akhir dari dua proses utama, yakni transkripsi (sintesis asam ribonukleat) dan translasi (sintesis protein yang RNA- dependent). Antibakteri yang dapat menghambat salah satu dari proses tersebut dapat menghambat sintesis protein. Salah satu mekanisme penghambatan sintesis protein dilakukan adalah dengan menghambat perlekatan tRNA dan mRNA ke ribosom.

### 3. Perubahan fungsi membran plasma

Membran sel mempunyai peranan yang penting dalam sel, yaitu sebagai penghalang dengan permeabilitas selektif, melakukan pengangkutan aktif, dan mengendalikan susunan dalam sel. Membran sel mempengaruhi konsentrasi metabolit dan bahan gizi di dalam sel dan merupakan tempat berlangsungnya pernapasan dan aktivitas biosintetik tertentu. Beberapa zat antibakteri dapat merusak atau melemahkan salah satu atau lebih dari fungsi-fungsi tersebut, akibatnya pertumbuhan sel akan terhambat atau mati.

### 4. Penghambatan sintesis asam nukleat

DNA, RNA, dan protein memegang peranan sangat penting di dalam proses kehidupan normal sel. Hal ini berarti bahwa gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel. Bahan antibakteri dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan ikatan yang sangat kuat pada enzim DNA *Dependent* dan RNA *Polymerase* bakteri sehingga menghambat sintesis RNA bakteri.

#### **2.6.2. Faktor – Faktor Yang Mempengaruhi Efektivitas Antimikroba**

Banyak faktor atau keadaan yang dapat mempengaruhi efektivitas antibakteri, hal-hal tersebut perlu diperhatikan karena sangat mempengaruhi hasil pengujian. Menurut (Irianto, 2007) beberapa hal berikut dapat mempengaruhi efektivitas antibakteri:

##### **a. pH lingkungan**

Beberapa macam obat lebih aktif pada pH asam seperti nitrofurantoin, sedangkan beberapa obat yang lain lebih aktif pada pH basa seperti streptomisin dan sulfonamida. Mikroorganisme yang hidup pada pH asam akan lebih mudah dibasmi pada suhu rendah dan dalam waktu yang singkat bila dibandingkan dengan mikroorganisme yang hidup pada pH basa.

b. Komponen-komponen medium

Garam-garam sangat menghambat streptomisin. PABA (*Para Aminobenzoic Acid*) dalam jaringan dapat menghambat kerja sulfonamida. Protein serum mengikat penisilin dalam jumlah yang berbeda-beda, 40% untuk metisilin dan 96% untuk eksasilin.

c. Stabilitas obat

Kenaikan suhu dapat meningkatkan keefektifitasan suatu senyawa antibakteri. Hal ini disebabkan zat kimia merusak mikroorganisme melalui reaksi kimia dan reaksi kimia dapat dipercepat dengan meninggikan suhu. Namun pada suhu inkubator tertentu, beberapa senyawa antibakteri kehilangan aktivitasnya. Klortetrasiklin cepat menjadi nonaktif dan penisilin lebih lambat, sedangkan streptomisin, kloramifenol dan polimiksin B stabil untuk waktu yang lama

d. Takaran inokulum

Semakin besar takaran inokulum bakteri maka semakin banyak pula waktu yang diperlukan untuk membunuhnya selain itu besarnya inokulum juga akan menyebabkan daerah hambat semakin kecil. Oleh karena itu, densitas dari inokulum harus disesuaikan sedemikian rupa sehingga

pertumbuhan koloni tampak bersatu dan tidak menjadi filum yang berkesinambungan. Pengujian cara difusi jumlah dan kondisi lingkungan bakteri berbeda dan susah dibakukan sehingga perlu dibandingkan dengan control yang menggunakan bakteri yang telah diketahui sensitivitasnya.

e. Waktu inkubasi

Beberapa mikroorganisme tidak terbunuh dalam waktu kontak yang pendek namun hanya terhambat. Namun apabila waktu inkubasi terlalu lama maka akan semakin besar kemungkinan timbulnya mutan resisten atau anggota populasi bermultiplikasi karena senyawa antibakteri tersebut terurai.

f. Aktivitas metabolisme mikroorganisme

Pada umumnya bakteri yang sedang aktif atau tumbuh lebih sensitif terhadap senyawa antibakteri daripada yang sedang dalam fase istirahat. Mikroorganisme yang sedang mempertahankan diri untuk hidup (persisten) dari segi metabolisme adalah nonaktif dan dapat bertahan dalam waktu yang lama saat kontak dengan senyawa antibakteri, meskipun pada awalnya bakteri tersebut sangat sensitif terhadap senyawa antibakteri tersebut.

### **2.6.3. Penggolongan Antimikroba**

1. Obat yang dapat menghambat sintesis atau merusak dinding sel bakteri

a. Antibiotik Beta-Laktam

Antibiotik beta-laktam terdiri dari berbagai golongan obat yang mempunyai struktur cincin beta-laktam, yaitu penisillin, sefalosporin, monobaktam, karbapenem, dan inhibitor beta-laktamase. Obat-obat antibiotik

beta-laktam umumnya bersifat bakterisid, dan sebagian besar efektif terhadap organisme Gram positif dan negatif. Antibiotik beta-laktam mengganggu sintesis dinding sel bakteri, dengan menghambat langkah terakhir dalam sintesis peptidoglikan, yaitu heteropolimer yang memberikan stabilitas mekanik pada dinding sel bakteri.

- 1) Penisilin digolongkan berdasarkan spektrum aktivitas antibiotiknya. Penisilin digolongkan ke dalam obat-obat beta-laktam karena mempunyai cincin laktam yang unik dengan empat anggota. Penggunaan penisilin yang berlebihan dapat menyebabkan timbulnya resistensi antibiotik (pembentukan penisilinase) sehingga menyebabkan obat ini tidak bermanfaat untuk banyak strain bakteri. Golongan penisilin sering digunakan untuk mengobati infeksi seperti infeksi kulit, dan infeksi saluran kemih (Gulo, 2017).
- 2) Sefalosporin serupa dengan penisilin, tetapi sefalosporin lebih stabil terhadap bakteri beta-laktam sehingga aktivitas spectrum lebih luas. Sefalosporin dapat menghambat sintesis dinding sel bakteri dengan mekanisme yang serupa dengan penisilin. Sefalosporin diklasifikasikan berdasarkan generasinya. Sefalosporin secara kimiawi memiliki mekanisme kerja dan toksisitas serupa dengan penisilin tetapi, sefalosporin lebih stabil terhadap bakteri beta lactamase sehingga memiliki spectrum yang luas (Katzung, 2018).
- 3) Monobaktam (beta-laktam monosiklik) Contoh: aztreonom. Aktivitas: resisten terhadap beta-laktamase yang dibawa oleh bakteri gram-

negatif. Aktif terutama terhadap bakteri gram-negatif. Aktivitasnya sangat baik terhadap *Enterobacteriaceae*, *P. Aeruginosa*, *H. Influenzae* dan *gonokokus* (Menkes, 2011).

- 4) Karbapenem merupakan antibiotik lini ketiga yang mempunyai aktivitas antibiotik yang lebih luas daripada sebagian besar beta-laktam lainnya. Yang termasuk karbapenem adalah imipenem, meropenem dan doripenem. Aktivitas: Menghambat sebagian besar gram-positif, gram-negatif, dan anaerob. Ketiganya sangat tahan terhadap beta-laktamase (Menkes, 2011).
- 5) Inhibitor beta-laktamase melindungi antibiotik beta-laktam dengan cara menginaktivasi beta-laktamase. Yang termasuk ke dalam golongan ini adalah asam klavulanat, sulbaktam, dan tazobaktam (Menkes, 2011).

b. Basitrasin

Basitrasin adalah kelompok yang terdiri dari antibiotik polipeptida, yang utama adalah basitrasin A. Berbagai kokus dan basil Gram-positif, *Neisseria*, *H. Influenza*, dan *Treponema pallidum* sensitif terhadap obat ini. Mekanisme kerja permeabilitas membran sel diperbesar (Menkes, 2011).

c. Vankomisin

Vankomisin merupakan suatu antibiotik lini ketiga memiliki sifat yang aktif terhadap bakteri Gram-positif. Vankomisin hanya di indikasikan untuk infeksi yang disebabkan oleh *S. Aureus* yang resisten terhadap metisilin (MRSA) (Menkes, 2011).

d. Metronidazole

Metronidazole merupakan obat antiprotozoal nitromidazole yang mempunyai aktivitas antibakteri kuat terhadap anaerob termasuk bakteriosid dan clostridium. Obat ini digunakan untuk infeksi intra abdomen anaerob atau campuran, vaginitis, dan abses otak (Katzung, 2018).

2. Obat yang memodifikasi atau menghambat sintesis protein kuman

Obat antibiotik yang termasuk golongan ini adalah aminoglikosid, tetrasiklin, kloramfenikol, makrolida (eritromisin, azitromisin, klaritromisin), klindamisin, mupirosin, dan spektinomisin (Erlangga, 2017)

- a. Aminoglikosid termasuk antibiotik yang tertua. Antibiotik streptomisin merupakan produk dari bacterium *Streptomyces griseus*. Aktivitas Obat golongan ini menghambat bakteri aerob gram negatif. Obat ini dapat memiliki indeks terapi yang sempit, serta toksisitas yang cukup serius pada ginjal dan pendengaran, khususnya hal ini terjadi pada pasien anak dan pada usia lanjut. Antibiotik golongan aminoglikosid antara lain, streptomisin, kanamisin, amikasin, gentamisin, netilmisin, tobramisin, neomisin, framisetin, paromomisin. Efek samping: Toksisitas ginjal, ototoksisitas.
- b. Tetrasiklin Antibiotik yang termasuk pada golongan ini adalah tetrasiklin, doksisisiklin, oksitetrasiklin, minosiklin, dan klortetrasiklin. Antibiotik golongan ini mempunyai spektrum luas dan dapat menghambat berbagai bakteri gram-positif, gram-negatif, baik yang bersifat aerob maupun anaerob,

serta mikroorganisme lain seperti *Rickettsia*, *Mikoplasma*, *Klamidia*, dan spesies mikrobakteria.

- c. Kloramfenikol adalah antibiotik berspektrum luas, menghambat bakteri Gram-positif dan negatif aerob dan anaerob, *Klamidia*, *Rickettsia*, dan *Mikoplasma*. Mekanisme antibiotic ini merintangi sintesa polipeptida kuman.
  - d. Makrolida aktif terhadap bakteri Gram-positif, tetapi juga dapat menghambat beberapa *Enterococcus* dan basil Gram-positif. Sebagian gram-negatif aerob resisten terhadap makrolida, namun azitromisin dapat menghambat *Salmonela*. Azitromisin dan klaritromisin dapat menghambat *H. Influenza*, tapi azitromisin mempunyai aktivitas terbesar. Keduanya juga aktif terhadap *H. Pylori* (Katzung, 2018). Obat antibiotik golongan ini antara lain, eritromisin, roksitromisin, azitromisin, spiramisin, linkomisin, klindamisin, klaritromisin. Golongan menghambat sintesis protein kuman dengan jalan berikatan secara reversible dengan sub unit 50s, dan umumnya memiliki sifat bakterisidal untuk kuman yang sangat peka. Obat ini diindikasikan untuk infeksi saluran nafas, pertussis (Gulo, 2017)
3. Obat antimetabolit yang dapat menghambat enzim-enzim esensial dalam metabolisme folat

Penggunaan sulfonamide semakin berkurang dengan semakin banyaknya kuman yang resisten, dan digeser oleh antibiotik yang umumnya lebih efektif dan kurang toksik. Trimetoprim dalam kombinasi dengan sulfametoksazole, mampu menghambat sebagian besar patogen saluran kemih, kecuali *P. aeruginosa* dan *Neisseria sp.* Kombinasi ini menghambat *S. aureus*,

*Staphylococcus* koagulase negatif, *Streptococcus hemoliticus*, *H. influenza*, *Neisseria sp*, bakteri gram-negatif aerob (*E.coli* dan *Klebsiella sp*), *Enterobacter*, *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinea* dan *P. carini* (Sastriani, 2017).

Sulfonamida menghambat pertumbuhan dengan cara menghambat sintesis folic acid (asam folat) secara reversible. Oleh karena itu, sulfonamide termasuk bakteriostatik bukan bakterisid (Katzung, 2018).

4. Obat yang mempengaruhi sintesis atau metabolisme asam nukleat

a. Kuinolon

1) Asam nalidiksat menghambat sebagian besar Enterobacteriaceae.

2) Fluorokuinolon termasuk golongan untuk infeksi sistemik. Daya antibakteri pada fluorokuinolon lebih kuat dibandingkan dengan kuinolon yang lama. Pemberian oral untuk golongan ini penyerapannya sangat baik. Golongan fluorokuinolon meliputi norfloksasin, siprofloksasin, ofloksasin, moksifloksasin, pefloksasin, levofloksasin. Fluorokuinolon bisa digunakan untuk infeksi yang disebabkan oleh *Gonokokus*, *Shigella*, *E.coli*, *Salmonella*, *Haemophilus*, *Moraxella catarrhalis* serta *Enterobacteriaceae* dan *P. aeruginosa*. Golongan ini masih aktif terhadap kuman gram negative tetapi, mempunyai daya antibakteri yang baik terhadap kuman gram positif (Setiabudy, 2012)

5. Menurut Gulo (2017) obat yang merintang sintesa dinding sel kuman, antara lain:

- a. Etambutol, berkhasiat spesifik terhadap *M. tuberculosis* dan *M. atypis*, tetapi tidak terhadap bakteri lain. Kerja bakteristatisnya sama kuatnya dengan INH, tetapi pada dosis terapi kurang efektif dibandingkan obat-obat primer. Mekanisme kerjanya berdasarkan penghambatan sintesa RNA pada kuman yang sedang membelah, juga menghindarkan terbentuknya mycolic acid pada dinding sel.
- b. Isoniazid ( INH ), berkhasiat tuberkulostatik paling kuat terhadap *M. tuberculosis* dan bersifat bakterisid terhadap basil yang sedang tumbuh pesat. Mekanisme kerjanya didasarkan pada terganggunya sintesa mycolic acid, yang dibutuhkan dalam membangun dinding bakteri.
- c. Pirazinamid, bekerja sebagai bakterisida atau bakteristatis. Spektrum kerjanya sangat sempit dan hanya meliputi *M. tuberculosis*. Mekanisme kerjanya berdasarkan pengubahannya menjadi asam pirazinat oleh enzim pyrazinamidase yang berasal dari basil TBC.
- d. Rifampisin, berkhasiat bakterisid luas terhadap fase pertumbuhan *M. tuberculosis* dan *M. leprae*, baik yang berada di dalam maupun luar sel. Rifampisin aktif terhadap kuman gram positif lain dan kuman gram negatif.
- e. Streptomisin, berkhasiat bakterisid terhadap banyak kuman gram negatif dan gram positif, termasuk *M. tuberculosis* dan beberapa *M. atypis*.

#### **2.6.4. Resistensi Antimikroba**

Resistensi antimikroba terjadi ketika kuman seperti bakteri dan jamur mengembangkan kemampuan untuk mengalahkan obat yang dirancang untuk

membunuh mereka. Itu berarti kuman tidak terbunuh dan terus tumbuh. Infeksi resisten bisa sulit, dan kadang-kadang tidak mungkin, untuk diobati. Terdapat empat alur mekanisme dasar terjadinya resistensi secara biokimia, sehingga mengurangi daya bunuh dan efektifitas antimikroba (Nafianti & Sinuhaji, 2005).

- a. Perubahan molekul target reseptor antimikroba pada bakteri. Dengan mempengaruhi molekul reseptor target, antimikroba tidak akan dapat mengikat reseptor target sehingga anti mikroba tidak dapat menginvasi bakteri.
- b. Penurunan kemampuan antimikroba pada target dengan mempengaruhi masuknya antimikroba ke dalam sel atau peningkatan pengeluaran antimikroba dari sel. Contoh pada mekanisme ini adalah resistensi tetrasiklin, resistensi terjadi melalui mediator plasmid.
- c. Destruksi atau inaktivasi antimikroba. Terjadinya mekanisme resistensi jalur ini disebabkan oleh produksi berlebihan suatu enzim yang dapat menginaktivasi antimikroba. Contoh yang sangat populer adalah resistensi beta-laktamase dan resistensi kloramfenikol.
- d. Bakteri menghasilkan jalur metabolik baru. Bakteri bisa menghasilkan enzim baru yang tidak dapat dihambat oleh antimikroba.

Berbagai penelitian pada bakteri patogen telah mengidentifikasi sejumlah gen yang berhubungan dengan resistensi. Resistensi dapat bersifat intrinsik atau didapat. Resistensi intrinsik menunjukkan bahwa bakteri tidak dipengaruhi oleh antimikroba karena sifat yang sudah dimiliki oleh bakteri tersebut. Contohnya adalah rendahnya permeabilitas membran sel sehingga banyak antimikroba yang sulit masuk; tidak

adanya sistem transpor untuk antimikroba tertentu; dan tidak adanya target antimikroba pada bakteri. Resistensi didapat menunjukkan adanya perubahan pada bakteri yang awalnya sensitif terhadap antimikroba kemudian berubah menjadi resisten. Mekanisme resistensi didapat terjadi melalui mutasi gen kemudian diturunkan secara vertikal atau yang lebih umum melalui transfer gen horizontal (Donaliazarti, 2022).

#### **2.6.4. Metode Pengujian Antimikroba**

Pengujian terhadap aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan berbagai cara, yaitu:

##### **2.6.4.1. Metode difusi**

Merupakan metode tes Kirby & Bauer untuk menentukan aktivitas gen antimikroba. Piringan yang berisi agen antimikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar. Air jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media agar (Pratiwi, 2008). Metode difusi dapat dilakukan dengan 3 cara, yaitu :

##### **a. Metode cakram (*disc*)**

Zat antibakteri dijenuhkan kedalam kertas cakram ditanam pada media perbenihan agar padat yang telah dicampur dengan bakteri yang diuji, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Selanjutnya diamati

adanya area (zona) jernih disekitar kertas cakram yang menunjukkan ada tidaknya pertumbuhan bakteri (Kusmiyati & Agustini, 2007).

b. Metode silinder

Metode silinder yaitu meletakkan beberapa silinder yang terbuat dari gelas atau besi tahan karat di atas media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri. Tiap silinder ditempatkan sedemikian rupa hingga berdiri di atas media agar, diisi dengan larutan yang akan diuji dan diinkubasi. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling silinder (Kusmiyati & Agustini, 2007).

c. Metode lubang

Metode lubang yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan, kemudian lubang diisi dengan larutan yang akan diuji. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya zona hambat disekeliling lubang (Kusmiyati & Agustini, 2007).

#### **2.6.4.2. Metode Dilusi**

Metode dilusi adalah salah satu metode yang digunakan untuk mengetahui potensi suatu senyawa terhadap aktivitas mikroba dengan menentukan Konsentrasi Hambat Minimal (KHM), yaitu konsentrasi terkecil dari zat

antibakteri uji yang menghambat pertumbuhan mikroba uji (Fatisa, 2013).

Metode dilusi dapat dilakukan dengan :

a. Penipisan Lempeng Agar

Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran kelipatan dua zat antibakteri dalam media agar yang masih cair, kemudian dituangkan ke dalam cawan petri. Bakteri uji diinokulasikan setelah campuran media agar dan zat uji membeku dan kering, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Aktivitas zat uji ditentukan dengan Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) (Fitriana *dkk*, 2019).

b. Pengenceran Tabung

Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran zat antibakteri pada medium cair ditambahkan dengan bakteri uji. Larutan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Aktivitas zat uji ditentukan dengan Konsentrasi Hambat Minimal (KHM). Dengan cara melihat media cair yang tetap terlihat jernih dibandingkan dengan kontrol setelah diinkubasi (Fitriana *dkk*, 2019).

#### **2.6.4.3. Uji aktivitas antifungi**

Pada uji ini kebutuhan media berbeda dengan menggunakan bakteri. Media yang umum digunakan adalah *Sabouraud Dextrose Liquid/Solid*, *Czapex Dox*, dan media khusus fungi lainnya. Uji ini serupa dengan uji untuk bakteri,

dimana spora atau miselium fungi dilarutkan pada larutan agen antimikroba uji, dan selanjutnya pada interval waktu tertentu disubkultur pada media yang sesuai. Setelah diinkubasi, pertumbuhan fungi pun diamati (Pratiwi, 2008).

#### **2.6.4.4. Uji Bioautografi**

Uji bioautografi merupakan metode spesifik untuk mendeteksi bercak pada kromatogram hasil KLT (kromatografi lapis tipis) yang memiliki aktivitas antibakteri, antifungi, dan antivirus. Keuntungan metode ini adalah sifatnya yang efisien untuk mendeteksi adanya senyawa antimikroba karena letak bercak dapat ditentukan walaupun berada dalam campuran yang kompleks sehingga memungkinkan untuk mengisolasi senyawa aktif tersebut. Kerugiannya adalah metode ini tidak dapat digunakan untuk menentukan KHM dan KBM. Ada dua macam metode bioautografi, yaitu :

1. Bioautografi langsung: dengan penyemprotan plat KLT dengan suspensi mikroorganisme atau dengan menyentuhkan plat KLT pada permukaan media agar yang ditanami mikroorganisme. Setelah inkubasi pada waktu tertentu, letak senyawa aktif tampak sebagai area jernih dengan latar belakang keruh.
2. Bioautografi overlay: dengan menuangkan media agar yang telah dicampur mikroorganisme diatas permukaan plat KLT, media ditunggu hingga padat, kemudian diinkubasi. Area hambatan dilihat dengan penyemprotan menggunakan tetrazolium klorida. Senyawa yang aktif sebagai antimikroba akan tampak sebagai area jernih dengan latar belakang ungu (Pratiwi, 2008).

### **2.6.5. Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)**

Daya antibakteri dapat ditentukan berdasarkan nilai KHM dan KBMnya terhadap pertumbuhan suatu bakteri. Konsentrasi terendah yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri dikenal sebagai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Aktivitas dari suatu antibakteri tertentu dapat meningkat dari bakteriostatik menjadi bakteriosida bila kadar antibakterinya ditingkatkan melebihi KHM. Konsentrasi minimal yang diperlukan untuk membunuh 99,9% pertumbuhan bakteri dikenal sebagai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) (Forbes, 2007).

Metode dilusi merupakan metode yang digunakan untuk menentukan KHM dan KBM. Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran antibakteri menggunakan medium cair yang ditambahkan dengan bakteri uji. Larutan uji antibakteri kadar terkecil yang terlihat lebih jernih ditetapkan sebagai KHM. Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya diukur ulang pada media padat tanpa menambahkan bakteri uji ataupun antibakteri, dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media padat yang tetap terlihat jernih setelah diinkubasi ditetapkan sebagai KBM (Pratiwi, 2008).

## BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1. Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Pada uji aktivitas antimikroba metode difusi cakram, rata-rata diameter zona bening paling besar pada bakteri *Escherichia coli* terdapat pada konsentrasi ekstrak 20% yaitu 7,86 mm dengan kategori lemah. Rata-rata diameter zona bening terbesar pada bakteri *Staphylococcus aureus* terdapat pada konsentrasi 80% yaitu 12,72 mm yang termasuk kategori sedang. Selanjutnya pada jamur *Candida albicans*, rata-rata diameter zona bening terbesar terdapat pada konsentrasi 80% dengan 18,54 mm yang juga termasuk kategori sedang menurut CLSI
2. Uji konsentrasi hambat minimum (KHM) pada ketiga mikroba menunjukkan hasil yang sama yaitu konsentrasi terkecil dimana nilai selisih OD negatif terdapat pada konsentrasi ekstrak 10%.
3. Konsentrasi bunuh minimum (KBM) pada ketiga mikroba tidak didapatkan karena terdapat pertumbuhan mikroba disemua konsentrasi uji.

## **5.2. Saran**

Penelitian selanjutnya diharapkan untuk:

Perlu dilakukan pengembangan dengan melakukan fraksi terhadap ekstrak daun sirih hutan, pengujian aktivitas antimikroba terhadap mikroba selain yang digunakan pada penelitian ini dan penentuan potensi antimikroba daun sirih hutan yang lebih komprehensif.