BAB II

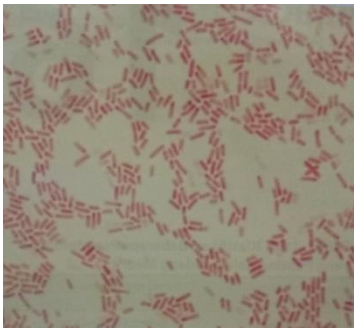
TINJAUAN PUSTAKA

A. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa merupakan flora normal usus dan kulit manusia dalam jumlah yang kecil serta merupakan patogen utama dalam grup *Pseudomonas*. *Pseudomonas aeruginosa* tersebar luas di alam dan biasanya ditemukan pada lingkungan yang lembab di rumah sakit. Bakteri tersebut membentuk koloni yang bersifat saprofit pada manusia yang sehat, tetapi menyebabkan penyakit pada manusia dengan pertahanan tubuh yang tidak adekuat. *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri patogen nosokomial nomor empat yang paling banyak diisolasi dari semua infeksi yang didapat di rumah sakit (Nugroho, 2010). Infeksi yang terjadi pada darah, pneumonia, infeksi saluran kemih, dan infeksi sesudah operasi dapat menyebabkan infeksi berat yang dapat menyebabkan kematian (Soekiman, 2016).

1. Morfologi dan identifikasi

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri berbentuk batang, berukuran sekitar 0,6 x 2 mikro meter. Bakteri ini bersifat gram negatif dan tampak dalam bentuk tunggal, berpasangan, kadang-kadang rantai pendek dan dapat bergerak (*motil*) karena adanya satu flagel (Nugroho, 2010). Bakteri ini dapat hidup dan berkembang dalam keadaan tanpa oksigen. Isolat *Pseudomonas aeruginosa* dapat membentuk tiga macam koloni (Soekiman, 2016).



Gambar 1. Pulasan gram *Pseudomonas aeruginosa* dengan pembesaran 1.000 ×
Sumber : (Nugroho, 2010)

Isolat yang berasal dari bahan klinis menghasilkan koloni berukuran besar, halus, dengan tepi yang datar dan bagian tengah menonjol, mirip telur dadar, sedangkan isolat berasal dari sekresi respirasi dan sekresi saluran kemih berbentuk mukoid dan berlendir (Soekiman, 2016).

2. Kultur

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri obligat aerob yang mudah tumbuh pada berbagai medium kultur, kadang-kadang menghasilkan aroma yang manis dan berbau seperti anggur atau seperti jagung taco. *Pseudomonas aeruginosa* membentuk koloni yang bundar dan licin dengan warna kehijauan yang berfluoresensi. Bakteri ini sering menghasilkan pigmen kebiruan tak berfluoresensi dan piosianin yang berdifusi ke dalam agar. Spesies *Pseudomonas* lainnya tidak menghasilkan piosianin. Banyak galur *Pseudomonas aeruginosa* juga menghasilkan pigmen berfluoresensi, pioverdin yang memberikan warna kehijauan pada agar (Soekiman, 2016).

3. Karakteristik pertumbuhan

Pseudomonas aeruginosa tumbuh dengan baik pada suhu 37 – 42 ^{o}C. Kemampuannya untuk tumbuh pada suhu 42° C membantu membedakannya dari spesies *Pseudomonas* lain dari grup fluorsens. Bakteri tersebut bersifat oksidase

positif. *Pseudomonas aeruginosa* tidak memfermentasi karbohidrat, tetapi banyak galur yang mengoksidasi glukosa. Identifikasi *Pseudomonas aeruginosa* biasanya di dasarkan pada morfologi koloni. Oksidase positif ditunjukan dengan adanya pigmen khas dan pertumbuhan pada suhu 42° C (Nugroho, 2010).

4. Patogenesis

Pseudomonas aeruginosa menjadi patogenik hanya jika mencapai daerah yang tidak memiliki pertahanan normal, misalnya membran mukosa dan kulit yang terluka oleh cedera jaringan langsung, saat penggunaan kateter urin atau intravena, jika terdapat neutropenia, seperti pada kemoterapi kanker. Bakteri melekat dan membentuk koloni pada membran mukosa atau kulit, menginvasi secara lokal, dan menyebabkan penyakit sistemik. Proses tadi di bantu oleh pili, enzim, dan toksin. *Pseudomonas aeruginosa* dan *Pseudomonas* lain resisten terhadap banyak obat antimikroba sehingga bakteri ini menjadi dominan dan penting ketika bakteri flora normal yang lebih sensitif tertekan (Nugroho, 2010). Sebagai penyebab infeksi saluran kemih adalah bakteri gram negatif terutama kelompok *Pseudomonas sp*. dan kelompok *Enterobacter* hal ini disebabkan penggunaan kateter kandung kemih (Soekiman, 2016).

5. Uji laboratorium

Spesimen yang diinokulasi pada agar darah dan media deferensial lazim digunakan untuk menumbuhkan batang gram negatif enterik. *Pseudomonas* mudah tumbuh pada sebagian besar medium tersebut, tetapi mungkin tumbuh lebih lambat dibandingkan bakteri enterik. *Pseudomonas aeruginosa* tidak memfermentasi laktosa dan mudah dibedakan dari bakteri yang memfermentasi

laktosa. Kultur merupakan pemeriksaan yang spesifik untuk mendiagnosis infeksi *Pseudomonas aeruginosa* (Nugroho, 2010).

6. Terapi

Infeksi *Pseudomonas aeruginosa* yang bermakna secara klinis tidak boleh diterapi dengan obat tunggal karena angka keberhasilannya rendah dan bakteri dengan cepat menjadi resisten jika hanya di berikan obat tunggal. Penisilin seperti piperasilin yang sensitiv terhadap *Pseudomonas aeruginosa* meliputi Aztreonam, Karbapanem seperti Imipenem atau Meropenem, dan Kuinolon terbaru, termasuk Siprofloksasin. Pola sensitivitas *Pseudomonas aeruginosa* bervariasi secara geografis dan uji sensitivitas harus dilakukan untuk membantu pemilihan terapi antimikroba (Nugroho, 2010).

B. Obat Herbal

Obat herbal merupakan obat yang dibuat menggunakan bahan-bahan alami terutama dari tumbuhan. Penggunaan daun, akar, batang, biji, sampai buah bisa di kategorikan sebagai obat herbal. Obat herbal memang bertolak belakang dengan obat kimia (Afin, 2013).

1. Manfaat dan kelebihan obat herbal

Obat herbal yang ada di Indonesia saat ini sebagian besar dibuat sendiri dan di proses secara tradisional. Padahal di negara - negara lainnya, baik negara berkembang seperti Malaysia dan negara maju seperti Jerman dan negara Eropa lain telah mengembangkan obat herbal secara massal. Obat herbal yang di produksi secara massal di pabrik lebih higienis dan terbukti mampu mengobati penyakit secara menyeluruh serta memperbaiki organ tubuh yang terserang

penyakit. Sifat menyeluruh yang ada pada obat herbal, membuat obat - obatan berbahan tumbuhan ini memiliki tiga manfaat penting sebagai berikut :

a. Mencegah terjadinya suatu penyakit

Sebagaimana vitamin yang di kemas secara modern, obat herbal juga memiliki fungsi mencegah terjadinya suatu penyakit. Pencegahan lebih mudah dilakukan daripada penyembuhan satu penyakit. Misalnya saja minum herbal kunyit asam yang bisa mencegah terjadinya panas dalam.

b. Menyembuhkan penyakit yang telah menyerang tubuh

Selain mencegah terjadinya suatu penyakit, obat herbal tertentu juga memiliki manfaat sebagai penyembuh penyakit. Manfaat ini sesuai dengan kandungan yang terdapat dalam masing-masing bahan obat herbal tersebut

c. Memperbaiki sistem imun dan organ tubuh yang rusak

Obat herbal bukan hanya menyembuhkan penyakit begitu saja, melainkan manfaatnya lebih mendalam seperti memperbaiki sistem imun tubuh yang lemah setelah terserang penyakit. Manfaat lain juga dirasakan pada penderita suatu penyakit tertentu setelah sembuh. Obat herbal memperbaiki organ tubuh yang diserang penyakit sampai benar-benar berfungsi normal (Afin, 2013).

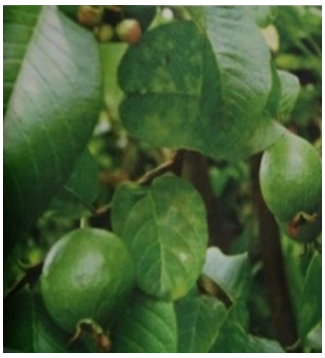
2. Daun sebagai komponen pengobatan herbal

Daun merupakan salah satu bahan pembuat obat herbal yang memang berasal dari tumbuhan. Sebagai bagian dari tumbuhan tentu saja daun banyak mengandung manfaat yang terdapat pada keseluruhan tumbuhan itu sendiri. Karena di dalam daun terdapat proses fotosintesis, yaitu proses pemasakan makanan bagi tumbuhan yang selanjutnya disalurkan ke seluruh anggota tubuh. Sebelum dimanfaatkan sebagai obat herbal, daun - daun harus di bersihkan dari

kotoran yang menempel pada daun dengan cara mencucinya pada air mengalir (Afin, 2013).

C. Jambu Biji (*Psidium guajava*)

Jambu biji (*Psidium guajava*) di kenal juga dengan nama jambu siki atau jambu klutuk. Jambu biji berasal dari amerika selatan, tepatnya dari Brasil. Akan tetapi, jambu biji kemudian menjadi salah satu jenis buah yang populer di kawasan tropis lainnya seperti asia tenggara, termasuk indonesia. Jambu biji di Indonesia sudah memasyarakat. Pohon jambu biji dapat dengan mudah tumbuh di pekarangan atau kebun (Akbar, 2015).



Gambar 2. Daun jambu biji putih (*Psidium guajava*)
Sumber : (Herbie, 2015)

Divisi : Spermatophyta

Sub divisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledoneae

Bangsa : Myrtales

Suku : Myrtaceae

Marga : Psidium

Jenis : *Psidium guajava*

Pohon jambu biji merupakan tanaman berupa perdu setinggi 10 - 15 m. Batang berkayu berbentuk bulat, kulit batang licin dan mengelupas. Batang

bercabang dan berwarna coklat kehijauan. Daun berupa daun tunggal berbentuk bulat telur dengan pertulangan menyirip. Ujung daun tumpul dan pangkalnya membulat, tepi daun rata, daun tumbuh saling berhadapan. Panjang daun 6 - 14 cm dan lebarnya 3 - 6 cm. Daun berwarna hijau kekuningan atau hijau. Bunga tunggal, bertangkai dan berada di ketiak daun. Kelopak bunga berbentuk corong dengan panjang 7 - 10 mm. Mahkota berbentuk bulat telur dengan panjang 1,5 cm. Benang sari berbentuk pipih dan berwarna putih. Putik berbentuk bulat kecil, berwarna putih atau putih kekuningan. Buah buni berbentuk bulat telur, berwarna putih kekuningan. Bijinya keras, kecil, berwarna kuning kecoklatan. Akarnya merupakan akar tunggang yang berwarna kuning kecoklatan (Herbie, 2015).

Tanaman ini dapat tumbuh subur di daerah dataran rendah sampai pada ketinggian 1200 meter di atas permukaan laut. Pada umur 2-3 tahun jambu biji sudah mulai berbuah. Bijinya banyak dan terdapat pada daging buahnya (Satya, 2013). Perkembangan jambu biji di Indonesia cukup signifikan,terbukti dengan munculnya berbagai jenis jambu biji lokal seperti jambu tanjung barat, jambu biji getas merah, jambu sukun, jambu bangkok, jambu kristal, dan lain-lain (Akbar, 2015).

1. Manfaat

Jambu biji mengandung vitamin C yang cukup tinggi, bahkan dua kali lipatnya kandungan vitamin C yang terdapat pada jeruk manis. Selain itu, jambu biji juga mempunyai unsur nutrisi lainnya seperti energi, protein, karbohidrat, serat, kalsium, fosfor, zat besi, vitamin A, serta vitamin B. Maka tidak heran jika khasiat jambu biji untuk kesehatan cukup signifikan. Selain itu, buah dan daun jambu biji juga berkhasiat sebgai anti radang, anti virus, anti alergi, penguat

jantung, membantu sistem pencernaan, menyembuhkan diare, mengobati penyakit maag, disentri ,mengobati diabetes, menurunkan tekanan darah tinggi, dan mengatasi keputihan pada wanita (Satya, 2013).

Buah jambu juga mengandung senyawa fitokimia seperti likopen dan karoten, polifenol dan flavonoid. Kandungan vitamin A bersama dengan vitamin C dan E berfungsi sebagai senyawa antioksidan yang dapat menangkal radikal bebas penyebab kerusakan sel dan proses penuaan dini, menurunkan risiko berbagai penyakit degeneratif (jantung, diabetes, katarak, hipertensi) dan kanker (Afrianti, 2010)

2. Kandungan

Daun dari tanaman ini memiliki rasa sepat dan kaya akan senyawa kimia seperti kandungan flavonoid, tanin, alkaloid, steroid, dan saponin (Hidayat, 2015). Kandungan senyawa kimia ini memiliki mekanisme kerja dalam menghambat pertumbuhan bakteri seperti :

a. Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa-senyawa organik yang terdapat dalam tumbuh-tumbuhan, bersifat basa, dan struktur kimianya mempunyai lingkar heterosiklis dengan nitrogen sebagai hetero atomnya. Unsur-unsur penyusun alkaloid adalah karbon, hidrogen, nitrogen, dan oksigen. Alkaloid yang struktur kimianya tidak mengandung oksigen hanya ada beberapa saja. Ada pula alkaloid yang mengandung unsur lain selain keempat unsur yang telah disebutkan. Adanya nitrogen dalam lingkar pada struktur kimia alkaloid, menyebabkan alkaloid tersebut besifat alkali. Oleh karena itu, golongan senyawa-senyawa ini disebut alkaloid (Sumardjo, 2009).

Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme kerjanya adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh, terganggunya sintesis peptidoglikan sehingga pembentukan sel tidak sempurna karena tidak mengandung peptidoglikan dan dinding selnya hanya meliputi membran sel. Rusaknya dinding sel akan menyebabkan terhambatnya perumbuhan sel bakteri dan pada akhirnya bakteri akan mati (Retnowati, Bialangi dan Posang, 2011).

b. Flavonoid

Flavonoid adalah pigmen tumbuhan yang bertanggung jawab atas warna bunga, buah, dan kadang daun. Bila tidak langsung terlihat, zat ini sering bertindak sebagai *co-pigmen*. Misalnya, pigmen flavon dan flavonol tak berwarna melindungi jaringan tanaman dan senyawa seperti antosianin terhadap kerusakan radiasi ultraviolet (Hoffmann, 2003)**.**

Senyawa flavonoid merupakan senyawa antibakteri yang mempunyai kemampuan mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel. Mekanisme penghambatannya dengan cara merusak dinding sel yang terdiri atas lipid dan asam amino yang akan bereaksi dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid. Senyawa flavonoid mampu membentuk senyawa kompleks dengan protein melalui ikatan hidrogen sehingga struktur tersier protein terganggu dan protein tidak dapat berfungsi lagi sehingga terjadi denaturasi protein dan asam nukleat. Denaturasi tersebut menyebabkan koagulasi protein serta mengganggu metabolisme dan fungsi fisiologis bakteri (Heni, Savante dan Anita, 2015).

c. Saponin

Saponin adalah sekelompok glikosida tanaman yang dapat larut dalam air dan dapat menempel pada steroid lipofilik (C_{27}) atau triterpenoid (C_{30}). Asimetri hidrofobikidrofi ini berarti bahwa senyawa ini memiliki kemampuan untuk menurunkan tegangan permukaan dan bersifat seperti sabun. Saponin membentuk busa dalam larutan berair (Hoffmann, 2003).

Saponin merupakan senyawa aktif yang kuat dan menimbulkan busa bila dikocok. Saponin bekerja sebagai antibakteri dengan mengganggu stabilitas membran sel bakteri sehingga menyebabkan sel bakteri lisis. Mekanisme kerja saponin termasuk dalam kelompok antibakteri yang mengganggu permeabilitas membran sel bakteri, yang mengakibatkan kerusakan membran sel dan menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel bakteri yaitu protein, asam nukleat, dan nukleotida. Hal ini akan mengakibatkan sel bakteri mengalami lisis (Kurniawan dan Wayan, 2015).

d. Tanin

Tanin adalah senyawa polifenol yang mengendapkan protein dan membentuk kompleks dengan polisakarida yang terdiri dari kelompok oligomer dan polimer yang sangat beragam (Hoffmann, 2003). Mekanisme antimikroba tanin berkaitan dengan kemampuan tannin membentuk kompleks dengan protein polipeptida dinding sel bakteri sehingga terjadi gangguan pada dinding bakteri dan bakteri lisis (Fachry, Arief dan Guntur, 2012).

Tanin merupakan komponen utama dari daun jambu biji, senyawa tanin yang terkandung dalam daun jambu biji sebesar 17% (Fachry, Arief dan Guntur, 2012).

Persentasi rata-rata kadar tanin dalam pelarut etanol lebih tinggi dibandingkan dalam pelarut air (Sulastri, 2009).

D. Ekstraksi

Ektraksi adalah suatu proses penyaringan zat aktif dari bagian tanaman obat yang bertujuan untuk menarik komponen kimia yang terdapat dalam suatu bahan alam menggunakan pelarut tertentu. Proses ekstraksi pada dasarnya adalah proses perpindahan massa dari komponen zat padat yang terdapat pada simplisia kedalam pelarut organik yang digunakan. Ekstraksi dapat dilakukan dengan berbagai metode dan cara yang sesuai dengan sifat dan tujuan ekstraksi itu sendiri. Sampel yang akan diekstraksi dapat berbentuk sampel segar ataupun sampel yang telah dikeringkan. Penggunaan sampel kering memiliki kelebihan yaitu dapat mengurangi kadar air yang terdapat didalam sampel, sehingga dapat mencegah kemungkinan rusaknya senyawa akibat aktifitas antimikroba. Ekstrak adalah suatu produk hasil pengambilan zat aktif melalui proses ekstraksi menggunakan pelarut. Bentuk dari ekstrak yang dihasilkan dapat berupa ekstrak kental atau kering tergantung jumlah pelarut yang diuapkan (Marjoni, 2016).

1. Jenis ekstraksi

Metode ekstraksi secara dingin bertujuan untuk mengekstrak senyawa-senyawa yang terdapat dalam simplisia yang tidak tahan terhadap panas atau bersifat thermos stabil. Ekstraksi secara dingin dapat dilakukan dengan cara maserasi. Maserasi adalah proses ekstraksi sederhana yang dilakukan hanya dengan cara merendam simplisia dalam satu atau campuran pelarut selama waktu tertentu pada temperatur ruang dan terlindung dari cahaya.

a) Prinsip kerja maserasi

Prinsip kerja dari maserasi adalah proses melarutnya zat aktif berdasarkan sifat kelarutannya dalam suatu pelarut (*like disolved like*). Ekstraksi zat aktif dilakukan dengan cara merendam simplisia nabati dalam pelarut yang sesuai selama beberapa hari pada suhu kamar dan terlindung dari cahaya. Pelarut yang digunakan akan menembus dinding sel dan kemudian masuk kedalam sel tanaman yang penuh dengan zat aktif. Pertemuan antara sel aktif dan pelarut akan mengakibatkan terjadinya proses pelarutan dimana zat aktif akan terlarut dalam pelarut. Pelarut yang ada di dalam sel mengandung zat aktif sementara pelarut yang ada di luar sel belum terisi zat aktif, sehingga terjadi ketidak seimbangan antara konsentrasi zat aktif di dalam dengan konsentrasi zat aktif yang ada di luar sel. Perbedaan konsentrasi ini akan mengakibatkan terjadinya proses difusi, dimana larutan dengan konsentrasi tinggi akan terdesak keluar sel dan digantikan oleh pelarut dengan konsentrasi rendah. Proses ini terjadi berulang-ulang sampai di dapat suatu kesetimbangan konsentrasi larutan antara di dalam sel dengan konsentrasi larutan di luar sel.

b) Pelarut yang digunakan dalam maserasi

Pelarut yang dapat digunakan pada maserasi adalah air, etanol, etanol-air atau eter. Pilihan utama untuk pelarut pada maserasi adalah etanol karena etanol memiliki beberapa keunggulan sebagai pelarut, diantaranya :

(1) Etanol bersifat lebih selektif

(2) Dapat menghambat pertumbuhan kapang dan kuman

(3) Bersifat non toksik (tidak beracun)

(4) Etanol bersifat netral

(5) Memiliki daya absorbsi yang baik

(6) Dapat bercampur dengan air pada berbagai perbandingan

(7) Etanol memiliki titik didih yang rendah yaitu 70°C sehingga panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit

(8) Etanol dapat melarutkan berbagai zat aktif dan meminimalisir terlarutnya zat penggangu seperti lemak.

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Darsono dan Devi (2003) dimana didapatkan bahwa etanol 96% terbukti tidak membentuk zona hambat.

c) Modifikasi metoda maserasi

(1) Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (pengaduk kontiniu) menggunakan pemanasan lemah yaitu pada suhu 30 ^{o}C -50 ^{o}C. Maserasi dengan cara ini hanya dapat dilakukan untuk simplisia yang memiliki zat aktif tahan terhadap pemanasan.

(2) Maserasi dengan mesin pengaduk

Penggunaan mesin pengaduk yang berputar secara kontiniu dapat mempersingkat waktu maserasi menjadi 6 sampai 24 jam. Melalui pengadukan proses ekstraksi secara intensif dapat memberikan hasil ekstrasi yang lebih baik.

(3) Remaserasi

Simplisia dimaserasi dengan pelarut pertama, setelah di endapkan, tuangkan dan diperas, ampasnya dimaserasi kembali dengan pelarut kedua (Marjoni, 2016).

2. Pelarut untuk ekstraksi

Pelarut pada umumnya adalah zat yang berada pada larutan dalam jumlah yang besar, sedangkan zat lainnya dianggap sebagai zat terlarut. 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. Hasil akhir dari ekstraksi ini adalah didapatkannya ekstrak yang hanya mengandung sebagian besar dari zat aktif yang diinginkan. Adapun beberapa macam pelarut antara lain :

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 berbagai macam zat seperti : garam-garam alkaloida, glikosida, asam tumbuh-tumbuhan, zat warna dan garam-garam mineral lainnya. Kekurangan dari air sebagai pelarut diantaranya adalah air merupakan media yang baik untuk pertumbuhan jamur dan bakteri, sehingga zat yang diekstrak dengan air tidak dapat bertahan lama. Selain itu, air dapat mengembangkan simplisia sedemikian sehingga akan menyulitkan dalam ekstraksi terutama dengan metoda perkolasi.

b. Etanol

Keuntungan dari penggunaan etanol sebagai pelarut adalah ekstrak yang dihasilkan lebih spesifik, dapat bertahan lama karena di samping sebagai pelarut, etanol juga berfungsi sebagai pengawet.

c. Eter

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

d. Chloroform

Chloroform tidak dipergunakan untuk sediaan dalam, karena secara farmakologi, chloroform mempunyai efek toksik. Chloroform biasanya digunakan untuk menarik bahan-bahan yang mengandung basa alkaloida, damar, minyak lemak, dan minyak atsiri (Marjoni, 2016).

3. Penguapan hasil ekstraksi

Penguapan (Evaporasi) adalah peristiwa menguapnya pelarut dari campurannya untuk mendapatkan konsistensi ekstrak yang lebih pekat. Penguapan bertujuan memekatkan konsentrasi larutan sehingga di dapatkan larutan dengan konsentrasi yang lebih tinggi. Penguapan biasanya selalu didahului dengan proses pemanasan. Panas yang dibutuhkan dalam proses penguapan dapat disuplai secara alami menggunakan sinar matahari atau dapat juga dengan cara penambahan uap panas (Marjoni, 2016).

a. Dasar metoda penguapan

Proses penguapan dilakukan dengan cara menguapkan sebagian dari pelarut pada titik didihnya, sehingga diperoleh larutan zat cair yang lebih pekat dengan konsentrasi lebih tinggi. Uap yang terbentuk pada proses penguapan biasanya hanya terdiri dari satu komponen dan jika uapnya dalam bentuk campuran secara umum tidak dilakukan usaha untuk memisahkan komponen-komponennya.

b. Alat yang digunakan pada proses penguapan

Salah satu alat yang sering digunakan dari berbagai penguapan yaitu *rotary evaporator* dimana alat ini merupakan alat yang biasa digunakan di laboratorium kimia untuk mengefisiensikan dan mempercepat pemisahan pelarut dari suatu larutan. *Rotary vacum evaporator* merupakan suatu instrumen yang tergabung

antara beberapa instrumen yang menggabung menjadi satu bagian menggunakan prinsip destilasi (pemisahan). Vakum Evaporator berfungsi untuk menurunkan tekanan suatu cairan sehingga titik didihnya menjadi lebih rendah dari titik didih aslinya.

1) Prinsip *rotary evaporator*

Prinsip kerja dari *rotary evaporator* adalah menurunkan tekanan dari suatu pelarut sehingga dapat menguap pada suhu yang jauh dibawah titik didihnya. Pemisahan ekstrak terjadi akibat adanya pemanasan pada suhu rendah dalam suasana vakum dan dipercepat dengan perputaran labu. Pemanasan dan perputaran labu dalam kondisi vakum inilah yang mengakibatkan pelarut dapat menguap 5 ^{o}C -10°C di bawah titik didihnya akibat penurunan tekanan. Prinsip ini membuat pelarut dapat dipisahkan dari zat terlarut tanpa pemanasan yang tinggi sehingga senyawa yang terkandung dalam pelarut tidak rusak oleh suhu tinggi. *Rotary Evaporator* lebih disukai karena mampu menguapkan pelarut di bawah titik didihnya dan zat aktif yang terkandung tidak rusak oleh suhu yang tinggi. *Rotary Evaporator* ini jauh lebih unggul, karena memiliki teknik yang berbeda dengan teknik pemisahan yang lainnya.

Penguapan dapat terjadi karena adanya pemanasan yang ditimbulkan oleh alat *hot plate* dan dibantu dengan penurunan tekanan pada labu tempat sampel serta dipercepat dengan pemutaran labu tempat sampel. Dengan bantuan pompa vakum yang mengalirkan air dingin, kemudian dikeluarkan lagi oleh kondensor secara terus menerus mengakibatkan pelarut ini akan mengalami proses yang dinamakan proses kondensasi. Kondensasi adalah proses perubahan fasa dari fasa gas ke fasa cair.

Proses penguapan ini dapat dihentikan apabila sudah tidak ada lagi pelarut yang menetes pada labu penampung atau bisa juga dilihat dari kekentalan zat pada labu sampel. Selain tetesan pelarut dan kekentalan sampel, hal lain yang dapat diamati untuk menandakan proses penguapan telah selesai adalah terbentuknya gelembung-gelembung pecah pada permukaan zat (Marjoni, 2016).

E. Pengukuran Aktivitas Antimikroba

Penentuan kepekaan bakteri patogen terhadap antimikroba dapat dilakukan dengan salah satu dari dua metode pokok yaitu dilusi atau difusi.

1. Metode dilusi

Metode ini menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap, baik dengan media cair atau padat kemudian media diinokulasi bakteri uji dan diinkubasi. Tahap akhir dilarutkan antimikroba dengan kadar yang menghambat atau mematikan. Uji kepekaan cara dilusi agar memakan waktu dan penggunaannya dibatasi pada keadaan tertentu saja. Metode dilusi dibedakan menjadi dua yaitu dilusi cair dan dilusi padat (Irianto 2014).

a. Metode dilusi cair

Metode ini mengukur KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bakterisidal Minimum). Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji (Irianto 2014).

b. Metode dilusi padat

Metode ini serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat (*solid*). Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Irianto 2014).

2. Metode difusi

Metode yang paling sering digunakan adalah metode difusi agar. Cakram kertas saring berisi sejumlah tertentu obat ditempatkan pada permukaan medium padat yang sebelumnya telah diinokulasi bakteri uji pada permukaannya. Setelah inkubasi, diameter zona hambatan sekitar cakram dipergunakan mengukur kekuatan hambatan obat terhadap organisme uji. Metode difusi agar dibedakan menjadi dua yaitu cara *Kirby Bauer* dan cara sumuran (Vandepitte dkk., 2011).

a. Cara *Kirby Bauer*

Metode difusi disk (tes *Kirby Bauer*) dilakukan untuk menentukan aktivitas agen antimikroba. Piringan yang berisi agen antimikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media agar. Keunggulan uji difusi cakram agar mencakup fleksibilitas yang lebih besar dalam memilih obat yang akan diperiksa (Vandepitte dkk., 2011).

b. Cara sumuran

Metode ini serupa dengan metode difusi disk, di mana dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antimikroba yang akan diuji (Vandepitte dkk., 2011).

Interpretasi hasil tes difusi harus didasarkan pada perbandingan antara metode difusi dan dilusi. Perbandingan demikian 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 (Jawetz, Melnick, dan Adelberg, 2010). Aktivitas antimikroba

ada yang kuat, sedang, dan lemah. Berikut merupakan kategori daya hambat bakteri.

Tabel 1
Kategori Daya Hambat Bakteri

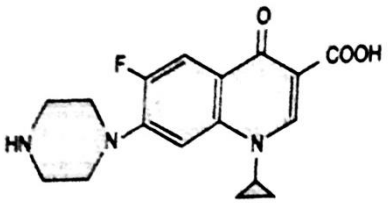
Diameter Zona Hambat	Kategori
≤5 mm	Lemah
6 – 10 mm	Sedang
11 – 20 mm	Kuat
≥ 20 mm	Sangat kuat

Sumber: Susanto, dkk. (dalam Permadani, Puguh dan Sarwiyono, 2014)

F. Antibiotik

Antibiotik adalah suatu substansi (zat-zat) kimia yang diperoleh atau dibentuk oleh mikroorganisme dan zat-zat tersebut dalam jumlah yang sedikit sudah mampu menghasilkan daya penghambatan terhadap aktivitas mikroorganisme yang lain. Antibiotik memegang peranan penting, dalam mengontrol populasi mikroba di dalam tanah, air, limbah, dan lingkungan. Berbagai jenis antibiotik yang telah ditemukan, hanya beberapa golongan antibiotik yang dapat digunakan dalam pengobatan. Antibiotik harus memiliki sifat-sifat menghambat atau membunuh patogen tanpa merusak inang, tidak menyebabkan resistensi pada kuman, berspektrum luas dan tidak menimbulkan alergi. Antibiotik memililiki sifat yaitu bakteriostatik dan bakterisida. Bakteriostatik yaitu menghambat atau menghentikan pertumbuhan bakteri sehingga bakteri yang bersangkutan menjadi stasioner dan tidak terjadi lagi multiplikasi atau perkembangbiakan. Bakterisida, yaitu membunuh bakteri (Waluyo, 2016).

Salah satu antibiotik yang sering digunakan sebagai pengobatan yaitu Siprofloksasin. Siprofloksasin merupakan salah satu obat sintetik turunan terfluorinasi kuinolon yang memiliki aktivitas antibakteri yang sangat meningkat dibandingkan dengan asam nalidiksat dan mencapai kadar bakterisidal dalam darah dan jaringan.



Gambar 3. Struktur kimia Siprofloksasin
Sumber : (Nugroho, Rendy dan Dwijayanthi, 2012)

Siprofloksasin paling aktif terhadap bakteri gram negatif tetapi terbatas aktivitasnya terhadap organisme gram positif. Siprofloksasin merupakan agen dalam kelompok kuinolon yang paling aktif terhadap gram negatif, khususnya *Pseudomonas aeruginosa* pada infeksi saluran kemih dan saluran pernapasan bawah (Rieuwpassa, Muliaty dan Arsana, 2011).

Mekanisme kerjanya Siprofloksasin adalah menghambat aktivitas DNA girase bakteri, bersifat bakterisid dengan spektrum luas terhadap bakteri gram negatif maupun positif. Resistensi pada golongan Fluorokuinolon biasanya terjadi akibat satu atau lebih mutasi titik pada daerah ikatan kuinolon di enzim yang menjadi sasaran atau akibat perubahan permeabilitas organisme. Resistensi terhadap satu fluorokuinolon, khususnya resistensi tingkat tinggi, umumnya memunculkan resistensi silang untuk anggota lain dalam golongan obat tersebut (Nugroho, Rendy dan Dwijayanthi, 2012).

G. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Antimikroba

Diantara banyak faktor yang memengaruhi aktivitas *in vitro* antimikroba hal-hal berikut harus dipertimbangkan karena memengaruhi hasil pemeriksaan secara bermakna (Jawetz, Melnick dan Adelberg, 2010).

1. pH lingkungan

Beberapa obat lebih aktif pada pH asam (misalnya, nitro-furantoin); lain-lain, pada pH basa (misalnya aminoglikosida, sulfonamida)

2. Komponen medium

Sodium polyane (dalam medium kultur darah) dan deterjen anionik lainnya menghambat aminoglikosida. Penambahan NaCl ke medium mempertinggi deteksi resistensi metisilin pada *Staphylococcus aureus*.

3. Kestabilan obat

Pada suhu inkubator, beberapa agen antimikroba kehilangan aktivitasnya. 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 yang besar pada satu jenis bakteri terjadi lebih lambat dan lebih jarang mengalami inhibisi total dibandingkan populasi kecil.

5. Lama inkubasi

Mikroorganisme tidak dimatikan pada beberapa kondisi, tetapi hanya dihambat pertumbuhannya oleh agen antimikroba. Semakin lama masa inkubasi berlangsung, semakin besar kesempatan bakteri untuk menjadi resisten atau

semakin besar kesempatan bagi anggota yang paling tidak sensitif terhadap antimikroba untuk mulai memperbanyak diri seiring dengan berkurangnya obat.

6. Aktivitas metabolik mikroorganisme

Secara umum, organisme yang aktif dan cepat tumbuh lebih sensitif terhadap kerja obat dibandingkan organisme yang berada dalam fase istirahat. Organisme yang tidak aktif secara metabolik dan berhasil bertahan hidup pada paparan obat dalam waktu yang lama memiliki kemampuan sensitif terhadap obat yang sama.