BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

A. Pandan Wangi (*Pandanus ammaryllifolius Roxb.)*

1. Taksonomi pandan wangi (*Pandanus ammaryllifolius Roxb.)*

Pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius Roxb.*) atau biasa disebut pandan saja adalah jenis tumbuhan monokotil dari famili *Pandanaceae*. Di Indonesia, kebanyakan daun pandan digunakan sebagai pewarna makanan, penyegar ruangan, pewangi makanan, obat-obatan dan juga sebagai bahan baku kerajinan tangan. Tumbuhan ini mudah dijumpai di pekarangan atau tumbuh liar di tepi-tepi selokan yang teduh. Di bawah ini adalah sistematika taksonomi daun pandan (Hindarso dkk., 2013) :

Kingdom	: Plantae
Phylum	: Spermatophyta
Kelas	: Monocotyledone
Ordo	: Pandanales
Familia	: Pandaneceae
Genus	: Pandanus
Species	: Pandanus amaryllifolius Roxb

Gambar 1. Tumbuhan Pandan Wangi (Hindarso dkk., 2013)

Pada fase pertumbuhan, tumbuhan umumnya memproduksi metabolit perimer, sedangkan metabolit sekunder belum atau hanya sedikit diproduksi. Metabolit sekunder terjadi pada saat fase stasioner/ fase akhir (Khotimah, 2016). Pada penelitian yang akan dilakukan, digunakan daun pandan wangi yang sudah tua, hal ini dikarenakan semakin tua umur tanaman maka semakin terakumulasi senyawa bioaktif yang terkandung didalamnya. Peningkatan senyawa bioaktif ini disebabkan proses sintesis senyawa bioaktif yang meningkat apabila tanaman terkena cahaya langsung (Bahriul, Rahman, dan Wahid, 2014). Kandungan antioksidan terutama flavonoid paling tinggi pada daun yang sudah tua (Ilkafah, 2018).

2. Deskripsi pandan wangi (*Pandanus ammaryllifolius Roxb.)*

Pandan wangi adalah jenis tumbuhan monokotil dari famili *Pandanaceae* yang memiliki daun beraroma. Tumbuhan ini mudah dijumpai di pekarangan atau tumbuh liar di tepi- tepi selokan yang teduh. Akarnya besar dan memiliki akar tunjang yang menopang tumbuhan ini bila telah cukup besar (Putra, 2015). Pandan wangi tumbuh dengan tinggi antara 0,5 – 1 m, tetapi dapat tumbuh tinggi hingga 2 m. Batang berbentuk bulat dengan bekas duduk daun, bercabang, menjalar, serta akar tunggang keluar di sekitar pangkal batang dan cabang. Daun tunggal, duduk dengan pangkal memeluk batang, dan tersusun berbaris tiga dalam garis spiral. Daun berbentuk pita, tipis, licin, ujung runcing, tepi rata, bertulang sejajar, panjang 40 – 80 cm dan lebar 3 – 5 cm (Aisyah, 2015).

3. Kandungan senyawa aktif

Metabolit sekunder adalah senyawa organik yang dihasilkan tumbuhan yang tidak memiliki fungsi langsung pada fotosintesis, pertumbuhan atau respirasi,

transport solute, translokasi, sintesis protein, asimilasi nutrient, diferensiasi, pembentukan karbohidrat, protein, dan lipid. Metabolit sekunder umumya hanya dijumpai pada satu spesies atau kelompok spesies, berbeda dari metabolit primer (asam amino, nukleotida, gula, dan lipid) yang dijumpai hampir disemua kingdom tumbuhan (Illing, Safitri, dan Erfiana, 2017).

Beberapa senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak alami tanaman yaitu alkaloid, terpenoid, saponin, polifenol, flavonoid dan steroid. (Illing, Safitri, dan Erfiana, 2017). Berdasarkan penelitian yang telah dilkaukan oleh Aisyah (2015), tanaman daun pandan wangi memilki senyawa metabolit sekunder diantaranya alkaloid, saponin, flavonoid, tanin dan polifenol.

1. Alkaloid

Pada tanaman, alkaloid ditemukan dalam bentuk garam yang larut dalam air seperti sitrat, malat, tartrat, isobutirat, benzoat atau kadang-kadang kombinasi dengan tanin. Secara mikrokimia, ditemukan bahwa alkaloid banyak pada jaringan perifer dari batang atau akar. Alkaloid merupakan salah satu metabolisme sekunder yang terdapat pada tumbuhan, yang biasa dijumpai pada bagian daun, ranting, biji dan kulit batang. Alkaloid mempunyai efek dalam bidang kesehatan berupa pemicu sistem saraf, menaikkan tekanan darah, mengurangi rasa sakit, antimikroba, obat penenang, obat penyakit jantung dan lain-lain (Marjoni, 2016).

2. Saponin

Saponin adalah glikosida triterpena dan sterol yang telah terdeteksi dalam lebih dari 90 genus pada tumbuhan. Glikosida adalah suatu kompleks antara gula pereduksi (glikon) dan buka gula (aglikon). Banyak saponin yang mempunyai satuan gula sampai 5 dan komponen yang umum ialah asam glukuronat. Adanya

saponin dalam tumbuhan ditunjukkan dengan pembentukan busa yang sewaktu mengekstraksi tumbuhan atau memekatkan ekstrak (Khotimah, 2016).

3. Flavonoid

Flavanoid merupakan senyawa polar yang umumnya mudah larut dalam pelarut polar seperti etanol, menthanol, butanol, aseton, dan lain-lain. Flavanoid dalam tumbuhan terikat pada gula sebagai glikosidan aglikon flavonoid, gula yang terikat pada flavanoid mudah larut dalam air. Flavanoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol, senyawa fenol mempunyai sifat efektif menghambat pertumbuhan virus, bakteri dan jamur (Noer, 2016).

4. Tanin

Tanin merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman dan disintesis oleh tanaman. Tanin merupakan senyawa yang mempunyai berat molekul 500-3000 dan mengandung sejumlah besar gugus hidroksi fenolik yang memungkinkan membentuk ikatan silang yang efektif dengan protein dan molekul-molekul lain seperti polisakarida, asam amino, asam lemak dan asam nukleat (Hidayah, 2016).

5. Polifenol

Senyawa polifenol merupakan senyawa yang tersebar luas sebagai zat warna alam yang menyebabkan warna pada bunga, kayu, buah. Mekanisme polifenol sebagai agen antibakteri berperan sebagai toksin dalam protoplasma, merusak dan menembus dinding sel serta mengendapkan protein sel bakteri (Rosidah, Lestari, dan Astuti, 2014).

4. Manfaat daun pandan wangi

Bagian daun pada tanaman pandan wangi memiliki manfaat yaitu sebagai bahan tambahan makanan. Secara khusus, daun ini digunakan untuk memberikan warna hijau serta aroma untuk makanan (Dewanti dan Sofian, 2017).

Pandan wangi juga memiliki beberapa aktivitas farmakologi berdasarkan pelarut ekstraknya, diantaranya sebagai antibakteri, antidiabetik, antikanker, dan antioksidan. Selain itu juga dapat digunakan sebagai obat tradisional, yaitu sebagai obat ketombe, rambut rontok, serta sebagai penghitam rambut (Dewanti dan Sofian, 2017).

B. Simplisia

Simplisia adalah bahan alami yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun dan berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia terdiri dari 3 macam yaitu (Utami, Widiawati, dan Hidayah, 2013) :

1. Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman.
2. Simplisia hewani adalah simplisia yang merupakan hewan utuh, sebagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia.
3. Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia yang berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah dengan cara yang sederhana dan belum berupa zat kimia.

C. Ekstrak

1. Pengertian dan metode ekstraksi

Beberapa definisi mengenai ekstraski adalah sebagai berikut (Marjoni, 2016) :

a. Ekstraksi merupakan suatu proses penyarian zat aktif dari bagian tanaman obat yang bertujuan utuk menarik komponen kimia yang terdapat dalam bagian tanaman obat tersebut.

b. Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut tertentu.

c. Ekstraksi adalah suatu cara untuk memperoleh sediaan yang mengandung senyawa aktif dari suatu bahan alam menggunakan pelarut yang sesuai.

d. Ekstraksi merupakan suatu proses penarikan senyawa dari tumbuh-tumbuhan, hewan dan lain-lain menggunakan pelarut tertentu.

Ekstraksi dapat dilakukan dengan berbagai metode dan cara yang sesuai dengan sifat dan tujuan ekstraksi itu sendiri. Sampel yang umum digunakan adalah sampel segar karena penetrasi pelarut akan berlangsung lebih cepat. Selain itu penggunaan sampel segar dapat mengurangi kemungkinan terbentuknya polimer resin atau artefak lain yang dapat terbentuk selama proses pengeringan. Penggunaan sampel kering juga memiliki kelebihan yaitu dapat mengurangi kadar air yang terdapat di dalam sampel, sehingga dapat mencegah kemungkinan rusaknya senyawa akibat aktivitas antimikroba (Marjoni, 2016).

Ekstraksi dapat dilakukan dengan berbagai metode dan cara yang sesuai dengan sifat dan tujuan ekstraksi itu sendiri. Sampel yang umum digunakan adalah sampel segar karena penetrasi pelarut akan berlangsung lebih cepat. Selain

itu penggunaan sampel segar dapat mengurangi kemungkinan terbentuknya polimer resin atau artefak lain yang dapat terbentuk selama proses pengeringan. Penggunanaan sampel kering juga memiliki kelebihan yaitu dapat mengurangi kadar air yang terdapat di dalam sampel, sehingga dapat mencegah kemungkinan rusaknya senyawa akibat aktivitas antimikroba (Marjoni, 2016).

Pemilihan metode ekstraksi tergantung pada sifat bahan dan senyawa yang akan diisolasi. Sebelum memilih suatu metode, target ekstraksi perlu ditentukan terlebih dahulu seperti (Mukhriani, 2014) :

1. Senyawa bioaktif yang tidak diketahui
2. Senyawa yang diketahui ada pada suatu organisme
3. Sekelompok senyawa dalam suatu organisme yang berhubungan secara struktural.

Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi proses ekstraksi adalah sebagai berikut (Nasir dan Kamila, 2009) :

1. Temperatur operasi

Semakin tinggi temperatur, laju pelarutan zat terlarut oleh pelarut semakin tinggi dan laju difusi pelarut ke dalam serta ke luar padatan, semakin tinggi pula.

2. Waktu ekstraksi

Lamanya waktu ekstraksi mempengaruhi volume ekstrak yang diperoleh. Semakin lama waktu ekstraksi semakin lama juga waktu kontak antara pelarut dengan bahan baku sehingga semakin banyak zat terlarut yang terkandung di dalam padatan yang terlarut di dalam pelarut.

3. Ukuran, bentuk dan kondisi partikel padatan

Pengecilan ukuran partikel ini dapat mempengaruhi waktu ekstraksi. Semakin kecil ukuran partikel berarti permukaan luas kontak antara partikel dan pelarut semakin besar, sehingga waktu ekstraksi akan semakin cepat.

4. Jenis pelarut

Pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi haruslah merupakan pelarut terbaik untuk zat aktif yang terdapat dalam sampel atau simplisia, sehingga zat aktif dapat dipisahkan dari simplisia dan senyawa lainnya yang ada dalam simplisia tersebut. Adapun macam-macam pelarut adalah (Marjoni, 2016) :

a. Air

Air merupakan salah satu pelarut yang mudah, murah dan dipakai secara luas oleh masyarakat. Pada suhu kamar, air merupakan pelarut yang baik untuk melarutkan macam zat seperti garam-garam alkaloida, glikosida dan garam-garam mineralnya. Kekurangan dari air sebagai pelarut yaitu diantaranya adalah air merupakan media yang baik untuk pertumbuhan jamur dan bakteri, sehingga zat yang diekstrak dengan air tidak dapat bertahan lama.

b. Etanol

Berbeda dengan air yang dapat melarutkan berbagai macam zat aktif, etanol hanya dapat melarutkan zat-zat tertentu seperti alkaloida, glikosida, damar-damar dan minyat atsiri. Etanol tidak bisa digunakan untuk mengekstraksi bahan dari jenis-jenis gom, gula dan albumin. Selain itu, etanol juga dapat menghambat kerja dari enzim, menghalangi pertumbuhan jamur dan kebanyakan bakteri. Keuntungan dari penggunaan etanol sebagai pelarut adalah ekstrak yang

dihasilkan lebih spesifik, dapat bertahan lama karena disamping sebagai pelarut, etanol juga berfungsi sebagai pengawet.

c. Gliserin

Gliserin digunakan sebagai pelarut terutama untuk menarik zat dari simplisia yang mengandung zat samak. Di samping itu, gliserin juga merupakan pelarut yang baik untuk golongan tanin dan hasil-hasil oksidannya, berbagai jenis gom dan albumin.

d. Eter

Eter merupakan pelarut yang sangat mudah menguap sehingga tidak dianjurkan untuk pembuatan sediaan obat yang akan disimpan dalam jangka waktu yang lama.

e. Heksana

Heksana adalah pelarut yang berasal dari hasil penyulingan minyak bumi. Heksana merupakan pelarut yang baik untuk lemak dan minyak. Pelarut ini biasanya dipergunakan untuk menghilangkan lemak pengotor dari simplisia sebelum simplisia tersebut dibuat sediaan galenik.

2. Jenis – jenis ekstraksi

Banyak cara yang dapat dilakukan untuk melakukan ekstraksi, berikut ini merupakan jenis-jenis ekstraksi menurut (Marjoni, 2016) :

1) Berdasarkan bentuk substansi dalam campuran :

a. Ekstraksi padat-cair

Proses ektraksi padat-cair ini merupakan proses ekstraksi yang paling banyak ditemukan dalam mengisolasi suatu susbtansi yang terkandung di dalam suatu bahan alam. Proses ini melibatkan susbtan yang berbentuk padat di dalam

campurannya dan memerlukan kontak yang sangat lama antara pelarut dan zat padat. Kesempurnaan proses ekstraksi sangat ditentukan oleh sifat dari bahan alam dan sifat dari bahan yang akan diekstraksi.

b. Ekstraksi cair-cair

Ekstraksi ini dilakukan apabila susbtansi yang akan diekstraksi berbentuk cairan di dalam campurannya.

2) Berdasarkan penggunaan panas :

a. Ekstraksi secara dingin

Metode ekstraksi secara dingin bertujuan untuk mengekstrak senyawa-senyawa yang terdapat dalam simplisia yang tidak tahan terhadap panas atau bersifat thermolabil. Ekstraksi secara dingin dapat dilakukan dengan beberapa cara berikut ini :

1. Maserasi

Maserasi adalah proses ekstraksi sederhana yang dilakukan hanya dengan cara meredam simplisia dalam satu atau campuran pelarut selama waktu tertentu pada temperatur kamar dan terlindung dari cahaya.

2. Perkolasi

Perkolasi adalah proses penyarian zat aktif secara dingin dengan cara mengalirkan pelarut secara kontinu pada simplisia selama waktu tertentu.

b. Ekstraksi secara panas

Metode panas digunakan apabila senyawa-senyawa yang terkandung dalam simplisia sudah dipastikan tahan panas. Metode ekstraksi yang membutuhkan panas diantaranya :

1. Seduhan

Merupakan metode ektraksi paling sederhana hanya dengan merendam simplisia dengan air panas selama waktu tertentu (5-10 menit).

2. Infusa

Infusa merupakan sediaan cair yang dibuat dengan cara menyari simplisia nabati dengan air pada suhu 90^0C selama 15 menit.

3. Digesti

Digesti adalah proses ekstraksi yang cara kerjanya hampir sama dengan maserasi, hanya saja digesti menggunakan pemanasan rendah pada suhu 30-40^0C.

3) Berdasarkan proses pelaksanaan

a. Ekstraksi berkesinambungan

Pada proses ekstraksi ini, pelarut yang sama dipakai berulang-ulang sampai proses ekstraksi seelesai.

b. Ekstraksi bertahap

Dalam ekstraksi ini pada setiap tahap ekstraksi selalu dipakai pelarut yang selalu baru sampai proses ekstraksi selesai.

4) Berdasarkan metode ekstraksi

a. Ekstraksi tunggal

Merupakan proses ekstraksi dengan cara mencampurkan bahan yang akan diekstrak sebanyak satu kali dengan pelarut. Pada ekstraksi ini sebagian dari zat aktif akan terlarut dalam pelarut sampai mencapai suatu keseimbangan. Kekurangan dari ekstraksi dengan cara seperti ini adalah rendahnya rendemen yang dihasilkan.

b. Ekstraksi multi tahap

Merupakan suatu proses ekstraksi dengan cara mencampurkan bahan yang akan diekstraksi beberapa kali dengan pelarut yang baru dalam jumlah yang sama banyak. Ekstrak yang dihasilkan dengan cara ini memiliki rendemen lebih tinggi dibandingkan ekstrak tunggal, karena bahan yang diekstrak mengalami beberapa kali pencampuran dan pemisahan.

D. *Pseudomonas aeruginosa.*

1. Klasifikasi *Pseudomonas aeruginosa.*

Kingdom : Bacteria

Filum : Proteobacteria

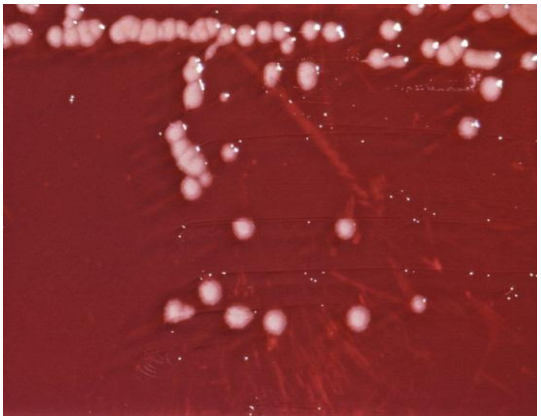
Kelas : Gamma Proteobacteria

Ordo : Pseudomonadales

Famili : Pseudomonadaceae

Genus : *Pseudomonas*

Spesies : *Pseudomonas aeruginosa*



Gambar 2. *Pseudomonas aeruginosa* (Sinulingga, 2015)

2. Morfologi dan fisiologi *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa adalah bakteri gram-negatif berbentuk batang lurus atau lengkung, berukuran sekitar 0,6 x 2 μm. Dapat ditemukan satu-satu, berpasangan, dan kadang-kadang membentuk rantai pendek, tidak mempunyai spora, tidak mempunyai selubung (sheath), serta mempunyai flagel monotrika (flagel tunggal pada kutub) sehingga selalu bergerak (Mayasari, 2006).

Pseudomonas aeruginosa adalah aerob obligat yang tumbuh dengan mudah pada banyak jenis media pembiakan, karena memiliki kebutuhan nutrisi yang sangat sederhana. Di laboratorium, medium paling sederhana untuk pertumbuhannya terdiri dari asetat (untuk karbon) dan amonium sulfat (untuk nitrogen). Metabolisme bersifat respiratorik tetapi dapat tumbuh tanpa O_2 bila tersedia NO_3 sebagai akseptor elektron. Kadang-kadang berbau manis atau menyerupai anggur yang dihasilkan aminoasetofenon. Beberapa strain menghemolisis darah. *Pseudomonas aeruginosa* tumbuh dengan baik pada suhu 37-42°C. Pertumbuhannya pada suhu 42°C membantu membedakannya dari spesies *Pseudomonas* lain dalam kelompok fluoresen. Bakteri ini oksidase positif, nonfermenter, tetapi banyak strain mengoksidasi glukosa (Mayasari, 2006).

Pseudomonas aeruginosa dalam biakan dapat menghasilkan berbagai jenis koloni sehingga memberi kesan biakan dari campuran berbagai spesies bakteri. Tiap jenis koloni dapat mempunyai aktivitas biokimia dan enzimatik berbeda serta pola kepekaan antimikroba yang berbeda pula. Isolat dari tanah atau air mempunyai ciri koloni yang kecil dan tidak rata. Pembiakan dari spesimen klinik biasanya menghasilkan satu atau dua tipe koloni yang halus (Mayasari, 2006) :

1) Koloni besar dan halus dengan permukaan rata dan meninggi (*fried-egg appearance).*

2) Koloni halus dan mukoid sebagai hasil produksi berlebihan dari alginat. Tipe ini sering didapat dari sekresi saluran pernafasan dan saluran kemih.

3. Pathogenesis dan gambaran klinis

Kemampuan *Pseudomonas aeruginosa* menyerang jaringan bergantung pada produksi enzim- enzim dan toksin-toksin yang merusak barier tubuh dan sel-sel inang. Endotoksin *Pseudomonas aenrginosa* seperti yang dihasilkan bakteri gram-negatif lain, menyebabkan gejala sepsis dan syok septik. Eksotoksin A yang dihasilkan banyak strain menyebabkan nekrosis jaringan dan dapat mematikan hewan bila disuntikkan dalam bentuk murni. Eksotoksin A menghambat sintesis protein eukaryotik dengan cara kerja yang sama dengan cara kerja toksin difteria (walaupun struktur kedua toksin ini tidak sama) yaitu mengkatalisis pemindahan sebagian ADP-ribosil dari NAD / *nicotinamide adenine dinucleotide* kepada EF-2 / *elongation factor*-2 (Mayasari, 2006).

Hasil dari kompleks ADP-ribosil-EF-2 adalah inaktivasi sintesis protein sehingga mengacaukan fungsi fisiologik sel normal. Enzim-enzim ekstraseluler, seperti elastase dan protease mempunyai efek histotoksik dan mempermudah invasi organisme ini ke dalam pembuluh darah (Mayasari, 2006).

Pseudomonas aeruginosa menimbulkan infeksi pada luka dan luka bakar terutama luka bakar derajat II dan III dengan nanah hijau kebiruan disebabkan pigmen piosianin, meningitis bila masuk lewat punksi lumbal, dan infeksi saluran kemih bila masuk bersama kateter dan instrumen lain atau dalam larutan untuk irigasi. Keterlibatan saluran pernapasan, terutama dari respirator yang

terkontaminasi, mengakibatkan pneumonia yang disertai nekrosis. Bakteri ini sering ditemukan pada perenang dengan otitis eksterna ringan, serta dapat menyebabkan otitis eksterna invasif (maligna) pada penderita diabetes. Infeksi mata yang dengan cepat mengakibatkan kerusakan mata, sering terjadi setelah cedera atau pembedahan. Pada bayi atau orang yang lemah dapat menyerang aliran darah dan mengakibatkan sepsis yang fatal, biasanya terjadi pada penderita leukemia atau limfoma yang mendapat obat antineoplastik atau terapi radiasi, dan pada penderita dengan luka bakar berat (Mayasari, 2006).

E. Antimikroba

Antimikroba (AM) adalah obat pembasmi mikroba, khususnya mikroba yang merugikan manusia. Berdasarkan sifat toksisitas selektif, ada antimikroba yang bersifat menghambat pertumbuhan mikroba dan dikenal sebagai aktivitas bakteriostatik, dan ada yang bersifat membunuh mikroba, dikenal sebagai aktivitas bakterisid (Fadhilah, 2012).

1. Pengujian aktivitas antimikroba

Penentuan setiap kepekaan kuman terhadap suatu obat adalah dengan menentukan kadar obat terkecil yang dapat menghambat pertumbuhan kuman in vitro. Beberapa cara pengujian antibakteri adalah sebagai berikut (Prayoga, 2013):

a. Metode difusi

Pada metode ini, penentuan aktivitas didasarkan pada kemampuan difusi dari zat antimikroba dalam lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan mikroba uji. Pada metode ini dapat dilakukan dengan 3 cara, yaitu :

1. Cara cakram *(Disc)*

Cara ini merupakan cara yang paling sering digunakan untuk menentukan kepekaan kuman terhadap berbagai macam obat-obatan. Pada cara ini, digunakan suatu cakram kertas saring *(paper disc)* yang berfungsi sebagai tempat menampung zat antimikroba. Kertas saring tersebut kemudian diletakkan pada lempeng agar yang telah diinokulasi mikroba uji, kemudian diinkubasi pada waktu tertentu dan suhu tertentu, sesuai dengan kondisi optimum dari mikroba uji (Prayoga, 2013). Kelebihan Metode Defusi Cakram adalah mudah dilakukan, tidak perlu memerlukan peralatan khusus (Oktavia, 2017).

2. Cara parit *(Ditch)*

Suatu lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji dibuat sebidang parit. Parit tersebut berisi zat antimikroba, kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu optimum yang sesuai untuk mikroba uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa ada tidaknya zona hambat yang akan terbentuk di sekitar parit.

3. Cara sumuran *(Hole/cup)*

Pada lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji dibuat suatu lubang yang selanjutnya diisi dengan zat antimikroba uji. Kemudian setiap lubang itu diisi dengan zat uji. Setelah diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai dengan mikroba uji.

b. Metode dilusi

Pada metode ini dilakukan dengan mencampurkan zat antimikroba dan media agar, yang kemudian diinokulasikan dengan mikroba uji. Metode ini terdiri atas dua cara, yaitu :

1. Pengenceran serial dalam tabung

Pengujian dilakukan dengan menggunakan sederetan tabung reaksi yang diisi dengan inokulum kuman dan larutan antibakteri dalam berbagai konsentrasi. Zat yang akan diuji aktivitas bakterinya diencerkan sesuai serial dalam media cair, kemudian diinokulasikan dengan kuman dan diinkubasi pada waktu dan suhu yang sesuai dengan mikroba uji.

2. Penipisan lempeng agar

Zat antibakteri diencerkan dalam media agar dan kemudian dituangkan kedalam cawan petri. Setelah agar membeku, diinokulasikan kuman kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu tertentu. Konsentrasi terendah dari larutan zat antibakteri yang masih memberikan hambatan terhadap pertumbuhan kuman ditetapkan sebagai konsentrasi Hambat Minimal (KHM).

Tabel 1
Katagori Daya Hambat Bakteri

Diameter Zona Hambat	Kategori
≤5 mm	Lemah
6 – 10 mm	Sedang
11 – 20 mm	Kuat
≥ 20 mm	Sangat kuat

(Sudrajat, Sadani, dan Sudiastuti, 2012)

2. Faktor-faktor yang mempengaruhi ukuran diameter zona hambat

Adapun faktor-faktor yang mempengaruhi ukuran diameter zona hambat (Kuswiyanto, 2015) :

1) Kekeruhan suspensi bakteri. Suspensi yang kurang keruh menunjukkan diameter zona hambatan lebih lebar. Makin keruh suspensi, diameter zona hambatan makin sempit. Ini berarti R dilaporkan S atau S dilaporkan R.

2) Waktu pengeringan/ peresapan suspensi bakteri ke dalam agar MH. Tidak boleh lebih dari batas waktu yang ditentukan karena dapat memper sempit diameter zona hambatan. Ini berarti S dilaporkan R.

3) Temperatur inkubasi. Untuk memperoleh pertumbuhan yang optimal, inkubasi dilakukan pada suhu 35^0C. Suhu kurang dari 35^0C menyebabkan diameter zona hambatan lebih lebar sehingga R dilaporkan S. Ini bisa terjadi pada media cawan yang diletakkan bertumpuk lebih dari 2 cawan pada saat inkubasi. Cawan yang berada ditengah suhunya kurang dari 35^0C. Jika inkubasi pada suhu lebih dari 35^0C, terkadang ada bakteri yang kurang subur pertumbuhannya dan ada pula obat yang difusinya kurang baik.

4) Waktu inkubasi. Hampir semua cara menggunakan waktu inkubasi selama 16-18 jam. Jika inkubasi kurang dari 16 jam, pertumbuhan bakteri belum sempurna sehingga sukar dibaca atau diameter zona hambatan lebih lebar. Sebaliknya, jika inkubasi lebih dari 18 jam, pertumbuhan lebih sempurna sehingga diameter zona hambatan semakin sempit.

5) Tebalnya agar-agar. Ketebalan agar-agar sekitar 4mm. Kurang dari itu difusi obat lebih cepat, lebih dari itu difusi obat lambat.

6) Jarak antar cakram obat. Jarak yang dianjurkan minimal 15 mm untuk mencegah zona hambatan yang tumpang tindih. Cawan petri dengan diameter 9-10 cm mampu menampung paling banyak 7 cakram obat.

7) Potensi cakram obat. Tiap jenis obat mempunyai diameter cakram yang sama, tetapi potensinya atau kekuatannya berbeda. Hal yang harus diperhatikan adalah cara penyimpanan dan tanggal kedaluarsanya. Selain itu, setiap cakram obat yang baru diterima harus dicek dengan kontrol strain.

8) Komposisi media. Komposisi media sangat besar pengaruhnya terhadap pertumbuhan bakteri, difusi obat, aktivitas obat, dan sebagainya.

F. Antibiotik

1. Pengertian antibiotik

Antibiotik merupakan bahan kimiawi yang dihasilkan oleh organisme seperti bakteri dan jamur, yang dapat mengganggu mikroorganisme lain. Biasanya bahan ini dapat membunuh bakteri (bakterisidal) atau menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik) atau mikroorganisme lain. Beberapa antibiotik bersifat aktif terhadap beberapa spesies bakteri (berspektrum luas) sedangkan antibiotik lain bersifat lebih spesifik terhadap spesies bakteri tertentu / berspektrum sempit (Sudigdoadi, 2001).

2. Mekanisme kerja antibiotik

Secara umum mekanisme kerja antibiotik pada sel bakteri dapat terjadi melalui bebrapa cara yaitu (Sudigdoadi, 2001) :

- Menghambat sintesis dinding sel bakteri
- Menghambat fungsi membran plasma
- Menghambat sintesis asam nukleat
- Menghambat sintesis protein melalui penghambatan pada tahap translasi dan transkripsi meterial genetik.
- Menghambat metabolisme folat

3. Ciprofloxacin

Antibiotik yang sering digunakan pada infeksi *Pseudomonas aeruginosa* adalah penisilin yang dikombinasi dengan aminoglukosida, aztreonam, imipenem, quinolon, termasuk siprofloksasin. *Ciprofloxacin* merupakan agen generasi kedua,

salah satu obat sintetik derivat *quinolon.* Mekanisme kerjanya adalah menghambat aktivitas DNA *gyrase* bakteri, bersifat bakterisid dengan spektrum luas terhadap bakteri Gram-positif maupun negatif (Rieuwpassa, Yunus, dan Arsana, 2011). Suatu penelitian menyebutkan bahwa psedumononas aeruginosa sensitif terhadap amipisilin 15,4%, eritromisin 15,4%, amoksilin 19,2%, dan ciproloxacin 71,2% (Rukmono dan Zuraida, 2013).