

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Uraian Tanaman Legundi (*Vitex trifolia L.*)

##### 1. Klasifikasi tanaman legundi (*Vitex trifolia L.*)

Adapun klasifikasi tanaman legundi yaitu divisi *Spermatophyta*, sub divisi *Angiospermae*, kelas *Dicotyledoneae*, bangsa *Lamiales* suku *Verbenaceae* marga *Vitex*, Jenis *Vitex trifolia L.* (Herbie, 2015).



Gambar 1. Tanaman Legundi (Sumber : Dokumentasi pribadi)

##### 2. Nama tanaman

Nama lokal tanaman legundi yaitu Langgundi (Minangkabau), Gandasari (Palembang), Lagundi (Melayu), Lagondi (Sunda), Legundi (Jawa Tengah), Langghundi (Madura), Galumi (Sumba), Sangan (Bima), Laura (Makassar), Lawarani (Bugis). Sedangkan untuk nama asingnya yaitu : man jing zi (China) (Herbie, 2015).

### 3. Deskripsi

Pohon jarang sebagai semak merayap, tajuk tidak beraturan, aromatik, tinggi 1-4 m. Batang pokok jelas, kulit batang cokelat muda-tua, batang muda segi empat, banyak bercabang. Daun majemuk menjari, duduk, daun berhadapan, anak daun 1-3, daun ke 2 dan 3, duduk, anak daun ujung bertangkai kurang dari 0,5 cm, helaian bulat telur-elip-bulat memanjang bulat telur terbalik, anak daun terbesar 49,5 x 1,75-3,75 cm, yang berdaun satu 2- 6,5 x 1,25-3,5 cm (Herbie, 2015).

Bunga susunan majemuk malai, dengan struktur dasar menggarpu, malai 3,5-24 cm, garpu 2-6,5, 3-15 bunga, rapat dan berjejal. Tinggi daun kelopak 3-4,5 mm. Tabung mahkota 7-8 mm, diameter segmen median dari bibir bawah 4-6 mm. Benang sarinya 4 dekat pertengahan tabung mahkota, panjang dua. Bakal buah sempurna 2 ruang, per ruang 2 bagian, bakal biji duduk secara lateral, tangkai putih; rambut, ujung bercabang dua. Buah tipe drupe, duduk, berair atau kering, dinding keras (Herbie, 2015).

### 4. Kandungan kimia

Bagian tanaman yang dapat dimanfaatkan adalah biji, daun dan tangkai legundi. Legundi memiliki rasa pahit, pedas, dan bersifat sejuk. Beberapa bahan kimia yang terkandung dalam legundi, diantaranya *Camphene*, *L- $\alpha$ -pinene*, *silexycarpin*, *casticin*, *terpenyl acetate*, *luteolin-7-glucoside*, *flavopurposid*, *vitrisin*, *dihidroksi*, *asam benzoate*, dan vitamin A. Bahan kimia akan masuk ke meridian lever, lambung, dan kandung kencing (*vesical urinaria*) (Hariana, 2013).

Daun legundi mengandung minyak atsiri yang tersusun dari *seskuiiterpen*, *terpenoid*, senyawa *ester*, *alkaloid* (*vitrisin*), *glikosida flavon* (*artemetin* dan 7-

*desmetil artemetin*) dan komponen *non-flavonoid friedelin,β-sitosterol, glukosida* dan senyawa *hidrokarbon*. Hasil penelitian terhadap minyak atsiri daun legundi atas dasar reaksi warna menggunakan metode kromatografi lapis tipis ditemukan senyawa golongan *aldehida* dan atau *keton*, senyawa tidak jenuh, senyawa dengan ikatan rangkap terkonjugasi, senyawa *terpenoid*. Sedangkan analisis dengan kromatografi gas ditemukan keberadaan *sineol* (Herbie, 2015).

Minyak biji mengandung senyawa-senyawa *hidrokarbon*, asam lemak. Pada jenis tumbuhan lain yaitu *Vitex negundo L.* ditemukan asam *protokatekuat*, asam *5-hidroksi isoftalat*, *glukononitol*. Sedangkan pada jenis *Vitex agnus cactus L.* disamping mengandung minyak atsiri juga mengandung *glikosida iridoid* yaitu *aukubin* dan *agnusid* (Herbie, 2015). Kandungan senyawa kimia dari daun legundi memiliki mekanisme kerja dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Adapun fungsi dari masing-masing senyawa tersebut yaitu :

a) *Saponin*

*Saponin* merupakan senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun. *Saponin* dideteksi berdasarkan dari kemampuannya untuk membentuk busa dan menghemolisis sel darah merah. Senyawa aktif permukaan yang kuat sehingga menurunkan tegangan permukaan sel yang mengakibatkan terjadinya kerusakan dinding sel bakteri. Senyawa *saponin* yang meresap pada permukaan sel akan mengakibatkan kebocoran membran sel, sehingga sel kehilangan bahan-bahan esensialnya (Suryani,2014).

b) *Flavonoid*

Mekanisme kerja *flavonoid* sebagai antibakteri adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler bakteri, sehingga dapat merusak

membrane sitoplasma bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler. Senyawa *flavonoid* bersifat lipofilik sehingga mampu mengikat fosfolipid-fosfolipid pada dinding sel bakteri. Dinding sel bakteri lisis dan senyawa dapat masuk ke dalam inti sel bakteri. Pada inti sel senyawa akan berikatan dengan lipid DNA bakteri sehingga menghambat replikasi DNA dan menyebabkan perubahan kerangka mutase pada sintesis protein (Suryani, 2014).

c) *Alkaloid*

*Alkaloid* merupakan kelompok metabolit sekunder tanaman terbesar yang terdiri atas nitrogen dasar yang disintesis dari pembentukan blok asam amino dengan berbagai radikal menggantikan satu atau lebih dari atom hidrogen dalam cincin peptide yang mengandung oksigen. Senyawa nitrogen inilah yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri dan dieksploitasi sebagai obat-obatan, stimulan psiko-narkotika, dan narkotika racun karena kegiatan biologis tanaman yang terkenal (Omojate *et al.*, 2014).

## **5. Efek Farmakologis**

Efek farmakologis legundi diantaranya sebagai obat influenza, demam, migren, sakit kepala (*cephalgia*), sakit gigi, sakit perut, diare, mata merah, rematik, beri, batuk, luka terpukul, luka berdarah, muntah darah, eksim, haid tidak teratur, prolapses uteri, dan pembunuh serangga. Akar legundi mempunyai efek farmakologis mencegah kehamilan dan perawatan setelah bersalin. Bijinya untuk obat pereda, penyegar badan, dan perawatan rambut. Buah legundi digunakan untuk obat cacing dan peluruh haid. Sementara itu, daunnya untuk analgesik, antipiretik, obat luka, peluruh kencing, peluruh kentut, pereda kejang, menormalkan siklus haid, dan *germicide* (pembunuh kuman) (Hariana, 2013).

## **B. Simplisia**

Simplisia merupakan istilah yang dipakai untuk menyebut bahan-bahan obat alam yang berada dalam wujud aslinya atau belum mengalami perubahan bentuk. Simplisia adalah bahan alami yang digunakan untuk obat dan belum mengalami perubahan proses apa pun dan umumnya berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dibagi menjadi tiga golongan, yaitu (Herbie, 2015) :

### **1. Simplisia Nabati**

Simplisia yang dapat berupa tanaman utuh, bagian tanaman, eksudat tanaman, atau gabungan antara ketiganya, misalnya *Datura folium* dan *Piperis nigri fructus*. Eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau dengan cara tertentu sengaja dikeluarkan dari selnya. Eksudat tanaman dapat berupa zat-zat atau bahan-bahan nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan/diisolasi dari tanamannya.

### **2. Simplisia hewani**

Simplisia yang dapat berupa hewan utuh atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa bahan kimia murni, misalnya minyak ikan (*Oleum iecoris asseli*) dan madu (*Mel depuratum*)

### **3. Simplisia pelican atau mineral**

Simplisia berupa bahan pelican atau mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa bahan kimia murni, contoh serbuk seng dan serbuk tembaga. Simplisia tanaman obat termasuk dalam golongan simplisia nabati. Secara umum pemberian nama atau penyebutan simplisia didasarkan atas gabungan nama spesies diikuti dengan nama bagian tanaman, misalnya merica dengan nama spesies *Piperis albi* maka nama

simplisianya disebut *Piperis albi Fructus*. *Fructus* menunjukkan bagian tanaman yang artinya “buah” (Herbie, 2015).

Tabel 1.  
Nama Latin dari Bagian Tanaman yang Digunakan dalam Tata Nama Simplisia

Nama latin	Bagian tanaman
<i>Radix</i>	Akar
<i>Rhizome</i>	Rimpang
<i>Tubera</i>	Umbi
<i>Flos</i>	Bunga
<i>Fructus</i>	Buah
<i>Semen</i>	Biji
<i>Lignum</i>	Kayu
<i>Cortex</i>	Kulit kayu
<i>Caulis</i>	Batang
<i>Folia</i>	Daun
<i>Herba</i>	Seluruh tanaman

Sumber : Herbie,Tandi, Kitab Tanaman Berkhasiat Obat : 226 Tumbuhan Obat untuk penyembuhan penyakit dan kebugaran tubuh, 2015.

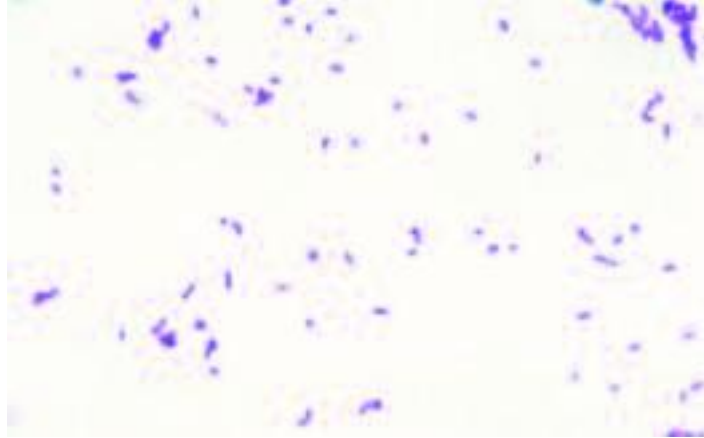
Di bawah ini penjelasan mengenai simplisia tersebut :

- Kulit (*cortex*) adalah kulit bagian terluar dari tanaman tingkat tinggi yang berkayu.
- Kayu (*lignum*) merupakan pemanfaatan bagian dari batang atau cabang.
- Daun (*folium*) merupakan jenis simplisia yang paling umum digunakan sebagai bahan baku ramuan obat tradisional maupun minyak atsiri.
- Herba umumnya berupa produk tanaman obat dari jenis herba yang bersifat *herbaceous*.

- e. Bunga (*flos*) dapat berupa bunga tunggal atau majemuk, bagian bunga majemuk serta komponen penyusun bunga.
- f. Akar (*radix*) yang sering dimanfaatkan untuk bahan obat dapat berasal dari jenis tanaman yang umumnya berbatang lunak dan memiliki kandungan air yang tinggi.
- g. Umbi (*bulbus*) adalah produk berupa potongan rajangan umbi lapis, umbi akar, atau umbi batang. Bentuk ukuran umbi bermacam-macam tergantung dari jenis tanamannya.
- h. Rimpang (*rhizome*) adalah produk tanaman obat berupa potongan-potongan atau irisan rimpang.
- i. Buah (*fructus*) ada yang lunak dan ada pula yang keras. Buah yang lunak akan menghasilkan simplisia dengan bentuk dan warna yang sangat berbeda, khususnya bila buah masih dalam keadaan segar.
- j. Kulit buah (*perikarpium*) ada yang lunak, keras bahkan adapula yang ulet dengan bentuk bervariasi.
- k. Biji (*semen*) diambil dari buah yang telah masak sehingga umumnya sangat keras. Bentuk dan ukuran simplisia biji pun bermacam-macam tergantung dari jenis tanaman.

## C. *Streptococcus mutans*

### 1. Deskripsi *Streptococcus mutans*



Gambar 2. Pewarnaan gram dari *Streptococcus mutans*  
(Sumber : Leboffe and Pierce, 2011)

*Streptococcus mutans* (Phylum Firmicutes) adalah salah satu anggota kelompok *streptococcal* yang dikenal sebagai kelompok "*mutans*". Kelompok *mutans* adalah satu dari lima kelompok dalam kelompok "*viridans*", yang juga termasuk kelompok *anginosus*, kelompok *bovis*, "Kelompok *mitis*", dan "kelompok *salivarius*." Semua *Streptococcus viridans* bersifat baik *imunologis* atau *non-hemolitik*, *cocci* gram positif yang biasanya ditemukan di dalam mulut, saluran pernapasan bagian atas, dan saluran *urogenital* manusia (Leboffe and Pierce, 2011).

Kelompok *mutans* merupakan penyebab paling umum dari *endokarditis* subakut pada pasien dengan masalah katup jantung atau katup jantung buatan. Bakteri ini bertanggung jawab untuk bakteremia setelah prosedur invasif *dental* atau *urogenital*, dan pada pasien dengan *imunosupresi* yang menjalani kemoterapi dan transplantasi sumsum tulang. Beberapa organisme ini mampu menghidrolisis sukrosa dan membentuk plak gigi, yang pada keadaan tertentu membutuhkan



lingkungan *anaerobik* yang ideal untuk fermentasi. Asam yang dihasilkan oleh fermentasi ini dan beberapa *Lactobacilli* tertentu dapat mengikis email gigi dan bertanggung jawab atas pembentukan karies gigi (Leboffe and Pierce, 2011).

## **2. Karakteristik Diferensial**

*Streptococcus mutans* adalah *α-hemolitik* atau *non-hemolitik*, nonmotil, kokus gram positif secara *anaerobik* dan tahan terhadap *optochin*. Identifikasi spesies biasanya tidak secara klinis diperlukan untuk *α-hemolitik* dan *streptokokus non-hemolitik*. Berbagai kelompok bisa dibedakan dari kelompok lain berdasarkan reaksi bakteri tersebut di enam tes biokimia yaitu *hidrolisis arginin*, *hidrolisis esculin*, *urease*, *Voges-Proskauer*, dan produksi asam dari *mannitol* dan fermentasi *sorbitol*. Prosedur diagnosa meliputi pewarnaan gram dan kultur *aerobik* yang sesuai. Pemberian *penisilin G*, *vankomisin*, atau generasi pertama *sefalosporin* merupakan salah satu langkah pengobatan yang dapat dilakukan (Leboffe and Pierce, 2011).

## **D. Metode ekstraksi**

Teknik ekstraksi senyawa organik bahan alam yang biasa digunakan antara lain (Atun, 2014) :

### **1. Maserasi**

Maserasi merupakan teknik ekstraksi dari sampel padat menggunakan pelarut tertentu biasanya digunakan metanol atau etanol. Metanol memiliki kelebihan memiliki titik didih yang lebih rendah sehingga mudah diuapkan pada suhu yang lebih rendah, tetapi bersifat lebih toksik. Sedangkan etanol memiliki kelemahan memiliki titik didih yang relatif tinggi sehingga lebih sulit diuapkan,

tetapi relatif tidak toksik dibanding metanol. Proses maserasi dilakukan selama waktu tertentu dengan sesekali diaduk, biasanya dibutuhkan waktu 1-6 hari. Selain metanol atau etanol pelarut yang lain yang biasa digunakan antara lain aseton, kloroform, atau sesuai dengan kebutuhan. Setelah waktu tertentu ekstrak yang disebut maserat dipisahkan dengan cara penyaringan. Maserasi biasanya dilakukan pengulangan dengan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat yang pertama yang disebut remaserasi.

Remaserasi biasanya dilakukan tiga kali atau sampai senyawa yang diinginkan dalam sampel benar-benar sudah habis. Apabila dalam proses maserasi dilakukan pengadukan terus menerus maka disebut juga dengan maserasi kinetik. Sedangkan apabila dalam maserasi kinetik tersebut dilakukan di atas suhu kamar, biasanya 40-50<sup>0</sup>C disebut digesti. Cara yang biasa dilakukan adalah dengan menempatkan sejumlah bahan ditempatkan pada wadah tertutup, ditambah dengan pelarut dengan perbandingan kira-kira 1:7, atau sedikitnya semua sampel tercelup.

Diamkan selama 1-6 hari pada suhu kamar dan terlindung dari cahaya dengan sesekali diaduk. Setelah itu, cairan dipisahkan, buang bagian yang mengendap. Pada saat proses perendaman senyawa organik yang terkandung dalam sampel berdifusi melewati dinding sel untuk melarutkan konstituen dalam sel dan juga memacu larutan dalam sel untuk berdifusi keluar. Sistem yang digunakan dalam metode ini adalah sistem statis, kecuali saat digojog, proses ekstraksi berjalan dengan difusi molekuler, sehingga proses ini berlangsung secara perlahan. Setelah ekstraksi selesai, residu dari sampel harus dipisahkan dengan pelarut dengan didekantir atau disaring. Maserasi dengan pengulangan (remaserasi) akan lebih efisien dari pada hanya sekali saja. Hal ini terjadi karena

ada kemungkinan sejumlah besar komponen aktif masih tertinggal dalam proses maserasi yang pertama. Sejumlah filtrat (maserat) dari pengulangan maserasi selanjutnya dicampur dan dipekatkan.

## **2. Infusdasi**

Infusdasi merupakan metode ekstraksi dengan pelarut air. Pada waktu proses infusdasi berlangsung, temperatur pelarut air harus mencapai suhu 90°C selama 15 menit. Rasio berat bahan dan air adalah 1 : 10, artinya jika berat bahan 100 gr maka volume air sebagai pelarut adalah 1000 ml. Cara yang biasa dilakukan adalah serbuk bahan dipanaskan dalam panci dengan air secukupnya selama 15 menit terhitung mulai suhu mencapai 90°C sambil sekali-sekali diaduk. Saring selagi panas melalui kain flannel, tambahkan air panas secukupnya melalui ampas hingga diperoleh volume yang diinginkan. Apabila bahan mengandung minyak atsiri, penyaringan dilakukan setelah dingin.

## **3. Dekoksi**

Dekoksi merupakan proses ekstraksi yang mirip dengan proses infusdasi, hanya saja infus yang dibuat membutuhkan waktu lebih lama ( $\geq 30$  menit) suhu pelarut sama dengan titik didih air. Caranya, serbuk bahan ditambahkan air dengan rasio 1 : 10, panaskan dalam panik enamel atau panik stainless steel selama 30 menit. Bahan sesekali sambil diaduk, saring pada kondisi panas melalui kain flannel, tambahkan air panas secukupnya melalui ampas hingga diperoleh volume yang diinginkan.

## **4. Perkolasi**

Perkolasi adalah proses ekstraksi dengan pelarut yang dialirkan melalui kolom perkolator yang diisi dengan serbuk bahan atau sampel, dan ekstraknya

dikeluarkan melalui keran secara perlahan. Secara umum proses perkolasi ini dilakukan pada temperatur ruang. Parameter berhentinya penambahan pelarut adalah perkolat sudah tidak mengandung komponen yang akan diambil. Pengamatan secara fisik pada ekstraksi bahan alam terlihat tetesan perkolat sudah tidak berwarna. Caranya serbuk bahan dibasahi dengan pelarut yang sesuai dan ditempatkan pada bejana perkolator. Bagian bawah bejana diberi sekat berpori untuk menahan serbuk. Cairan pelarut dialirkan dari atas kebawah melalui serbuk tersebut. Cairan pelarut akan melarutkan zat aktif dalam sel-sel yang dilalui sampai keadaan jenuh.

## **5. Soxkletasi**

Soxkletasi merupakan proses ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus soxklet sehingga terjadi ekstraksi konstan dengan adanya pendingin balik. Caranya, serbuk bahan ditempatkan pada selongsong dengan pembungkus kertas saring, lalu ditempatkan pada alat soxklet yang telah dipasang labu dibawahnya. Tambahkan pelarut sebanyak 2 kali sirkulasi. Pasang pendingin balik, panaskan labu, ekstraksi berlangsung minimal 3 jam dengan interval sirkulasi kira-kira 15 menit.

## **E. Pengukuran aktivitas antimikroba**

Penentuan kerentanan suatu patogen bakteri terhadap obat antimikroba dapat dilakukan dengan salah satu diantara dua metode utama yaitu metode difusi atau dilusi.

## 1. Metode difusi

Metode yang paling banyak digunakan adalah tes difusi lempeng. Suatu lempeng kertas saring yang mengandung obat dalam jumlah tertentu ditempatkan pada permukaan medium solid yang telah diinokulasi dengan organisme pengujian di permukaannya. Setelah inkubasi, diameter zona inhibisi jernih yang mengelilingi lempeng diukur sebagai nilai kekuatan inhibitorik obat terhadap organisme pengujian tersebut. Metode tersebut dipengaruhi oleh banyak faktor fisik dan kimiawi di samping interaksi sederhana antara obat dan organisme (yaitu sifat medium dan difusibilitas, ukuran molekuler, dan kestabilan obat). Bagaimanapun juga, standarisasi kondisi tetap memungkinkan penentuan kerentanan organisme (Brooks *et al.*, 2012).

Interpretasi hasil tes difusi harus didasarkan perbandingan antara metode difusi dan dilusi. Perbandingan seperti demikian seperti telah menghasilkan nilai standar rujukan. Garis-garis regresi linier dapat memperlihatkan hubungan antara log konsentrasi inhibitorik minimum dalam tes dilusi dan diameter zona inhibisi dalam tes difusi. Penggunaan lempeng tunggal untuk tiap antibiotik disertai standarisasi kondisi tes secara cermat memungkinkan pelaporan bahwa suatu mikroorganisme resisten atau sensitif dengan membandingkan ukuran zona inhibisi terhadap suatu standar untuk obat yang sama. Penghambatan di sekeliling lempeng yang mengandung obat antimikroba dalam jumlah tertentu tidak menandakan sensitivitas mikroba terhadap obat dalam konsentrasi yang sama per *milimeter* medium, darah, atau urin (Brooks *et al.*, 2012).

## 2. Metode dilusi

Substansi antimikroba dalam kadar bertingkat dicampurkan ke dalam medium bakteriologis solid atau cair. Biasanya digunakan substansi antimikroba dengan pengenceran dua kali lipat ( $\log_2$ ). Medium kemudian diinokulasikan dengan bakteri penguji dan diinkubasi. Titik akhir yang diambil adalah jumlah substansi antimikroba yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri penguji. Uji sensitivitas dilusi agar memakan banyak waktu, dan penggunaan mereka dibatasi hanya pada kondisi khusus. Uji dilusi kaldu tidak praktis dan hanya digunakan jika dilusi dilakukan dalam tabung uji, tetapi tersedianya rangkaian dilusi kaldu yang sudah jadi untuk berbagai macam obat dalam lempeng mikrodilusi telah sangat memperbaiki sekaligus menyederhanakan metode tersebut. Keuntungan uji dilusi *microboth* adalah metode ini memungkinkan dilaporkannya hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah obat tertentu yang diperlukan untuk menghambat (atau membunuh) mikroorganisme yang diuji (Brooks *et al.*, 2012).

### F. Faktor-faktor Yang Mempengaruhi Aktivitas Antimikroba

Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi aktivitas antimikroba, yaitu :  
(Brooks *et al.*, 2012).

#### 1. pH lingkungan

Beberapa obat lebih aktif pada pH asam (misalnya, *nitrofurantoin*) pada pH basa (misalnya, *aminoglikosida*, *sulfonamide*).

## **2. Komponen medium**

*Sodium polyanetholsulfonate* (dalam medium kultur darah) dan deterjen anionik lainnya menghambat *aminoglikosida*. PABA dalam ekstrak jaringan mengantagonis *sulfonamide*. Protein serum mengikat *penisilin* dalam derajat yang berbeda-beda, berkisar dari 40% untuk *metilisin* hingga 98% untuk *dikloksasilin*. Penambahan *Natrium Klorida* ke medium mempertinggi deteksi resistensi metisilin pada *Staphylococcus aureus*.

## **3. Kestabilan obat**

Pada suhu incubator, beberapa agen antimikroba kehilangan aktivitas mereka. *Penisilin* mengalami inaktivasi secara lambat, sedangkan *aminoglikosida* dan *siprofloksasin* cukup stabil untuk periode yang lama.

## **4. Besar inokulum**

Secara umum semakin besar inokulum bakteri, semakin rendah “kerentanan” yang tampak pada organisme itu. Populasi bakteri yang besar lebih lambat dan lebih jarang mengalami inhibisi.

## **5. Lama inkubasi**

Pada banyak kondisi, mikroorganisme tidak dimatikan, tetapi hanya dihambat pada pajanan singkat terhadap agen antimikroba. Semakin lama masa inkubasi berlangsung, semakin besar kesempatan mutan resisten untuk muncul, atau semakin besar kesempatan bagi anggota yang paling tidak sensitif terhadap antimikroba untuk mulai perbanyak diri seiring dengan berkurangnya obat.

## **6. Aktivitas metabolik mikroorganisme**

Secara umum, organisme yang aktif dan cepat bertumbuh lebih sensitif terhadap kerja obat dibandingkan organisme yang berada dalam fase istirahat.

Organisme yang tidak aktif secara metabolik dan berhasil bertahan hidup pada pajanan lama suatu obat mungkin saja memiliki keturunan yang sepenuhnya sensitif terhadap obat yang sama.

Selain faktor diatas terdapat beberapa faktor-faktor teknis yang mempengaruhi ukuran zona pada metode difusi cakram (Vandepitte *et al.*, 2010).

### **1. Kepekatan inokulum**

Jika inokulum terlalu encer, zona hambatan akan menjadi lebih lebar walaupun kepekatan organismenya tidak berubah. Galur yang relatif resisten mungkin dilaporkan sebagai sensitif. Sebaliknya, jika inokulum terlalu pekat, ukuran zona akan menyempit dan galur yang sensitif dapat dilaporkan sebagai resisten. Biasanya hasil optimal didapat dengan ukuran inokulum yang menghasilkan pertumbuhan yang hampir menyatu (konfluen).

### **2. Waktu pemasangan cakram**

Jika setelah ditanami dengan galur uji lempeng agar, dibiarkan pada suhu ruang lebih lama dari waktu baku, perkembangbiakan inokulum dapat terjadi sebelum cakram dipasang. Ini menyebabkan zona diameter mengecil dan dapat menyebabkan suatu galur sensitif dilaporkan sebagai resisten.

### **3. Suhu inkubasi**

Uji kepekaan biasanya diinkubasi pada suhu 35<sup>0</sup>C untuk pertumbuhan yang optimal. Jika suhu diturunkan, waktu yang dibutuhkan untuk pertumbuhan efektif akan memanjang dan dihasilkan zona yang lebih besar.

### **4. Waktu inkubasi**

Kebanyakan teknik menerapkan masa inkubasi antara 16-18 jam. Walaupun demikian, pada keadaan darurat, laporan pendahuluan dapat dibuat



setelah 6 jam. Ini tidak dianjurkan secara rutin dan hasilnya harus selalu dipastikan setelah masa inkubasi konvensional.

#### **5. Ukuran lempeng, ketebalan media agar, dan pengaturan jarak cakram antimikroba**

Uji kepekaan biasanya dikerjakan menggunakan cawan petri ukuran 9-10 cm dan tidak lebih dari 6 atau 7 cakram antimikroba pada tiap lempeng agar. Jika jumlah anti mikroba yang harus diuji lebih banyak, lebih disukai menggunakan dua lempeng atau satu lempeng agar berdiameter 14 cm. Zona hambatan yang sangat besar mungkin terbentuk pada media yang sangat tipis dan sebaliknya berlaku untuk media yang tebal. Perubahan kecil dalam ketebalan lapisan agar efeknya dapat diabaikan. Pengaturan jarak cakram yang tepat sangat penting untuk mencegah tumpang tindihnya zona hambatan atau deformasi didekat tepi-tepi lempeng.

#### **6. Potensi cakram antimikroba**

Diameter zona hambatan terkait dengan jumlah obat dalam cakram. Jika potensi obat berkurang akibat rusak selama penyimpanan, zona hambatan akan menunjukkan pengurangan ukuran yang sesuai.

#### **G. Mekanisme kerja obat-obat antimikroba**

Antimikroba bekerja dengan memakai salah satu cara dari beberapa mekanisme yaitu dengan toksisitas selektif, melalui penghambatan sintesis dan fungsi membrane sel, melalui inhibisi sintesis protein, atau melalui inhibisi sintesis asam nukleat (Brooks *et al.*, 2012).

## 1. Toksisitas selektif

Suatu agen antimikroba yang ideal memiliki toksisitas selektif yang artinya obat tersebut hanya mencederai patogen, tetapi tidak berbahaya bagi pejamu. Sering kali, toksisitas selektif bersifat relatif, bukan absolut. Maksudnya, suatu obat dalam konsentrasi yang dapat ditoleransi pejamu, dapat merusak suatu mikroorganisme penyebab infeksi (Brooks *et al.*, 2012).

Toksisitas selektif mungkin merupakan fungsi suatu reseptor spesifik yang diperlukan untuk perlekatan obat, atau mungkin bergantung pada inhibisi peristiwa biokimiawi yang esensial bagi patogen, tetapi tidak esensial bagi pejamu. Mekanisme kerja obat anti mikroba dapat dibahas berdasarkan empat kategori utama : (Brooks *et al.*, 2012)

- a) Inhibisi sintesis dinding sel
- b) Inhibisi fungsi membrane sel
- c) Inhibisi sintesis protein (yaitu, inhibisi translasi dan transkripsi materi genetik)
- d) Inhibisi sintesis asam nukleat

## 2. Inhibisi sintesis dinding sel

Bakteri memiliki lapisan luar yang kaku, yaitu dinding sel. Dinding sel mempertahankan bentuk dan ukuran mikroorganisme, yang memiliki tekanan osmotik internal yang tinggi. Kerusakan pada dinding sel (misalnya, oleh lisozim) lisis sel. Dalam suatu lingkungan hipertonik (misalnya, sukrosa 20%), kerusakan dinding sel akan menyebabkan terbentuknya bakteri sferis ("*protoplasma*" pada organisme gram positif atau "*sferoplasma*" pada organisme gram negatif) ; *protoplasma* atau *sferoplasma* tersebut dibatasi oleh membrane sitoplasma yang rapuh. Jika *protoplasma* atau *sferoplasma* semacam tadi ditempatkan dalam

lingkungan bertonisitas biasa, mereka akan menyerap air dengan cepat, membengkak, dan biasa pecah. Spesimen dari pasien yang mendapatkan terapi antibiotik yang aktif terhadap dinding sel sering memperlihatkan bakteri yang membengkak atau bakteri yang terdistorsi (Brooks *et al.*, 2012).

Dinding sel yang mengandung polimer “*mukopeptida*” (“*peptidoglikan*”) yang khas secara kimiawi dan tersusun atas polisakarida-polisakarida dan suatu polipeptida yang kaya ikatan silang. Polisakarida biasanya mengandung gula amino *N-acetylglucosamine* dan *acetylmuramic acid*. *acetylmuramic acid* hanya ditemukan dalam bakteri. Pada gula-gula amino tersebut, melekat rantai-rantai peptide yang pendek. Kekakuan pada dinding sel ini merupakan peran dan ikatan silang rantai-rantai peptide (misalnya, melalui ikatan *pentaglisin*) sebagai akibat dari reaksi transpeptidasi yang dilangsungkan oleh beberapa enzim. Lapisan peptidoglikan jauh lebih tebal pada dinding sel bakteri gram positif dibandingkan bakteri gram negatif (Brooks *et al.*, 2012).

### **3. Inhibisi fungsi membrane sel**

Sitoplasma pada semua makhluk hidup dibungkus oleh membran sitoplasma yang berperan sebagai sawar berpermeabilitas selektif, melakukan fungsi transportasi aktif dan mengatur komposisi internal sel. Jika integritas fungsional membran sitoplasma terganggu, makromolekul dan ion-ion akan keluar dari sel, dan kemudian terjadi kerusakan atau kematian sel. Membran sitoplasma bakteri dan fungi memiliki struktur yang berbeda dari membran pada sel hewan dan lebih mudah diurusak oleh agen-agen tertentu. Sebagai akibatnya, mungkin dapat dilakukan kemoterapi selektif (Brooks *et al.*, 2012).

Deterjen yang mengandung gugus lipofilik dan hidrofilik, merusak membran sitoplasma dan membunuh sel. Salah satu kelas antibiotik, polimiksin, terdiri atas peptida siklik mirip deterjen yang selektif merusak membran yang mengandung *fosfatidiletanolamin*, suatu komponen utama membran bakteri. Sejumlah antibiotik secara spesifik mengganggu fungsi biosintesis membran sitoplasma misalnya, asam nalidiksat dan *novobiosin* menghambat sintesis DNA, dan *novobiosin* juga menghambat sintesis *teichoic acid* (Brooks *et al.*, 2012).

#### **4. Inhibisi sintesis protein**

Telah diketahui bahwa *eritromisin*, *linkomisin*, *tetrasiklin*, *aminoglikosida*, dan *cloramfenikol* dapat menghambat sintesis protein pada bakteri, tetapi mekanisme kerja yang pasti bagi obat-obat tersebut masih belum diketahui dengan jelas. Bakteri memiliki ribosom 70S, sedangkan sel mamalia memiliki ribosom 80S. Subunit masing-masing tipe ribosom, susunan kimia, dan spesifisitas fungsional mereka cukup berbeda untuk menjelaskan mengapa obat antimikroba dapat menghambat sintesis protein pada ribosom bakteri tanpa menyebabkan efek yang signifikan pada ribosom mamalia (Brooks *et al.*, 2012).

Pada sintesis protein mikroba yang normal, pesan mRNA “dibaca” secara simultan oleh beberapa ribosom yang membentang disepanjang untai mRNA. Susunan ribosom tersebut dinamakan polisom. Contoh obat yang bekerja dengan menghambat sintesis protein adalah *eritromisin*, *linkomisin*, *tetrasiklin*, *glisilsiklin*, *aminoglikosida*, dan *cloramfenikol* (Brooks *et al.*, 2012).

## **5. Inhibisi sintesis asam nukleat**

Contoh obat-obatan yang bekerja dengan menghambat sintesis asam nukleat adalah golongan *kuinolon*, *pirimetamin*, *rifampin*, *sulfonamide*, *trimethoprim*, dan *trimetreksat* (Brooks *et al.*, 2012).