

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Infeksi Saluran Pernapasan Akut (ISPA)

1. Definisi

Infeksi Saluran Pernapasan Akut (ISPA) adalah penyakit saluran pernapasan atas atau bawah, biasanya menular, yang dapat menimbulkan berbagai spektrum penyakit yang berkisar dari penyakit tanpa gejala atau infeksi ringan sampai penyakit yang parah dan mematikan, tergantung pada patogen penyebabnya, faktor lingkungan, dan faktor pejamu. ISPA didefinisikan sebagai penyakit saluran pernapasan akut yang disebabkan oleh agen infeksius yang ditularkan dari manusia ke manusia. Timbulnya gejala biasanya cepat, yaitu dalam waktu beberapa jam sampai beberapa hari. Gejalanya meliputi demam, batuk, dan sering juga nyeri tenggorok, *coryza* (pilek), sesak napas, mengi, atau kesulitan bernapas. (WHO, 2007).

Dalam Kunoli (2013), pengertian ISPA adalah saluran penyakit pernapasan atas dengan perhatian khusus pada radang paru (Pneumonia), serta bukan penyakit telinga dan tenggorokan. Klasifikasi penyakit ISPA terdiri dari:

a. Bukan Pneumonia

Klasifikasi ini mencakup kelompok pasien balita dengan batuk yang tidak menunjukkan gejala peningkatan frekuensi napas dan tidak menunjukkan adanya tarikan dinding dada bagian bawah kearah dalam. Contohnya adalah *Common cold*, *Faringitis* dan *Otitis*.

b. Pneumonia

Pneumonia didasarkan pada adanya batuk dan atau kesukaran bernapas, diagnosis gejala ini berdasarkan umur. Batas frekuensi napas cepat pada anak berusia dua bulan sampai < 1 tahun adalah 50 kali permenit dan untuk anak usia 1 tahun sampai < 5 tahun adalah 40 kali per menit.

c. Pneumonia berat

Pneumonia berat didasarkan pada batuk atau kesulitan bernapas disertai sesak napas atau tarikan dindingdada bagian bawah kearah dalam (*Chest Indrawing*) pada anak berusia dua bulan sampai < 5 tahun. Untuk anak berusia < 2 bulan, diagnosis Pneumonia berat ditandai dengan adanya napas cepat yaitu frekuensi pernapasan sebanyak 60 kali permenit atau lebih, atau adanya tarikan yang kuat pada dinding dada bagian bawah kearah dalam (*Severe Chest Indrawing*).

2. Epidemiologi

WHO pada tahun 2003 menyatakan bahwa, epidemik ISPA yang sering disebut penyakit musiman ini, pada negara dengan empat musim berlangsung pada musim gugur dan musim dingin, sekitar bulan Oktober sampai Maret. Pada negara tropis seperti di Indonesia dapat berlangsung sepanjang tahun dengan puncaknya pada musim hujan. Hal ini dikarenakan etiologi ISPA seperti bakteri atau virus menyukai daerah dengan kelembapan dan temperatur yang rendah. Pada pergantian musim, kejadian ISPA juga meningkat dikarenakan menurunnya pertahanan tubuh oleh karena cuaca yang sering berubah (Gagarani, 2010).

Penyakit ISPA sering terjadi pada anak-anak. Episode penyakit batuk pilek pada balita di Indonesia diperkirakan 3-6 kali per tahun (rata-rata 4 kali per

tahun). Hasil pengamatan epidemiologi menunjukkan bahwa angka kesakitan di kota cenderung lebih besar dari pada di desa. Hal ini mungkin disebabkan oleh tingkat kepadatan tempat tinggal dan pencemaran lingkungan di kota yang lebih tinggi dari pada di desa (Kunoli, 2013).

Terjadinya ISPA tertentu bervariasi menurut beberapa faktor. Penyebaran dan dampak penyakit berkaitan dengan (WHO, 2007):

- a. kondisi lingkungan (misalnya, polutan udara, kepadatan anggota keluarga), kelembaban, kebersihan, musim, temperatur);
- b. ketersediaan dan efektivitas pelayanan kesehatan dan langkah pencegahan infeksi untuk mencegah penyebaran (misalnya, vaksin, akses terhadap fasilitas pelayanan kesehatan, kapasitas ruang isolasi);
- c. faktor pejamu, seperti usia, kebiasaan merokok, kemampuan pejamu menularkan infeksi, status kekebalan, status gizi, infeksi sebelumnya atau infeksi serentak yang disebabkan oleh patogen lain, kondisi kesehatan umum; dan
- d. karakteristik patogen, seperti cara penularan, daya tular, faktor virulensi (misalnya, gen penyandi toksin), dan jumlah atau dosis mikroba (ukuran inokulum).

B. Bakteri *Streptococcus pyogenes*

1. Klasifikasi dan Morfologi

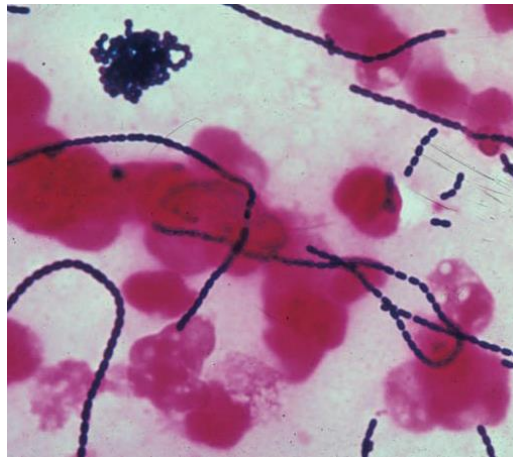
Domain : *Bacteria*

Phylum : *Fimicitus*

Class : *Bacilli*

Ordo : *Bacillales*
Familia : *Streptococcaceae*
Genus : *Streptococcus*
Species : *Streptococcus pyogenes*

(Syahrurachman, 1994; Asriadi, 2012)



Gambar 1

Bakteri *Streptococcus pyogenes* Pada Pewarnaan Gram (Sumber: Brooks, Carroll, Butel, Morse, & Mietzner, 2013)

Streptococcus terdiri dari kokus yang berdiameter 0,5 – 1 μm . Dalam bentuk rantai yang khas, kokus agak memanjang pada arah sumbu rantai. *Streptococcus* patogen jika ditanam dalam perbenihan cair atau padat yang cocok sering membentuk rantai panjang yang terdiri dari delapan buah kokus atau lebih (Asriadi, 2012).

Streptococcus pyogenes menghasilkan koloni putih berukuran kecil dengan zona β -hemolisis yang jelas pada agar darah (Nizet dan Arnold, 2012). Pertumbuhan *Streptococcus* cenderung buruk pada media padat atau *broth*, kecuali dengan penambahan darah atau cairan jaringan. Kebutuhan nutritif masing-masing spesies sangat bervariasi. Bakteri patogen pada manusia membutuhkan nutrisi paling banyak, dan membutuhkan beragam faktor

pertumbuhan. Pertumbuhan dan hemolisis ditingkatkan dengan inkubasi dalam CO₂ 10%. Sebagaimana *Streptococcus* hemolitik paling baik tumbuh pada suhu 37°C. kebanyakan *Streptococcus* bersifat anaerob fakultatif, serta tumbuh pada kondisi aerob dan anaerob (Brooks *dkk.*, 2013).

2. Epidemiologi *Streptococcus pyogenes*

Streptococcus pyogenes memiliki jangkauan inang yang sempit, teridentifikasi hampir secara eksklusif pada manusia, dan jarang ditemukan pada spesies lainnya. *Streptococcus pyogenes* sangat menular dan dapat menyebabkan penyakit pada individu dari semua umur yang tidak memiliki kekebalan spesifik jenis. Penyakit pada neonatus jarang terjadi, mungkin karena transfer antibodi ibu secara plasenta. Ada perbedaan yang signifikan antara epidemiologi tenggorokan dan infeksi kulit karena *Streptococcus pyogenes* (Nizet dan Arnold, 2012).

Infeksi *Streptococcus pyogenes* invasif parah telah jarang terjadi di Amerika Serikat dan Eropa barat selama paruh kedua abad ke-20. Namun, sejak akhir 1980-an, telah terjadi peningkatan infeksi *Streptococcus pyogenes* invasif di seluruh dunia. Insiden penyakit *Streptococcus pyogenes* invasif parah kebanyakan terjadi pada masyarakat industri (2 sampai 3 per 100.000 penduduk) seperti di wilayah geografis Eropa, Amerika Utara, dan Australia yang berbeda secara geografis. Tingkat ini menunjukkan bahwa, hampir 10.000 kasus penyakit *Streptococcus* invasif terjadi setiap tahun di Amerika Serikat. Namun, tingkat penyakit invasif pada populasi penduduk asli di Afrika, benua Asia, dan Kepulauan Pasifik biasanya jauh lebih tinggi, dengan tingkat setinggi 82,5/100.000 yang telah dilaporkan di Queensland Utara, Australia. Secara global, diperkirakan bahwa setidaknya 663.000 kasus penyakit *Streptococcus pyogenes*

invasif terjadi setiap tahun, mengakibatkan 163.000 kematian (Nizet dan Arnold, 2012).

3. Patogenesis

Streptococcus pyogenes membawa antigen karbohidrat grup A (antigen *Lancefield*) dan dikelilingi oleh antigen protein M, yang mencegah fagositosis yang dilakukan oleh leukosit. Antibodi terhadap protein M tertentu bersifat melindungi terhadap infeksi lanjut dari jenis M yang sama. Bakteri ini dapat memproduksi beberapa toksin, contohnya toksin sritrogenik yang berhubungan dengan demam *scarlet*, dan ekotoksin pirogenik *streptococcus* A, B, dan C. Organisme ini melekat ke sel melalui reseptor fibronektin. Bakteri ini dapat menginvasi dan bertahan hidup di dalam sel, hal ini menjelaskan mengapa pembawa faringeal sulit dieradikasi oleh beberapa antibiotik (Gillespie dan Bamford, 2009).

Streptococcus sangat bervariasi dalam potensi patogenik. Terlepas dari rangkaian produk terkait dan ekstraseluler yang berhubungan dengan sel, tidak ada skema pathogenesis yang jelas yang telah berhasil. *Streptococcus pyogenes* adalah bagian dari flora normal pada nasofaring manusia. Jumlah mereka biasanya dibatasi oleh persaingan dari ekosistem mikroba pada nasofaring dan oleh mekanisme pertahanan host nonspesifik, namun kegagalan mekanisme ini dapat menyebabkan penyakit. Penyakit lebih sering diakibatkan oleh adanya strain baru dari perubahan flora normal. *Streptococcus pyogenes* menyebabkan lesi purulen inflamasi di portal masuk, seringkali terjadi pada saluran pernapasan bagian atas atau kulit. Beberapa strain *streptococcus* menunjukkan predileksi saluran

pernafasan; selain itu, pada kulit. Umumnya, isolat *streptococcus* dari faring dan saluran pernafasan tidak menyebabkan infeksi kulit (Patterson, 2014).

Infeksi *Streptococcus pyogenes* juga dapat menyebabkan sinusitis, otitis, mastoiditis, pneumonia dengan empiema, infeksi sendi atau tulang, fasciitis nekrosis atau myositis, dan, lebih jarang lagi, pada meningitis atau endokarditis. Infeksi *Streptococcus pyogenes* pada kulit bisa bersifat dangkal (impetigo) atau dalam (selulitis). Meskipun demam *scarlet* sebelumnya merupakan komplikasi infeksi *Streptococcus* yang parah, karena terapi antibiotik sekarang sedikit lebih banyak daripada faringitis *Streptococcus* disertai ruam selulitis disertai demam dan toksisitas sistemik, kurang umum saat ini. Tidak ada perubahan besar pada kerentanan *Streptococcus pyogenes* terhadap antibiotik yang umum digunakan tetapi lebih pada variasi strain yang dijelaskan di atas (jenis antigenik dan produk pertumbuhan ekstraselular) (Patterson, 2014).

4. Manifestasi klinis

Streptococcus pyogenes merupakan salah satu dari 10 patogen teratas penyebab kematian di dunia. Bakteri ini berhubungan dengan tiga macam penyakit, yaitu (Irianto, 2014):

a. Infeksi

Bakteri ini merupakan penyebab faringitis yang paling umum. Bakteri ini juga menyebabkan erisipelas, impetigo, selulitis, infeksi luka, dan yang lebih jarang, fasitis nekrotikans atau pneumonia. Septikemia dapat muncul dan menyebabkan infeksi metastatic (misalnya osteomielitis). Infeksi bersifat muncul dengan cepat, menghancurkan jaringan setempat, dan mudah menyebar dengan

cepat. Seringkali ditemukan toksisitas sistemik bermakna yang sebagian mungkin berhubungan dengan produksi toksin yang terjadi bersamaan.

b. Penyakit yang diperantarai oleh toksin

Penyakit ini berhubungan dengan infeksi. Infeksi dapat bersifat sistemik atau tetap terlokalisasi dengan penyebaran eksotoksin sistemik. Contohnya, toksin eritrogenik berhubungan dengan demam *scarlet*; strain pirogenik yang memproduksi toksin berhubungan dengan syok akibat *streptococcus* dan memiliki mortalitas yang tinggi, berhubungan dengan kegagalan organ multiple.

c. Penyakit yang diperantarai oleh imun pasca infeksi

Demam reumatik, glomerulonefritis, atau eritema nodosum diperkirakan diperantarai oleh imun, karena antibodi terhadap struktur bakteri bereaksi silang dengan jaringan pejamu. Demam reumatik, saat ini jarang terjadi pada kondisi ekonomi pasar yang maju, dan merupakan penyebab utama morbiditas dan mortalitas jangka panjang, terutama pada daerah yang miskin dan mengalami malnutrisi.

C. Daun Sirih

1. Definisi

Sirih (*Piper betle Linn*) merupakan tanaman rambat yang tumbuh menyebar di Asia Selatan hingga Asia Tenggara, dari Pakistan hingga Papua Nugini (Akbar, 2015). Bagian *Piper betle Linn* seperti daun, akar, batang, tangkai dan buah memiliki banyak manfaat. Tanaman ini memiliki sejumlah besar biomolekul yang menunjukkan berbagai aktivitas farmakologis (Patil *dkk.*, 2015). *Piper betle Linn* telah digunakan dalam pengobatan tradisional China, India

selama berabad-abad. Tujuannya adalah untuk mengungkap kemungkinan efek tanaman ini dalam pengembangan obat herbal aktif terapeutik (Dwivedi dan Tripathi, 2014).

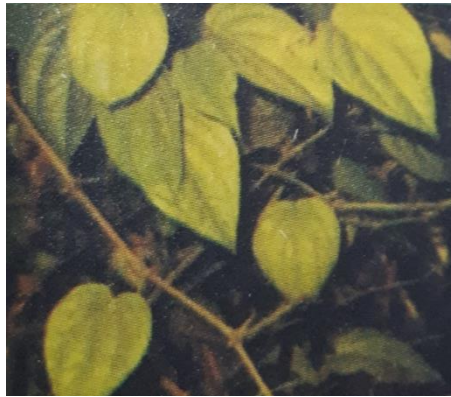
Ekstrak daun sirih sering digunakan sebagai bahan terapi dan dicampur dengan berbagai obat-obatan yang mungkin untuk efek yang lebih baik, selain penggunaannya secara mandiri sebagai obat. Daun sirih telah digambarkan sebagai daun yang berbau tajam dan bermanfaat untuk suara, pencahar, dan makanan pembuka. Sirih juga dipercaya memberikan kekuatan pada jantung dan mengatur darah. Kegunaannya sebagai anti inflamasi dan anti mikroba ditekankan di beberapa tempat. Sirih juga berpotensi dalam mengeluarkan lender dari saluran pernapasan. Menurut sistem Yunani, daun sirih memiliki rasa dan bau yang mampu meningkatkan cita rasa dan nafsu makan, bersifat tonik pada otak, jantung dan hati, mengurangi rasa haus, membersihkan tenggorokan dan membersihkan darah (Pradhan *dkk.*, 2013).

2. Klasifikasi

Kingdom : *Plantae*
Division : *Magnoliphyta*
Class : *Magnolipsida*
Ordo : *Piperales*
Family : *Piperaceae*
Genus : *Piper*
Species : *Piper betle*

(Dwivedi dan Tripathi, 2014)

3. Morfologi daun sirih



Gambar 2
Daun Sirih (Sumber: Satya DS, 2013)

Sirih (*Piper betle* Linn) termasuk jenis tumbuhan merambat dan bersandar pada batang pohon lain. Tanaman ini panjangnya mampu mencapai puluhan meter. Bentuk daunnya pipih menyerupai jantung dan tangkainya agak panjang. Permukaan daun berwarna hijau dan licin, sedangkan batang pohonnya berwarna hijau agak kecoklatan dan permukaan kulitnya kasar serta berkerut (Akbar, 2015). Ukuran daun berkisar antara panjang 7-15 cm, dan lebar 5-14 cm (Pradhan *dkk.*, 2013).

Bagian melintang dari daun melalui pelepah menunjukkan empat lapisan atas dan dua lapisan epidermis bawah. Kutikula tebal pada epidermis bagian atas dan tipis pada epidermis bagian bawah. Sel-sel lapisan luar epidermal pada kedua sisi daun berukuran kecil, yang memiliki kandungan tanin dan minyak atsiri. Sel sub epidermal pada sisi abaksial diperbesar dan terdapat simpanan air. Cadangan kristal dan minyak ditemukan di sel sub epidermal di kedua sisi. Lapisan palisade sangat dibedakan dengan sel-sel padat lapis ganda dan sel mesofil yang berlapis 3-4 dan *small lobed* (Pradhan *dkk.*, 2013).

4. Kandungan pada daun sirih

Daun sirih mengandung Air (85-90%), Protein (3-3,5%), Karbohidrat (0,5-6,1%), Mineral (2,3-3,3%), Lemak (0,4-1%), Serat (2,3%), Minyak atsiri (0,08-0,2%), Tannin (0,1-1,3%), dan Alkaloid. Daun sirih juga mengandung berbagai vitamin seperti Vitamin C (0,005-0,01%), asam nikotinat (0,63-0.89mg/ 00gms), Vitamin-A (1.9-2.9mg/100gms), Tiamin (10-70 μ g/100gms), Riboflavin (1,9-30 μ g/100gms). Selain itu, daun sirih juga mengandung mineral seperti Calcium (0,2-0,5%), Besi (0,005-0.007), Iodine (3,4 μ g/100gms), Fosfor (0,05-0,6%), Kalium (1,1-4,6%). Daun mengandung senyawa pahit sekitar 0,7-2,6% (Pradhan *dkk.*, 2013).

Uji fitokimia ekstrak dari daun sirih yang dilakukan oleh Patil, *dkk* (2015) menunjukkan adanya steroid, diterpenes, tanin, glikosida kardial, flavonoid, saponin, fenol, kumarin dan alkaloid. Ekstrak etanol dari daun sirih mengandung berbagai fitokimia seperti steroid, diterpenes, tanin, flavonoid, saponin dan kumarin. Ekstrak metanol dari daun sirih menunjukkan adanya steroid, diterpenes, tanin, dan saponin. Ekstrak butanol mengandung steroid, diterpenes, tanin, flavonoid, emodin dan alkaloid sedangkan ekstrak aseton menunjukkan steroid, diterpenes, tanin, flavonoid, saponin dan kumarin. Secara komparatif, ekstrak air menghasilkan metabolit sekunder yang lebih tinggi secara kualitatif dan kuantitatif.

Daun sirih mengandung minyak atsiri yang terdiri dari betlephenol, kavikol, seskuitepe, hidrokdikavikol, cavibetol, estragol, eugenol dan karvakol. Daun sirih juga memiliki kandungan enzim diastase, gula dan tanin. Kandungan kavikol dan betlephenol menyebabkan daun sirih memiliki aroma dan rasa yang

khas. Keseluruhan kandungan yang ada dalam daun sirih itulah, maka sirih berkhasiat sebagai antioksidan dan fungisida (Akbar, 2015).

Menurut hasil penelitian yang dilakukan oleh Chakraborty dan Shah (2011), ekstrak air daun sirih hijau positif mengandung metabolit sekunder berupa flavonoid, tanin, dan fenol.

a. Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman. Berbagai jenis senyawa, kandungan dan aktivitas antioksidatif flavonoid sebagai salah satu kelompok antioksidan alami yang terdapat pada sereal, sayur-sayuran dan buah, telah banyak dipublikasikan (Rohyani, Aryanti dan Suropto, 2015).

Flavonoid merupakan senyawa yang mudah larut dalam air untuk kerja antimikroba dan antivirus. Mekanisme kerjanya dalam menghambat bakteri dilakukan dengan cara mendenaturasi protein dan merusak membran sel bakteri dengan cara melarutkan lemak yang terdapat pada dinding sel. Senyawa ini mampu melakukan migrasi dari fase cair ke fase lemak. Terjadinya kerusakan pada membran sel mengakibatkan terhambatnya aktivitas dan biosintesa enzim-enzim spesifik yang diperlukan dalam reaksi metabolisme dan kondisi ini yang pada akhirnya menyebabkan kematian pada bakteri (Rohyani, Aryanti dan Suropto, 2015).

b. Tanin

Senyawa tanin adalah senyawa astringent yang memiliki rasa pahit dari gugus polifenolnya yang dapat mengikat dan mengendapkan atau menyusutkan protein. Tanin memiliki sifat umum, yaitu memiliki gugus phenol dan bersifat

koloid, sehingga jika terlarut dalam air bersifat koloid dan asam lemah. Umumnya tanin dapat larut dalam air. Kelarutannya besar dan akan meningkat apabila dilarutkan dalam air panas. Begitu juga tanin akan larut dalam pelarut organik seperti metanol, etanol, aseton dan pelarut organik lainnya (Ismarani, 2012).

Kandungan tanin pada daun sirih memiliki aktivitas antibakteri. Tanin menghambat kerja enzim ekstraseluler mikroba dan jamur, dan bekerja langsung pada metabolisme dengan cara menghambat fosforilasi oksidasi (Utami, Krismayanti dan Yahdi, 2015). Mekanisme tanin dapat mengkerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati (Mariyatin, Widyowati dan Lestari, 2014).

c. Fenol

Tumbuhan menghasilkan banyak produk sekunder yang mengandung gugus fenol. Senyawa ini dikelompokkan ke dalam senyawa fenolik yang jumlahnya hampir mencapai 10.000. Beberapa senyawa fenol larut dalam pelarut organik, beberapa adalah glikosida dan asam akrboksilat yang larut air dan sejumlah besar lainnya adalah polimer yang tidak larut (Mastuti, 2016)

Senyawa fenol total merupakan komponen penting dalam aktivitas antibakteri. Fenol merupakan senyawa toksik mengakibatkan struktur tiga dimensi protein terganggu dan terbuka menjadi struktur acak tanpa adanya kerusakan pada struktur kerangka kovalen. Hal ini mengakibatkan protein berubah sifat, aktifitas biologisnya menjadi rusak sehingga protein tidak dapat melakukan fungsinya. Dengan terdenaturasinya protein sel maka semua aktivitas metabolisme sel

dikatalisis oleh enzim sehingga mikroba atau jamur tidak dapat bertahan hidup (Utami, Krismayanti dan Yahdi, 2015).

5. Manfaat daun sirih

Daun sirih secara tradisional dikenal bermanfaat untuk pengobatan berbagai penyakit seperti bau mulut, bisul dan abses, konjungtivitis, konstipasi, sakit kepala, gatal, mastitis, mastoiditis, keputihan, otorrhoea, pembengkakan getah, rematik, dan luka (Pradhan *dkk.*, 2013). Daun sirih dapat mematikan kuman dan jamur. Sirih berkhasiat menghilangkan bau badan yang diakibatkan oleh bakteri dan cendawan. Daun sirih juga bersifat menahan pendarahan, menyembuhkan luka pada kulit, dan gangguan saluran pencernaan. Selain itu, daun sirih juga bersifat mengerutkan, dapat mengeluarkan dahak, meluruhkan air liur, hemostatik dan menghentikan pendarahan (Akbar, 2015).

Daun sirih bermanfaat bagi infeksi paru pada anak-anak dan dewasa. Daunnya, dicampur dengan minyak sawo hangat dan dioleskan ke dada untuk meredakan batuk dan kesulitan bernapas. Aplikasi daun sirih, efisien dalam mengatasi sakit tenggorokan. Daun sirih juga sangat membantu untuk perawatan rasa sakit saraf, kelelahan dan keletihan saraf. Daun sirih berguna dalam pengobatan pembengkakan seperti arthritis dan orkitis yaitu peradangan pada testis. Minyak atsiri yang terkandung pada daun memiliki sifat antibakteri, antiprotozoal dan antijamur. Minyak atsiri pada sirih dapat menghambat perluasan bakteri yang menyebabkan tifus, kolera, tuberculosis dan lain-lain dan membantu dalam evaluasi dan eksploitasi yang tepat (Dwivedi dan Tripathi, 2014).

D. Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian terhadap aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan dua metode pokok yaitu dilusi dan difusi. Penting sekali menggunakan metode standar untuk mengendalikan semua faktor yang mempengaruhi aktivitas antimikrobia (Jawetz *dkk.*, 2013).

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 dieramkan. Tahap akhir dari metode dilusi adalah antimikrobia dilarutkan dengan kadar yang menghambat atau mematikan. Uji kepekaan dengan cara dilusi memiliki kelemahan yaitu membutuhkan waktu yang lama dan penggunaannya dibatasi pada penggunaan tertentu saja. Uji kepekaan cara dilusi cair dengan menggunakan tabung reaksi, tidak praktis dan jarang dipakai; namun kini ada cara yang lebih sederhana dan banyak dipakai, yakni menggunakan microdilution plate. Keuntungan uji mikrodilusi cair adalah bahwa uji ini memberi hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah antimikrobia yang dibutuhkan untuk mematikan bakteri (Brooks *dkk.*, 2013)

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 ini dipengaruhi oleh beberapa faktor fisik dan kimia, selain faktor antara obat dan organisme (misalnya sifat medium dan kemampuan difusi, ukuran molekular dan stabilitas obat).

Meskipun demikian, standardisasi faktor-faktor tersebut memungkinkan melakukan uji kepekaan dengan baik (Brooks *dkk.*, 2013).

Pada pertemuan WHO tahun 1977 yang membahas tentang meningkatnya resistensi antibiotik dinyatakan bahwa metode modifikasi difusi cakram Kirby-Bauer, direkomendasikan untuk tujuan klinis dan surveilans dengan mempertimbangkan kesederhanaan teknik dan ketelitiannya. Metode ini terutama cocok digunakan untuk bakteri yang termasuk famili *Enterobacteriaceae*, namun metode ini juga dapat direkomendasikan sebagai metode serbaguna bagi seluruh pathogen yang tumbuh dengan cepat (Vandepitte *dkk.*, 2011).

Cakram kertas yang diresapi antibiotika dalam jumlah tertentu, diletakkan pada media agar yang telah ditanamai organisme uji secara merata. Suatu gradien konsentrasi zat antimikroba yang terbentuk oleh difusi dari cakram dan pertumbuhan organisme uji dihambat pada suatu jarak dari cakram yang terkait dengan kepekaan organisme (Vandepitte *dkk.*, 2011). Penggunaan cakram tunggal pada setiap antibiotik dengan standardisasi yang baik, bisa menentukan apakah bakteri peka atau resisten dengan cara membandingkan zona hambatan standar bagi obat yang sama. Daerah hambatan sekitar cakram yang berisi sejumlah antimikroba tertentu tidak mencerminkan kepekaan pada obat dengan konsentrasi yang sama per milimeter media, darah atau urin (Brooks *dkk.*, 2013).

Menurut Vandepitte, *dkk* (2011), hasil uji yang dilaporkan kepada klinisi adalah penggolongan mikroorganisme tersebut ke dalam salah satu dari dua kategori kepekaan atau lebih. Sistem yang paling sederhana hanya terdiri atas dua kategori, yaitu sensitif dan resisten. Walaupun memiliki banyak keuntungan untuk tujuan statistik dan epidemiologis, sistem ini terlalu kaku untuk digunakan oleh

klinisi. Oleh karena itu, metode Kirby-Bauer memodifikasinya menggunakan tiga kategori kepekaan, yaitu sensitif, intermediet, dan resisten:

1. Sensitif

Suatu organisme disebut sensitif terhadap suatu antimikroba bila infeksi yang disebabkan cenderung merespon pengobatan dengan antimikroba ini pada dosis yang dianjurkan.

2. Kepekaan intermediet

Kepekaan ini mencakup dua keadaan. 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 infeksinya (misal, urin).

Klasifikasi ini juga berlaku untuk galur-galur yang menunjukkan “kepekaan intermediet” terhadap antimikroba yang leboh toksik (misalnya, aminoglikosida) yang tidak dapat digunakan dengan dosis yang lebih tinggi. Pada keadaan ini, kategori intermediet berperan sebagai zona penyangga (*buffer zone*) antara sensitive dan resisten.

3. Resisten

Istilah ini menunjukkan bahwa organisme diperkirakan tidak memberi respon terhadap antimikroba tersebut, tapan memandang dosis dan lokasi infeksi.