

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Jahe Gajah (*Zingiber officinale* var. *Officinarum*)

1. Definisi jahe gajah

Jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) merupakan salah satu tanaman yang dikenal luas sebagai rempah-rempah dan tanaman obat tradisional dengan banyak varietasnya. Salah satu varietas jahe yang paling banyak dibudidayakan di Indonesia adalah jahe gajah (*Zingiber officinale* var. *Officinarum*). Jahe berasal dari Asia Pasifik yang tersebar dari India sampai Cina. Secara umum, jahe memiliki senyawa kimia aktif dan mengandung berbagai zat gizi yang berfungsi sebagai preventif dan kuratif. Selain digunakan dalam membuat bumbu masakan dan minuman, jahe juga dimanfaatkan sebagai bahan tambahan untuk ramuan obat untuk meningkatkan daya tahan tubuh, alergi akibat gigitan serangga, dan mengatasi batuk, luka, radang (Prasetyo, 2016).

Jahe merupakan tanaman terna yang tergolong tahunan dan mampu beradaptasi terhadap variasi suhu lingkungan. Tanaman ini memiliki batang semu dengan tinggi sekitar 30 hingga 70 cm, tumbuh berumpun, serta berkembang biak secara vegetatif melalui rimpang yang bentuknya beragam. Jahe dapat tumbuh baik di dataran rendah maupun tinggi. Bunganya bersifat majemuk, muncul di permukaan tanah, berbentuk seperti tongkat atau telur sempit, tersusun dalam malai, dan memiliki ujung yang tajam. Varietas jahe gajah (*Zingiber officinale* var. *Officinarum*) dikenal memiliki ukuran rimpang terbesar dibandingkan varietas lainnya, dengan bentuk berbuku-buku dan bagian dalam rimpang berwarna putih

kekuningan. Daunnya berbentuk lanset dengan ujung runcing, tersusun berselang-seling pada batang semu yang tegak. Panjang daun berkisar antara 15–25 cm dan lebar sekitar 20–35 cm. Tinggi tanaman jahe gajah mencapai ± 85 cm, dengan batang berwarna hijau muda, berbentuk bulat besar." (Sari & Nasuha, 2021)

2. Taksonomi Jahe



Gambar 1 Jahe gajah

Kedudukan tanaman jahe dalam sistematika tumbuhan (taksonomi) adalah sebagai berikut :

Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Sub-divisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Monocotyledoneae</i>
Ordo	: <i>Zingiberales</i>
Famili	: <i>Zingiberaceae</i>
Genus	: <i>Zingiber</i>
Species	: <i>Zingiber officinale Roscoe</i>

Di Indonesia ada 3 jenis varietas jahe yang paling banyak dibudidayakan, yaitu: jahe putih besar (jahe gajah), jahe putih kecil (jahe emprit), dan jahe merah (jahe sunti). Ketiga jenis jahe tersebut memiliki nama spesies yang sama dengan nama varietas yang berbeda. Kandungan senyawa dari ketiga jenis jahe tersebut

relatif sama satu sama lainnya. Perbedaan ketiga jenis jahe ini dapat diketahui melalui rasa pedas pada jahe tersebut (Rialita dkk, 2015).

3. Kandungan pada jahe gajah

Jahe merupakan sumber antimikroba alami yang layak untuk dijadikan pengawet pangan karena memiliki efektivitas yang mampu untuk menghambat beberapa bakteri pathogen dan memiliki ketersediaan yang tinggi. Mekanisme penghambatan dari senyawa antimikroba berbeda-beda. Berdasarkan analisis uji antibakteri ekstrak rimpang jahe terhadap pertumbuhan bakteri yang diperoleh dari beberapa penelitian, diketahui bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak rimpang jahe sebanding dengan diameter zona hambat bakteri yang menunjukkan adanya aktivitas senyawa dalam ekstrak rimpang jahe yang memengaruhi pertumbuhan bakteri. Hal tersebut disebabkan oleh kandungan antimikroba dalam rimpang jahe yang merupakan golongan senyawa aktif. Senyawa aktif yang berperan sebagai antimikroba dalam rimpang jahe diantaranya minyak atsiri, fenol, terpenoid dan flavonoid (Sari dan Nasuha, 2021). Berikut merupakan senyawa metabolit sekunder yang memiliki kemampuan antibakteri, sebagai berikut :

a. Flavonoid

Flavonoid merupakan komponen yang larut dalam air dan menunjukkan sifat antibakteri dan antivirus. Mekanisme kerja senyawa ini dalam menghambat bakteri adalah dengan mendenaturasi protein dan merusak membran sel bakteri melalui pelarutan lemak yang ada di dinding sel. Kemampuan senyawa ini berpindah dari fase cair ke fase lemak. Flavonoid dapat menghambat kondisi membran sel hingga gangguan fungsi dan sintesis enzim tertentu yang penting bagi

metabolisme bakteri, hal ini akhirnya dapat menyebabkan kematian bakteri (S. Nurjanah dan Fathia, 2017).

b. Fenol

Senyawa fenol merupakan komponen penting dalam aktivitas antibakteri. Senyawa fenol bersifat toksik yang menyebabkan gangguan pada struktur tiga dimensi protein, mengubahnya menjadi bentuk acak tanpa merusak kerangka kovalen. Akibatnya, sifat dan aktivitas biologis protein menjadi terganggu, sehingga protein tidak dapat menjalankan fungsinya. Dengan terdenaturasinya protein sel, semua aktivitas metabolisme yang dikatalisis oleh enzim juga terpengaruh, sehingga mikroba atau jamur tidak mampu bertahan hidup (Utami dkk, 2018).

c. Minyak atsiri

Minyak atsiri adalah senyawa yang mampu menghambat pertumbuhan dan membunuh bakteri dengan cara merusak membran plasma sel bakteri, mengganggu fungsi sel, dan menyebabkan lisis sel. Selain itu, struktur tiga dimensi protein juga mengalami kerusakan, yang mengarah pada denaturasi protein. Meskipun urutan asam amino pada bakteri tetap tidak berubah, fungsinya menjadi tidak efektif setelah proses denaturasi tersebut (Rahmatika dan Oktaria, 2021).

d. Terpenoid

Terpenoid memiliki kandungan senyawa sebagai antibakteri. Mekanisme terpenoid sebagai antibakteri adalah berkaitan dengan fraksi lipid pada membran plasma bakteri, hal ini menyebabkan perubahan dalam permeabilitas membran. Jika proses ini berlangsung terus-menerus, dapat mengakibatkan lisis material intraseluler akibat terbentuknya rongga pada lipid bilayer (Kapitan dkk, 2017).

Kandungan senyawa bioaktif pada jahe terdiri dari senyawa volatile dan non-volatil yang memberikan kontribusi positif terhadap pangan dan kesehatan. Berdasarkan hasil penelitian fitokimia oleh Kaban dkk. (2016) terhadap ekstrak metanol total dari rimpang jahe, tanaman jahe mengandung berbagai kelompok senyawa metabolit sekunder, seperti alkaloid, flavonoid, fenolik, triterpenoid, dan saponin. Kandungan alkaloid pada rimpang jahe berfungsi sebagai analgesik, obat batuk, dan pereda migrain. Selain itu, kandungan flavonoid dalam jahe bermanfaat sebagai analgesik, antitumor, antioksidan, antiinflamasi, antibiotik, antialergi, dan diuretik. Kandungan saponin dalam jahe memiliki manfaat sebagai antikoagulan, antikarsinogenik, hipoglikemik, antioksidan, dan anti inflamasi. Senyawa fenolik aktif, seperti gingerol dan shogaol, dalam jahe bermanfaat sebagai antioksidan, menjaga kesehatan jantung, membantu menurunkan berat badan, mencegah kanker usus, serta meningkatkan sistem kekebalan tubuh. Selain itu, senyawa triterpenoid di dalamnya juga berfungsi sebagai antioksidan, membantu pengobatan diabetes, dan mempercepat penyembuhan luka (Sutardi, 2016).

Rimpang jahe juga mengandung gingerol yang memiliki sifat antioksidan dan antiinflamasi yang kuat. Kandungan gingerol diyakini dapat meredakan mual pada wanita hamil, mengurangi rasa sakit dan nyeri otot, mengatasi penyakit osteoarthritis, menurunkan kadar gula darah, serta mengurangi risiko penyakit jantung. Manfaat lain dari kandungan gingerol diantaranya mencegah gangguan pencernaan kronis, mengurangi nyeri menstruasi, mencegah penyakit kanker (terutama kanker pankreas, payudara, dan ovarium), meningkatkan fungsi otak, dan mengurangi risiko serangan berbagai penyakit infeksi (Aryanta, 2019).

4. Manfaat Jahe Gajah

Jahe adalah jenis rempah-rempah yang digunakan dengan cara dirimpang. Tanaman jahe sudah sejak lama digunakan sebagai obat tradisional untuk menyembuhkan berbagai jenis penyakit, termasuk peradangan dan gangguan pencernaan. Seiring dengan perkembangan ilmu pengetahuan, bidang pangan dan kesehatan, sebagian besar menggunakan jahe sebagai pangan fungsional dan obat karena kandungan khasiatnya. Peran jahe sebagai pangan dan obat telah diakui aman, diklasifikasikan dalam *Generally Recognized as Safe* (GRAS) oleh *Food Drug and Administration* (FDA) (Indiarto dkk, 2021).

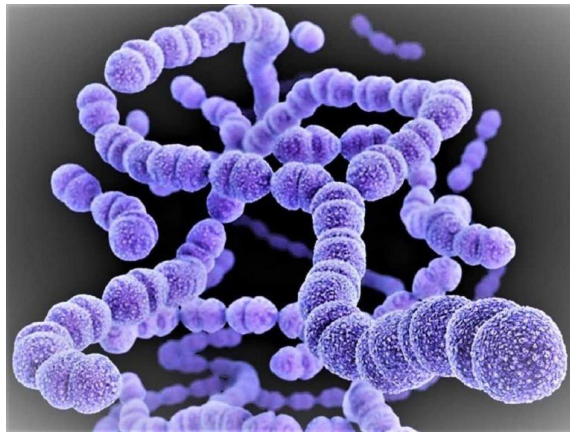
Rimpang jahe telah digunakan secara luas sebagai bahan baku dalam produksi makanan dan minuman. Hal ini dikarenakan sifat jahe yang merupakan rempah-rempah yang pedas dan memberikan sensasi gurih. Selain itu, jahe mengandung berbagai jenis zat gizi yang bermanfaat bagi kesehatan tubuh diantaranya sebagai penghasil energi, menjaga kesehatan jantung, sebagai zat pembangun sel, menurunkan kadar lemak dalam darah, sebagai pelindung sistem pencernaan, pendorong metabolisme tubuh, menjaga keseimbangan pH tubuh, dan antibodi.

Efek farmakologis dalam senyawa aktif pada jahe diantaranya berfungsi untuk meningkatkan aktivitas berbagai enzim di usus, stomachic, mengatasi masalah pencernaan, pereda rasa sakit, sebagai obat karminatif, antispasmodik, digestif, stimulan terhadap gastro intestinal tractus, vasodilator, expectorant, bronchodilator, merangsang sirkulasi darah, analgesik, antifatulen, antitusif, sebagai pencakar, meredakan rasa sakit dan peradangan pada penderita rematik (Rehman dkk, 2011). Selain itu, kandungan antimikroba dalam rimpang jahe yang

merupakan golongan senyawa aktif diantaranya minyak atsiri, fenol, terpenoid dan flavonoid.

B. Bakteri *Streptococcus pyogenes*

1. Klasifikasi dan morfologi



Gambar 2 Bakteri *Streptococcus pyogenes*

Klasifikasi ilmiah bakteri *Streptococcus pyogenes* adalah sebagai berikut:

<i>Domain</i>	: <i>Bacteria</i>
<i>Phylum</i>	: <i>Bacillota</i>
<i>Class</i>	: <i>Bacilli</i>
<i>Order</i>	: <i>Lactobacillales</i>
<i>Family</i>	: <i>Streptococcaceae</i>
<i>Genus</i>	: <i>Streptococcus</i>
<i>Species</i>	: <i>Streptococcus pyogenes</i>

Streptococcus β hemolyticus Grup A atau yang disebut juga dengan *Streptococcus pyogenes* merupakan salah satu bakteri patogen yang banyak menginfeksi manusia. *Streptococcus β hemolyticus* Grup A merupakan bakteri gram positif, memiliki ciri katalase dan oksidase negatif, nonmotile, tidak berspora,

bentuk kokus dengan diameter sekitar 0,5 – 1 μm dengan ciri khas terangkai seperti rantai. Panjangnya rantai yang terbentuk tergantung pada faktor lingkungan. *Streptococcus* yang bersifat patogen jika ditanam dalam media cair atau padat yang sesuai, akan sering membentuk rantai panjang yang terdiri dari delapan buah kokus atau lebih (Savitri dkk, 2019).

Bakteri *Streptococcus pyogenes* digolongkan ke dalam bakteri hemolitik- β , hasil morfologi kultur bakteri ini pada media agar darah yaitu menunjukkan koloni berwarna putih keabu-abuan, permukaan halus, batas jelas, dengan diameter lebih dari 0,5 mm dan dikelilingi area beta hemolisis. Pertumbuhan dan hemolisis ditingkatkan dengan inkubasi dalam CO_2 10%. *Streptococcus pyogenes* termasuk bakteri fakultatif anaerob yang tumbuh pada suhu 37°C dan tumbuh baik dengan pH 7,4 - 7,6 serta tumbuh pada kondisi aerob dan anaerob (Yunita, 2011).

2. Virulensi *Streptococcus pyogenes*

Streptococcus pyogenes memiliki jangkauan inang yang terbatas, ditemukan hampir sepenuhnya pada manusia dan jarang pada spesies lain. Bakteri ini sangat menular dan dapat menyebabkan penyakit pada individu dari semua usia yang tidak memiliki kekebalan spesifik. Infeksi pada neonatus jarang terjadi, kemungkinan disebabkan oleh transfer antibodi dari ibu melalui plasenta. Terdapat perbedaan signifikan dalam epidemiologi antara infeksi tenggorokan dan infeksi kulit yang disebabkan oleh *Streptococcus pyogenes*.

Streptococcus pyogenes memiliki antigen karbohidrat grup A (antigen Lancefield) dan dikelilingi oleh antigen protein M, yang berfungsi untuk menghindari fagositosis oleh sel-sel leukosit. Antibodi yang terbentuk terhadap protein M tertentu dapat memberikan perlindungan terhadap infeksi lebih lanjut

dari tipe M yang sama. Bakteri ini juga mampu memproduksi berbagai toksin, seperti toksin yang berkaitan dengan demam scarlet dan ekotoksin pirogenik tipe A, B, dan C. Organisme ini melekat pada sel inang melalui reseptor fibronektin. Selain itu, bakteri ini dapat menginvasi dan bertahan di dalam sel, yang menjelaskan mengapa pembawa faringeal sulit untuk dihilangkan dengan beberapa jenis antibiotik (Yunita, 2011).

Streptococcus pyogenes dapat mengekspresikan berbagai komponen pada matriks ekstraseluler yang melekat pada fibronektin (Fn), protein, matriks, atau kolagen. Fibronektin (Fn) merupakan salah satu faktor virulensi penting dari streptokokus karena memiliki pengaruh besar terhadap kemampuan bakteri ini untuk melekat pada sel epitel manusia. Selain itu, protein M juga berkontribusi dalam proses pelekatan *Streptococcus pyogenes* ke sel-sel tubuh manusia. Bakteri ini menghasilkan beberapa hemolisin, termasuk Streptolisin O, Streptolisin S, streptokinase, DNase, serta eksotoksin pirogenik (eritrogenik) (Pratama dkk, 2019).

3. Patogenesis *Streptococcus pyogenes*

Streptococcus merupakan flora normal dalam tubuh manusia, namun sebagian lagi dapat menyebabkan penyakit infeksi yang menyerang manusia. *Streptococcus pyogenes* (group A *Streptococcus*) merupakan bakteri yang menyebabkan berbagai macam penyakit klinis. *Streptococcus pyogenes* adalah bagian dari flora nasofaring manusia normal. Jumlah *Streptococcus pyogenes* umumnya terbatas oleh persaingan dari mikroba yang terdapat di ekosistem nasofaring serta oleh mekanisme pertahanan tubuh yang bersifat non-spesifik. Namun, apabila mekanisme tersebut gagal dapat mengakibatkan terjadinya

penyakit. *Streptococcus pyogenes* (grup A streptococcus) adalah penyebab utama faringitis bakterialis tanpa komplikasi dan tonsilitis (Anggraini, 2021).

Selain itu, infeksi yang disebabkan oleh *Streptococcus pyogenes* dapat mengakibatkan sinusitis, otitis, mastoiditis, pneumonia dengan empiema, serta infeksi pada sendi atau tulang. Selain itu, infeksi ini juga dapat menyebabkan fasciitis nekrosis dan myositis, dan dalam kasus yang lebih jarang, meningitis atau endokarditis. Infeksi pada kulit akibat *Streptococcus pyogenes* bisa bersifat dangkal seperti impetigo atau lebih dalam seperti selulitis. Bakteri ini dapat menimbulkan berbagai masalah klinis dengan kemampuannya untuk menyebabkan infeksi invasif parah karena memiliki berbagai protein eksotoksin, super antigens dan protein pada dinding sel serta berbagai faktor virulensi lain (Sari, 2020).

C. Ekstraksi Dan Metode Ekstraksi

1. Definisi ekstraksi

Secara umum, ekstraksi adalah teknik untuk mengambil atau memisahkan satu atau beberapa komponen aktif dari senyawa metabolit sekunder yang berasal dari tanaman atau hewan dengan menggunakan pelarut yang sesuai melalui prosedur tertentu. Selama proses ini, pelarut akan meresap ke dalam bahan padatan dari tanaman atau hewan, menyebabkan perluasan dan peregangan pada struktur selulosa, sehingga pori-pori dinding sel menjadi lebih besar dan memungkinkan pelarut masuk dengan lebih mudah ke dalam sel. Secara alami, bahan-bahan alam mengandung senyawa aktif yang dapat dimanfaatkan sebagai alternatif pengobatan untuk berbagai penyakit, termasuk antikanker, antitumor, antimikroba, antioksidan, dan lain-lain (Wahyuningsih dkk, 2023).

2. Metode ekstraksi

a. Ekstraksi padat – cair (*leaching*)

Ekstraksi padat-cair adalah proses yang digunakan untuk memisahkan zat terlarut dari padatan yang tidak larut. Selama proses ini, terjadi mekanisme di mana pelarut bercampur dengan padatan inert, yang mengakibatkan permukaan padatan dilapisi oleh pelarut. Hal ini menyebabkan massa pelarut berdifusi dari permukaan padatan inert ke dalam pori-pori padatan tersebut. Laju difusi yang terjadi cenderung lambat karena pelarut harus melewati dinding sel padatan. Campuran zat terlarut dalam pelarut kemudian berdifusi keluar dari permukaan padatan inert, sehingga bercampur dengan sisa pelarut. (Amri Aji, 2017).

b. Ekstraksi cara dingin

Metode ekstraksi dengan cara dingin dilakukan tanpa pemanasan selama proses ekstraksi, dengan tujuan untuk mencegah kerusakan pada senyawa yang diinginkan. Berikut beberapa metode ekstraksi cara dingin:

1) Maserasi

Maserasi adalah metode sederhana yang paling umum digunakan, baik untuk skala kecil maupun industri. Teknik ini merupakan bentuk ekstraksi simplisia yang diterapkan pada bahan atau simplisia yang tidak tahan terhadap panas, dengan cara merendamnya dalam pelarut tertentu selama periode waktu tertentu. Proses maserasi dilakukan pada suhu ruang antara 20-30°C untuk mencegah penguapan pelarut yang berlebihan akibat suhu, serta melibatkan pengadukan selama 15 menit agar bahan dan pelarut dapat tercampur dengan baik.

Dalam proses maserasi, serbuk simplisia direndam dalam cairan penyari, yang akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung

zat aktif. Zat aktif tersebut akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan di luar sel, sehingga larutan yang lebih pekat terdorong keluar. Proses ini berlangsung berulang kali sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di dalam dan di luar sel. Kinetik ekstraksi, seperti maserasi, dilakukan dengan pengadukan, sementara digesti adalah metode maserasi yang dilakukan pada suhu lebih tinggi, yaitu antara 40-60°C (Hujjatusnaini dkk, 2021)

2) Perkolasi

Perlokasi adalah proses di mana simplisia yang telah dihaluskan diekstraksi menggunakan pelarut yang sesuai dengan cara mengalirkannya perlahan-lahan melalui sebuah kolom. Perkolasi merupakan metode ekstraksi yang memanfaatkan pelarut baru secara terus-menerus, biasanya dilakukan pada suhu ruangan. Prinsip dasar perkolasi melibatkan penempatan serbuk simplisia dalam sebuah wadah silinder yang memiliki sekat berpori di bagian bawah. Metode ini memerlukan waktu yang lebih lama dan penggunaan pelarut yang lebih banyak. Untuk memastikan bahwa perlokasi telah dilakukan dengan baik, perkolat dapat diuji keberadaan metabolitnya menggunakan reagen tertentu (Hujjatusnaini dkk, 2021).

c. Ekstraksi cara panas

Metode ekstraksi dengan menggunakan cara panas melibatkan pemanasan selama proses ekstraksi. Pemanasan ini akan mempercepat proses ekstraksi jika dibandingkan dengan metode dingin. Berikut beberapa metode ekstraksi cara panas:

1) Ekstraksi *refluks*

Refluks adalah metode ekstraksi yang dilakukan pada titik didih pelarut, berlangsung selama waktu tertentu dengan jumlah pelarut yang relatif konstan dan dilengkapi dengan pendingin balik. Tujuannya adalah untuk meningkatkan kualitas atau kesempurnaan hasil ekstraksi. Proses *refluks* biasanya dilakukan berulang kali (3-6 kali) terhadap residu pertama. Metode ini memungkinkan penguraian senyawa yang tidak tahan terhadap panas (Hujjatusnaini dkk, 2021).

2) *Soxhletasi*

Metode *soxhletasi* merupakan teknik ekstraksi yang memanfaatkan pelarut segar secara berulang, biasanya menggunakan alat khusus yang dilengkapi pendingin balik untuk menjaga kestabilan proses ekstraksi. Pemanasan menyebabkan pelarut menguap dan naik, lalu mengalami kondensasi pada bagian atas alat berkat pendingin, sehingga membentuk tetesan yang kembali jatuh ke dalam ruang ekstraksi. Ketika volume cairan mencapai lubang pada pipa samping, pelarut akan mengalir kembali ke labu pemanas, memungkinkan proses berlangsung secara siklik hingga senyawa target terekstrak secara maksimal. Keberhasilan metode ini sangat bergantung pada pemilihan pelarut yang sesuai, yaitu pelarut dengan daya larut tinggi terhadap senyawa yang ingin diambil, yang mana hal ini dipengaruhi oleh tingkat kepolaran pelarut dan zat yang diekstraksi (Yurleni, 2018).

d. Ekstraksi cair-cair

Ekstraksi cair-cair adalah suatu pemisahan kimia-fisika di mana zat yang diekstraksi dipisahkan dari fase air menggunakan pelarut organik yang tidak larut dalam air melalui kontak langsung, baik secara kontinu maupun diskontinu.

Keuntungan utama ekstraksi cair-cair adalah pelarut organik yang digunakan dapat didaur ulang, digunakan berulang kali, efektif dalam memisahkan asam karboksilat antara satu asam dengan lainnya, serta memiliki tingkat kemurnian yang tinggi. Dengan demikian, ekstraksi cair-cair menjadi operasi pemisahan yang superior. Larutan yang akan dipisahkan memiliki sifat fisika yang mirip, yaitu memiliki titik didih yang relatif dekat. Dasar teori ekstraksi cair-cair adalah bahwa suatu larutan akan mengalami pengontakan dengan pelarut lain yang tidak melarut (immiscible) dengan pelarut asal, memiliki perbedaan densitas sehingga membentuk dua fasa setelah penambahan pelarut. Pada dalam kolom tetesan, gerakan naik terjadi dan mengalami peristiwa perpecahan atau penggabungan antartetesan. Perpecahan timbul karena tetesan menabrak isi kolom. Pecahnya tetesan dalam kolom meningkatkan luas bidang kontak antar Cairan serta memperpanjang waktu kontak diantara kedua cairan dalam kolom. (Wahyuningsih dkk, 2023).

D. Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri dapat dilakukan melalui dua metode utama, yaitu metode dilusi dan difusi. Sangat penting untuk menggunakan metoda standar guna mengendalikan semua faktor yang dapat memengaruhi aktivitas antimikroba.

1. Metode dilusi

Metode dilusi terdiri dari dua jenis, yaitu dilusi cair dan dilusi padat. Secara umum, metode dilusi bertujuan untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Dalam metode dilusi cair, proses yang dilakukan melibatkan pembuatan seri pengenceran agen antimikroba dalam medium cair yang kemudian dicampur dengan mikroba uji, sehingga menghasilkan beberapa konsentrasi pengenceran. Kelebihan dari metode serial dilusi adalah

meningkatkan kontak antara sampel uji dan bakteri berkat luasnya permukaan media, serta memungkinkan pengujian bakteri dengan menggunakan satu titik, menjadikannya lebih ekonomis dan mudah dilaksanakan. Namun, kelemahan dari metode ini adalah adanya seri pengenceran yang membatasi konsentrasi sampel uji pada tingkat tertentu, sehingga kemungkinan konsentrasi rendah dapat menghasilkan daya hambat. Selain itu, terdapat risiko tinggi terjadinya kesalahan saat pendistribusian sampel yang dapat mengakibatkan hasil yang kurang akurat (Hasil dkk, 2022).

Metode dilusi padat dilakukan dengan menginokulasi mikroba uji pada media agar yang mengandung agen antimikroba. Salah satu keuntungan dari metode ini adalah satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji sekaligus. Metode dilusi agar memiliki kelebihan dalam efisiensi penggunaan media, karena tersedia replicator inokulum yang diproduksi secara komersial, yang dapat mentransfer antara 32 hingga 60 inokula bakteri berbeda ke setiap lempeng agar. Selain itu, metode ini memiliki potensi untuk meningkatkan identifikasi titik akhir KHM dan memperluas rentang konsentrasi antibiotik. Namun, kelemahan metode ini termasuk kesulitan dalam memastikan suhu agar dan bakteri, yang dapat mengakibatkan kurangnya hambatan maksimal jika agar tidak berada pada suhu 45-50°C. Titik akhir juga tidak selalu mudah dibaca, dan kemurnian inokulum sulit untuk diverifikasi. Jika tidak diotomatisasi, metode ini bisa sangat melelahkan dan memerlukan sumber daya ekonomi serta teknis yang besar (Nurul dkk, 2023).

2. Metode difusi

Metode ini adalah teknik untuk menguji daya antibakteri berdasarkan difusi zat antimikroba dalam media padat, dengan pengamatan pada area pertumbuhan. Metode difusi terdiri dari dua jenis, yaitu difusi cakram dan sumuran. Prinsip dari metode sumuran adalah dengan menginokulasi permukaan pelat agar menggunakan inokulum mikroba. Selanjutnya, lubang dengan diameter 6-8 mm dibuat secara aseptis menggunakan alat sumuran. Metode difusi sumuran biasanya digunakan untuk menentukan KHM dalam media padat. Difusi antibiotik ke dalam media agarosa menyebabkan penghambatan pertumbuhan bakteri, yang ditunjukkan dengan adanya zona bening di sekitar petri. Diameter zona bening akan meningkat seiring dengan bertambahnya konsentrasi antibiotik. Metode difusi sumuran bersifat kualitatif, yang berarti tidak mengukur jumlah senyawa yang terdifusi dalam media agar (Nurul dkk, 2023).

Metode difusi cakram adalah salah satu metode yang paling umum digunakan. Prosedur ini bersifat terstandarisasi, akurat, dan dapat disesuaikan dengan kebutuhan laboratorium diagnostik. EUCAST dan CLSI merekomendasikan waktu inkubasi selama 16–18 jam untuk sebagian besar spesies dan kombinasi obat. Metode difusi cakram *Kirby Bauer* telah distandarisasi dan merupakan alternatif yang efektif untuk metode broth (Nurul dkk, 2023).

Difusi cakram dilakukan dengan menempatkan disk yang mengandung senyawa antimikroba di atas permukaan media yang telah diinokulasi dengan mikroba uji. Selama proses inkubasi, senyawa antimikroba akan berdifusi ke dalam media agar. Kecepatan difusi melalui media agar tidak secepat laju ekstraksi senyawa antimikroba dari disk. Oleh karena itu, konsentrasi tertinggi senyawa

antimikroba akan berada paling dekat dengan disk dan akan berkurang secara logaritmik seiring bertambahnya jarak dari disk. Efektivitas senyawa antimikroba ditunjukkan oleh adanya zona hambat yang terbentuk di sekitar disk setelah inkubasi. Semakin luas zona hambat, semakin sensitif senyawa tersebut. Hasil pengukuran diameter zona hambat untuk setiap antibiotik diinterpretasikan berdasarkan kriteria yang ditetapkan oleh pedoman *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI).

Kriteria yang ditetapkan berdasarkan pedoman *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) untuk antibiotik ada tiga, yaitu sensitive, intermediate, dan resisten:

a. Sensitif

Suatu organisme dikatakan memiliki daya hambat sensitif terhadap suatu antimikroba apabila infeksi yang disebabkan cenderung merespon pengobatan dengan antimikroba yang digunakan sesuai dosis yang dianjurkan.

b. Intermediet

Intermediet merupakan hasil kepekaan yang menunjukkan zona tengah antara sensitif dan resisten terhadap suatu antimikroba. Kepekaan ini dapat diterapkan pada galur “peka sedang” terhadap suatu antimikroba yang dapat digunakan untuk pengobatan dengan dosis yang lebih tinggi (misalnya, β -laktam) karena toksisitasnya yang rendah, atau karena zat antimikroba tersebut terkonsentrasi pada fokus infeksi (misalnya, urine).

Klasifikasi ini juga berlaku untuk galur-galur yang menunjukkan “kepekaan sedang” terhadap antimikroba yang lebih toksik (misalnya, aminoglikosida) yang tidak dapat digunakan dengan dosis yang lebih tinggi. Pada keadaan ini, kategori

intermediate berperan sebagai zona penyangga (buffer zone) antara sensitive dan resisten.

c. Resisten

Suatu organisme dikatakan resisten terhadap suatu antimikroba apabila infeksi yang disebabkan tidak merespon pengobatan dengan antimikroba yang digunakan tanpa memandang dosis yang dianjurkan.

Menurut Davis dan Stout (1971), kategori tingkat kekuatan suatu bahan antibakteri didasarkan pada ukuran diameter zona hambatnya, yaitu: diameter 5 mm atau kurang termasuk dalam kategori lemah, 5-10 mm termasuk kategori sedang, 11-20 mm dikategorikan kuat, dan jika melebihi 20 mm maka digolongkan sebagai sangat kuat (Simulat, 2019).