

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del)

1. Klasifikasi dan deskripsi tanaman

Klasifikasi daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del) adalah sebagai berikut:

(Abdullah, 2017)

Kingdom : *Plantae*

Divisi : *Spermatophyta*

Subdivisi : *Angiospermae*

Class : *Dicotyledone*

Ordo : *Asterales*

Family : *Asteraceae*

Genus : *Vernonia*

Species : *Vernonia amygdalina* Del.



(Dokumen pribadi, 2022)

Gambar 1 Daun Afrika (*Vernonia amigdalina* Del)

Daun Afrika (*Veronia amygdalina* Del) milik keluarga Asteraceae. Tumbuhan ini didistribusikan secara luas di seluruh Afrika Tropis dan dibudidayakan sebagai

suplemen makanan di Afrika Barat termasuk Nigeria. Nama umum *Veronia amygdalina* Del adalah *bitter leaf* (daun pahit), yang secara lokal dikenal sebagai 'Shuwaka' dalam Bahasa Hausa dan 'Ewuro' dalam Bahasa Yoruba. *Vernonia amygdalina* Del. adalah pohon kecil yang tumbuh setinggi 3 meter (Danladi dkk., 2018).

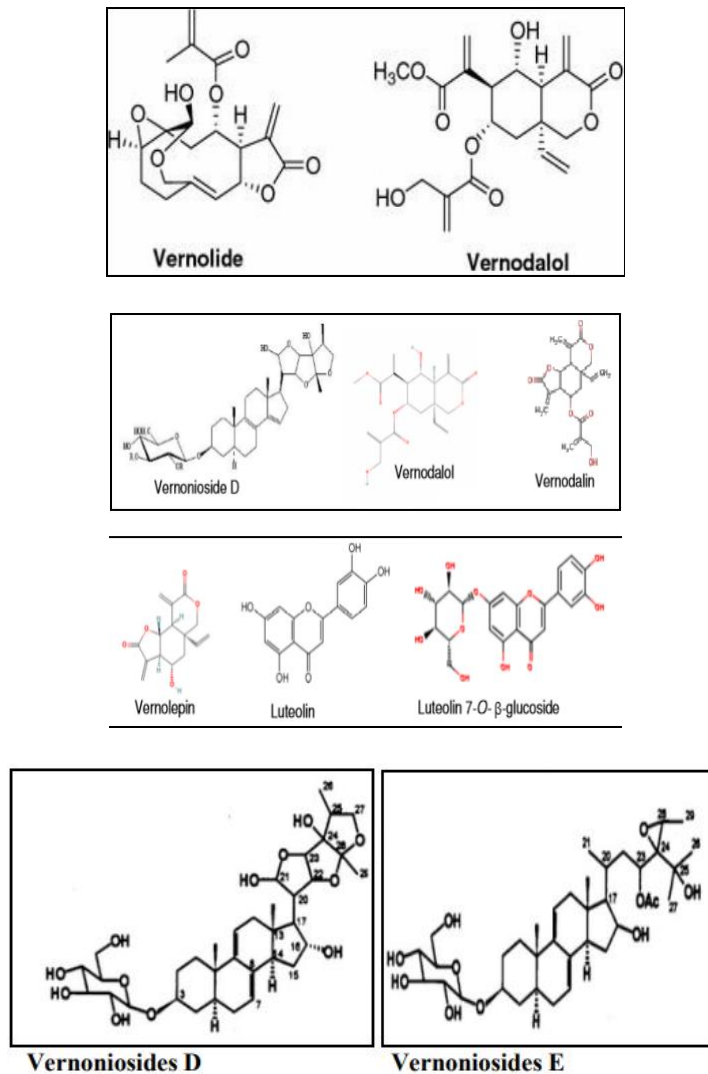
Daun Afrika (*Veronia amygdalina* Del) memiliki tinggi bervariasi mulai dari 2 meter hingga 10 meter, memiliki kulit batang berwarna coklat muda, sedikit kasar dan mengelupas secara membujur, serta percabangan yang rapuh. Daun dari tumbuhan ini berbentuk lancet-oblongata, luas daunnya dapat mencapai 28x10 cm, berwarna hijau hingga hijau gelap dengan atau tanpa rambut halus di permukaan daun serta memiliki bau yang khas dan rasa yang pahit.(Al Mardhiyah, 2015).

Tanaman daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del) ini merupakan tanaman asli Nigeria, tanaman ini banyak tumbuh di negara lain dengan iklim tropis seperti di Afrika dan di Asia, serta ditemukan juga tumbuh di Meksiko, Amerika Tengah dan Selatan. Tanaman ini merupakan tanaman yang mudah tumbuh dimana saja, dan paling baik untuk tumbuh di daerah dengan ketinggian 1250-2800 m dpl (di atas permukaan laut), dengan curah hujan pertahun 750-2000 mm (Al Mardhiyah, 2015).

2. Kandungan senyawa kimia daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del)

Sampai saat ini belum tersedia informasi mengenai skrining fitokimia yang menunjukkan kandungan senyawa kimia yang dihasilkan pada saat perebusan daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del). Secara umum, skrining fitokimia kualitatif daun Afrika (*Veronia amygdalina* Del) telah mendeteksi keberadaan polifenol yang berat dan keberadaan alkaloid, saponin, flavonoid dan steroid yang sedang. Studi

fitokimia daun *Veronia amygdalina* Del menunjukkan bahwa, tanaman mengandung dua lakton seskuiterpen; vernolid dan vernodalol. Vernoniosida D dan Vernoniosida E diisolasi dari daun *Veronia amygdalina* Del (Danladi dkk., 2018).



(Danladi dkk., 2018)

Gambar 2 Senyawa yang diisolasi dari *Veronia amygdalina* Del

Senyawa kimia yang terkandung dalam daun Afrika (*Veronia amygdalina* Del) antara lain: saponin (vernoniosida dan steroid saponin), seskuiterpen (vernolida, vernodalol, vernoolepin, vernodalin dan vernomygdin), flavonoid, kumarin, asam fenolat, lignin, xanton, terpen, peptide dan luteolin. (Fianti, 2017).

Berikut merupakan penjelasan dari senyawa-senyawa daun Afrika yang berperan sebagai antibakteri (Romanza, Syafnir dan Lukmayani, 2021):

- a. Kandungan Flavonoid pada daun Afrika berperan sebagai antimikroba dapat dibagi menjadi 3 bagian, yakni sebagai penghambat sintesis asam nukleat, sebagai penghambat fungsi membran sel serta sebagai penghambat metabolisme energi. Dalam menghambat fungsi membran sel, flavonoid membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler. Flavonoid dapat menghambat metabolisme energi dengan cara menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri. Flavonoid menghambat sitokrom C reduktase sehingga pembentukan metabolisme menjadi terhambat.
- b. Kandungan Alkaloid dalam daun Afrika berperan sebagai antibakteri yaitu dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut. Mekanisme lain antibakteri alkaloid yaitu komponen alkaloid diketahui sebagai interkelator DNA dan menghambat enzim topoisomerase sel bakteri.
- c. Kandungan Steroid dalam daun Afrika berperan sebagai antibakteri berhubungan dengan membran lipid dan sensitivitas terhadap komponen steroid yang menyebabkan kebocoran pada liposom. Steroid dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid sel yang bersifat permeabel terhadap senyawa-senyawa lipofilik. sehingga menyebabkan integritas membran menurun serta morfologi membran sel berubah yang menyebabkan sel rapuh dan lisis.

- d. Kandungan Saponin dalam daun Afrika dapat mengurangi stress oksidatif terkait hiperglikemia pada pasien diabetes melitus tipe 2. Saponin berperan sebagai antibakteri dengan mekanisme merusak permeabilitas dinding sel sehingga dapat menimbulkan kematian sel.
- e. Kandungan Antrakinin dalam daun Afrika bekerja sebagai antibakteri dengan cara mempengaruhi sintesis sel bakteri *E. coli*. Antrakinin merupakan suatu persenyawaan fenolik yang mekanismenya serupa dengan golongan fenol, yaitu menghambat bakteri dengan cara mendenaturasi protein.
- f. Kandungan Fenol dalam daun Afrika bekerja serupa dengan antrakinin, yaitu menghambat bakteri dengan cara mendenaturasi protein.

3. Khasiat daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del)

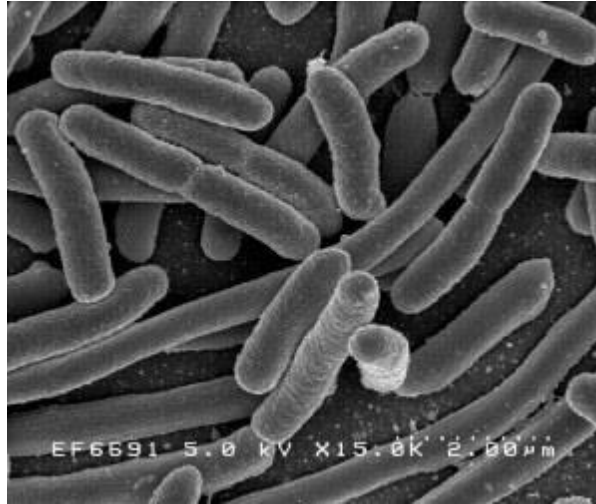
Daun Afrika, dengan nama latinnya *Vernonia amygdalina* Del, adalah salah satu tanaman obat yang digunakan untuk pengobatan berbagai penyakit di berbagai belahan dunia. Telah dilaporkan bahwa tanaman *Vernonia amygdalina* Del digunakan untuk pengobatan diabetes, demam kuning, disentri, sembelit, malaria dan sakit perut di Afrika dan Asia. Selain itu, tanaman ini banyak digunakan di Afrika sebagai sumber makanan sebagai sayuran dan ramuan kuliner dalam sup (Danladi dkk., 2018).

Masyarakat telah memanfaatkan daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del) untuk mengobati berbagai macam penyakit, diantaranya sebagai obat antikanker, pencegahan penyakit jantung, penurunan kolesterol, pencegahan stroke, menurunkan gula darah, gangguan pencernaan dan penurunan berat badan (Sukmawati, Hadi dan Aminah, 2017). Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del) memiliki khasiat bagi kesehatan yakni menurunkan kadar gula darah, menghambat

tumbuhnya sel kanker, sebagai antibakteri, mengatasi malaria, mengontrol tekanan darah dan mencegah penyakit jantung (Andari dan Wulandari, 2021).

B. *Escherichia coli* (*E. coli*)

1. Klasifikasi



(Sutiknowati, 2016)

Gambar 3 *Escherichia coli*

Klasifikasi dari bakteri *E. coli* adalah sebagai berikut: (Sutiknowati, 2016)

Domain : Bacteria

Kingdom : Eubacteria

Phylum : Proteobacteria

Class : Gammaproteobacteria

Order : Enterobacteriales

Family : Enterobacteriaceae

Genus : Escherichia

Species : Escherichia coli

2. Morfologi

E. coli adalah bakteri jenis Gram negatif berbentuk batang pendek dengan panjang sekitar 2 μm , diameter 0,7 μm , lebar 0,4-0,7 μm dan memiliki sifat anaerob fakultatif. Bakteri ini tidak memiliki spora, selnya bisa tunggal, berpasangan, rantai pendek dan biasanya tidak berkapsul. *E. coli* membentuk koloni yang bundar, cembung, dan halus dengan tepi yang nyata (Allung, 2019)

E. coli tidak memiliki nukleus, organel terbungkus membran maupun sitoskeleton. *E. coli* memiliki organel eksternal, yakni pili dan flagel. Pili adalah sebuah filament tipis yang berperan sebagai penangkap substrat spesifik, sedangkan flagel adalah sebuah filament tipis dan lebih panjang dibandingkan dengan pili. Flagel berperan dalam pergerakan dari bakteri *E. coli* itu sendiri. Pembiakkan bakteri *E. coli* bersifat aerob atau anaerob fakultatif, pertumbuhan optimum pada suhu 37°C. Bakteri *E. coli* tumbuh dengan baik pada hampir semua media yang biasa dipakai di laboratorium mikrobiologi (Allung, 2019).

3. Patogenesis

Kolonisasi bakteri *E. coli* dalam saluran pencernaan manusia pada umumnya terjadi 40 hari setelah bayi dilahirkan. Bakteri *E. coli* melekat pada usus besar dan dapat bertahan selama beberapa bulan hingga beberapa tahun. Kolonisasi yang terjadi pada bayi disebabkan oleh bakteri yang terdapat dalam makanan atau air atau dengan kontak langsung melalui pengasuh bayi (Radji, 2011).

Beberapa galur *E. coli* menjadi penyebab infeksi pada manusia, seperti infeksi saluran kemih, infeksi meningitis pada neonatus, dan infeksi intestin (gastroenteritis). Ketiga penyakit infeksi tersebut sangat bergantung pada ekspresi faktor virulensi masing-masing serotipe bakteri *E. coli*, termasuk adanya adhesin,

invasin, jenis toksin yang diproduksi, dan kemampuan mengatasi pertahanan tubuh hospes (Radji, 2011).

Infeksi bakteri *E. coli* sering kali terjadi dalam bentuk diare yang disertai darah, kejang perut, demam dan terkadang dapat menyebabkan gangguan pada ginjal. Infeksi bakteri *E. coli* yang terjadi pada beberapa penderita, anak-anak di bawah 5 tahun, dan orang tua dapat menimbulkan komplikasi yang disebut dengan sindrom uremik hemolitik. Sekitar 2-7% infeksi *E. coli* menimbulkan komplikasi (Radji, 2011).

Sebagian besar penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri *E. coli* ditularkan melalui makanan yang tidak dimasak secara tepat dan daging yang terkontaminasi. Penularan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *E. coli* dapat terjadi melalui kontak langsung dan biasanya terjadi di tempat yang memiliki sanitasi yang kurang baik dan lingkungan yang kurang bersih. Berdasarkan sifat virulensi, bakteri *E. coli* dikelompokkan menjadi 2 (dua) jenis, yakni bakteri *E. coli* yang menyebabkan infeksi intestin dan bakteri *E. coli* yang menyebabkan infeksi ekstraintestin (Radji, 2011).

a. *Escherichia coli* yang menyebabkan infeksi intestin

1) *Escherichia coli* enteropatogenik (EPEC)

Bakteri *E. coli* jenis ini adalah penyebab utama diare pada bayi. *E. coli* enteropatogenik memiliki fimbria, toksin yang tahan terhadap panas (ST = *heat stabile toxin*), dan toksin yang tidak tahan panas (LT = *heat labile toxin*), serta menggunakan adhesin, yang dikenal dengan intimin, untuk melekat pada sel mukosa usus. Infeksi EPEC mengakibatkan diare berair yang biasanya dapat

sembuh sendiri, tetapi ada juga yang menjadi kronis. Lama diare yang disebabkan oleh EPEC dapat diperpendek dengan pemberian antibiotik.

2) *Escherichia coli* enterotoksigenik (ETEC)

Bakteri *E. coli* jenis enterotoksigenik merupakan bakteri penyebab diare pada anak dan wisatawan yang bepergian ke daerah yang bersanitasi buruk. Faktor kolonisasi ETEC yang spesifik pada manusia adalah *fimbrial adhesin*, yang menyebabkan *E. coli* jenis ini dapat melekat pada epitel usus halus sehingga biasanya menyebabkan diare tanpa demam.

Beberapa galur bakteri ini menghasilkan eksotoksin yang tidak tahan panas (LT = *heat labile toxin*). Struktur molekul dan fungsi LT mirip dengan protein toksin kolera (86 kDa). Subunit B melekat pada gangliosida GM1 pada *brush border* sel epitel usus halus dan memudahkan subunit A masuk ke dalam sel sehingga dapat mengaktifkan adenilat siklase.

ETEC juga memproduksi toksin yang tahan terhadap panas (ST = *heat stabile toxin*). Toksin ini tahan dalam air mendidih selama 30 menit. Enterotoksin yang stabil terhadap pemanasan ini merupakan peptida yang memiliki bobot molekul sekitar 4000 dalton. Karena ukurannya yang kecil, toksin ST diperkirakan sulit dinaktifkan oleh pemanasan. Toksin ini dapat menyebabkan konsentrasi guanosin monofosfat siklik dalam sitoplasma hospes meningkat sehingga meningkatkan konsentrasi adenosin monofosfat setempat (cAMP). Hal ini menimbulkan hipersekresi air dan klorida secara terus-menerus dan lama dan disertai penghambatan resorpsi natrium. Lumen usus teregang oleh cairan dan mengakibatkan hipermotilitas dan diare.

Untuk menghindari diare wisatawan, sangat dianjurkan untuk berhati-hati dalam memilih makanan yang kemungkinan terkontaminasi oleh ETEC. Profilaksis dengan suatu antimikroba dapat efektif, tetapi mungkin juga menimbulkan peningkatan resistensi bakteri pada antibiotik.

3) *Escherichia coli* enteroinvasif (EIEC)

Mekanisme patogenik EIEC mirip dengan patogenesis infeksi yang disebabkan oleh *Shigella*. EIEC masuk dan berkembang dalam epitel sel-sel kolon sehingga menyebabkan kerusakan pada sel kolon. Gejala klinis yang ditimbulkan oleh infeksi EIEC mirip dengan gejala diare yang disebabkan oleh *Shigella*. Gejala diare biasanya disertai dengan demam.

4) *Escherichia coli* enterohemoragic (EHEC)

Jenis bakteri ini menghasilkan suatu toksin yang dikenal dengan verotoksin. Nama verotoksin sesuai dengan efek sitotoksik toksin ini pada sel vero, yaitu sel ginjal yang diperoleh dari ginjal monyet Afrika (*African green monkey*). EHEC dapat menyebabkan kolitis berdarah (diare berat yang disertai perdarahan) dan sindrom uremik hemolitik (gagal ginjal akut yang disertai anemia hemolitik mikroangiopatik dan trombositopenia). Banyak kasus kolitis berdarah dan komplikasinya dapat dicegah dengan memasak daging sampai matang sebelum dikonsumsi.

5) *Escherichia coli* enteroagregatif (EAEC)

Bakteri ini menimbulkan diare akut dan kronis dan merupakan penyebab utama diare pada masyarakat di negara berkembang. EAEC melekat pada sel manusia dengan pola khas dan menyebabkan diare yang tidak berdarah, tidak menginvasi, dan tidak menyebabkan inflamasi pada mukosa intestin. EAEC

diperkirakan memproduksi EAST (*entero aggregative ST toxin*), yang merupakan suatu enterotoksin yang tidak tahan panas. Di samping itu, EAEC juga memproduksi hemolisin yang diperkirakan mirip dengan hemolisin yang diproduksi oleh galur *E. coli* yang dapat menyebabkan infeksi saluran kemih. Peranan toksin dan hemolisin dalam virulensi EAEC belum diketahui dengan jelas. Demikian juga, peranan galur EAEC sebagai penyebab penyakit pada manusia masih kontroversial.

b. *Escherichia coli* yang menyebabkan infeksi ekstraintestin

1) *Escherichia coli* uropatogenik (UPEC)

E. coli uropatogenik menyebabkan kira-kira 90% infeksi saluran kandung kemih mulai dari sistitis sampai pielonefritis. Bakteri yang berkolonisasi berasal dari tinja atau daerah perineum saluran urine yang masuk ke dalam kandung kemih. Kemungkinan wanita mengalami infeksi UPEC pada kandung kemih empat belas kali lebih besar daripada pria karena wanita mempunyai saluran uretra yang lebih pendek. UPEC biasanya menyebabkan infeksi sistitis tanpa gejala serius pada wanita yang saluran inteslinnya telah terinfeksi UPEC sebelumnya. Bakteri yang terdapat pada daerah periureteral tersebut pada akhirnya masuk ke dalam kandung kemih ketika melakukan hubungan seksual. Dengan bantuan adhesin, UPEC dapat berkolonisasi pada kandung kemih penderita.

2) *Escherichia coli* meningitis neonates (NMEC)

E. coli meningitis neonates dapat menyebabkan meningitis pada bayi baru lahir. Galur bakteri ini dapat menginfeksi 1 dalam 2000-4000 bayi. Perjalanan infeksi biasanya terjadi setelah *E. coli* masuk ke dalam pembuluh darah melalui nasofaring atau saluran gastrointestinal dan kemudian masuk ke dalam sel-sel otak.

Antigen kapsul KI dianggap sebagai faktor virulensi utama yang menyebabkan meningitis pada bayi. Antigen KI dapat menghambat fagositosis, reaksi komplemen, dan respons reaksi imunitas hospes. Selain itu, siderofor dan endotoksin juga berperan penting dalam patogenesis NMEC.

C. Kelebihan dan Kekurangan Rebusan dan Ekstrak

Rebusan (*Decoction*) dan Ekstraksi (*Extraction*) masing-masing memiliki kelebihan dan kekurangan. Hal ini dapat dilihat pada sebuah penelitian yang berfokus pada perbedaan metode ekstraksi daun *Rosmarinus Officinalis* yang menunjukkan bahwa rebusan dan ekstraksi memiliki perbedaan yang cukup signifikan. Kelebihan dari rebusan dibandingkan dengan ekstraksi jika dilihat dari segi pengerjaan yakni waktu dan tingkat kesulitan yang dibutuhkan untuk melakukan proses pembuatan rebusan relatif singkat dan mudah. Waktu yang diperlukan untuk membuat rebusan yakni sekitar 15 menit, sedangkan ekstraksi memerlukan waktu dari 3 sampai 7 hari. Namun, rebusan juga memiliki kekurangan yang cukup signifikan jika dibandingkan dari segi kandungan senyawa yang telah diambil, seperti pada penelitian yang telah dilakukan oleh Mutalib, rebusan hanya memiliki kandungan yang didapat dari *Rosemarinus officinalis* sebanyak 3,8%, sedangkan ekstraksi diuntungkan dengan mendapatkan kandungan dari *Rosemarinus officinalis* sebanyak 5,3% (Mutalib, 2015).

D. Pertumbuhan Bakteri

1. Fase pertumbuhan bakteri

Fase pertumbuhan bakteri merupakan fase pembelahan sel bakteri yang melalui beberapa fase yaitu, Fase lag, Fase Logaritma/Exponensial, Fase Stasioner dan Fase Kematian (Lestari, 2018).

a. Fase *lag*

Fase Lag adalah fase penyesuaian bakteri dengan lingkungan yang baru.

Lama fase lag pada bakteri sangat bervariasi, tergantung pada 9 komposisi media, pH, suhu, aerasi, jumlah sel pada inokulum awal dan sifat fisiologis mikro organisme pada media sebelumnya

b. Fase logaritma / exponensial

Fase Logaritma / eksponensial ditandai dengan terjadinya periode pertumbuhan yang cepat. Setiap sel dalam populasi membelah menjadi dua sel. Variasi derajat pertumbuhan bakteri pada fase eksponensial ini sangat dipengaruhi oleh sifat genetik yang diturunkannya

c. Fase stasioner

Fase stasioner terjadi pada saat laju pertumbuhan bakteri sama dengan laju kematiannya. Sehingga jumlah bakteri keseluruhan bakteri akan tetap. Keseimbangan jumlah keseluruhan bakteri ini terjadi karena adanya pengurangan derajat pembelahan sel. Hal ini disebabkan oleh kadar nutrisi yang berkurang dan terjadi akumulasi produk toksik sehingga mengganggu pembelahan sel. Fase stasioner ini dilanjutkan dengan fase kematian yang ditandai dengan peningkatan laju kematian yang melampaui laju pertumbuhan, sehingga secara keseluruhan terjadi penurunan populasi bakteri.

d. Fase kematian

Fase Kematian merupakan fase dimana laju kematian lebih besar.

2. Faktor pertumbuhan bakteri

Faktor pertumbuhan bakteri dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya adalah: (Lestari, 2018)

a. Zat makanan

Sebagian besar bakteri yang hidup secara bebas dapat tumbuh dengan baik pada ekstrak ragi. Bakteri parasit memerlukan zat-zat khusus yang hanya ditemui dalam darah atau dalam ekstrak jaringan hewan. Terdapat banyak organisme dengan satu senyawa seperti asam amino dapat menjadi sumber energi, sumber karbon dan sumber nitrogen. Zat makanan yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri harus mengandung sumber karbon, sumber nitrogen, mineral dan faktor pertumbuhan yang meliputi asam amino, purin, pirimidin dan vitamin.

b. Derajat keasaman atau pH

pH pembenihan juga memiliki pengaruh pada pertumbuhan kuman untuk membantu metabolisme bakteri. Bakteri dapat bertumbuh subur pada kisaran pH 6,5 – 7,5. Sedangkan sistem yang mencerminkan luas rentang pH ditunjukkan oleh berbagai bakteri, diantaranya:

- 1) Asidofil memiliki nilai rentang pH 6,5 – 7,0.
- 2) Mesofil memiliki nilai rentang pH 7,5 – 8,0.
- 3) Alkalofil memiliki nilai rentang pH 8,4 – 9,0

Hal ini terutama dapat dijumpai pada bakteri yang bersifat fermentatif, dengan kata lain yang menghasilkan sejumlah besar asam-asam organik yang bersifat menghambat.

c. Suhu

Suhu menjadi salah satu faktor penting dalam menentukan pertumbuhan bakteri. Apabila suhu tidak sesuai dengan kebutuhan bakteri, maka kerusakan sel tidak dapat dihindari. Spesies bakteri yang berbeda membutuhkan suhu optimal yang amat beragam untuk pertumbuhannya. Bakteri diklasifikasikan berdasarkan suhu pertumbuhannya menjadi tiga kelompok, yaitu:

Tabel 1
Jenis Bakteri Berdasarkan Suhu

Jensi Bakteri	Suhu Pertumbuhan	Suhu Optimum
Psikofilik	-5 s/d 30°C	10 s/d 20°C
Mesofilik	10 s/d 45°C	20 s/d 40°C
Termofilik	25 s/d 80°C	50 s/d 60°C

(Lestari, 2018)

Suhu optimal merupakan pencerminan lingkungan normal bakteri tersebut, sehingga bakteri patogen bagi manusia biasanya tumbuh optimal pada suhu 37°C.

d. Kelembaban

Ruangan dengan kelembaban diatas 75%, akan menyebabkan berkembangnya bakteri sedangkan udara yang sangat kering dapat membunuh bakteri atau menyebabkan pemberhentian kegiatan metabolisme bakteri.

e. Oksigen

Oksigen dibutuhkan untuk proses respirasi bakteri. Bakteri diklaasifikasikan menjadi tiga kelompok berdasarkan kebutuhan oksigennya, yaitu :

1. Aerob yaitu bakteri yang memerlukan oksigen untuk hidupnya.
2. Anaerob yaitu bakteri yang tidak dapat hidup apabila ada oksigen.

3. Anaerob Fakultatif yaitu bakteri yang mampu tumbuh dalam lingkungan dengan atau tanpa oksigen

f. Tekanan osmotik

Tekanan osmotik akan sangat mempengaruhi bakteri jika tekanan osmotik lingkungan lebih besar (hipertonis) sel akan mengalami plasmolisis. Sebaliknya jika tekanan osmotik lingkungan yang hipotonis akan menyebabkan sel membengkak dan juga mengakibatkan rusaknya sel. Oleh karena itu dalam mempertahankan hidupnya, sel bakteri harus berada pada tingkat tekanan osmotik yang sesuai, walaupun sel bakteri memiliki daya adaptasi, perbedaan tekanan osmotik dengan lingkungannya tidak boleh terlalu besar.

E. Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan tujuan untuk memperoleh suatu sistem pengobatan yang efektif dan efisien. Adapun metode-metode yang dapat digunakan untuk melakukan uji aktivitas antibakteri adalah sebagai berikut (Pratiwi, 2019)

1. Metode difusi

a. Cara cakram (*disc*)

Metode *disc* ini bertujuan untuk menentukan aktivitas agen antibakteri. Metode ini dilakukan dengan meletakkan piringan yang berisi antibakteri agar berdifusi ke dalam media agar. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Daerah bening di sekitar cakram menunjukkan bahwa adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antibakteri. Kelebihan dari metode cakram yaitu jumlah zat uji yang digunakan dapat diatur, dapat dilakukan lebih banyak

pengujian dalam satu kali kegiatan, cepat, mudah dan murah karena tidak menggunakan alat khusus. Adapun kelemahan dari metode ini adalah ukuran zona bening yang terbentuk sangat tergantung oleh kondisi inkubasi inokulum predifusi dan preinkubasi serta ketebalan medium (Artanti, Rahmawati dan Prihapsara 2020).

b. Cara parit (*ditch*)

Cara ini dilakukan dengan menempatkan zat antibakteri (sampel yang akan diujikan) pada parit yang dibuat dengan memotong agar secara membujur dalam cawan petri kemudian bakteri digores ke arah parit yang terdapat zat antibakteri di dalamnya. Selanjutnya cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Area bening di sekitar parit menunjukkan adanya agen antibakteri yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Adapun kelemahan metode ini adalah harus menggunakan pelat yang baru setiap hari (Wardhani, 2015).

c. Cara sumur (*cup*)

Metode ini hampir sama dengan cara parit, yakni dengan membuat sumuran di media agar yang telah berisi mikroorganisme, lalu pada sumuran tersebut dimasukkan agen antibakteri yang akan dilakukan pengujian. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Munculnya area bening di sekitar sumur membuktikan bahwa terdapat daya hambat pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antibakteri. Kelebihan dari metode sumur ini adalah dilihat dari penggunaan peralatan yang relatif mudah dan murah. Kelemahan dari cara sumur ini adalah membutuhkan ketelitian yang lebih dalam hal kondisi instrumen seperti mikropipet, keakuratan volume harus dipastikan dan ekstrak yang digunakan harus dijaga agar bebas dari cemaran bakteri (Nurjannah, 2017).

2. Metode dilusi

a. Metode dilusi cair (*broth dilution test*)

Metode dilusi ini dirancang untuk menentukan Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM). Prosedur untuk metode ini terdiri dari pengenceran zat antibakteri secara berurutan dalam media cair dan kemudian menambahkan bakteri yang diuji. Kadar Hambat Minimum dapat ditentukan dari konsentrasi terkecil agen antibakteri yang tampak jernih dan tanpa adanya pertumbuhan mikroorganisme uji. Kemudian dikultur kembali pada media cair tanpa menambahkan agen antibakteri maupun media uji. Setelah itu diinkubasi selama 18-24 jam. Area bening di media cair setelah inkubasi menunjukkan Kadar Bunuh Minimum. Keuntungan dari metode dilusi cair adalah pelat mikrotiter mudah dibeli di pasaran, dan operasi pengujiannya sederhana dan mudah dipahami. Kerugian dari metode ini adalah agen antimikroba tidak dapat divariasikan berdasarkan sampel (Heijnen dan Verheijen, 2011).

b. Metode dilusi padat (*solid dilution test*)

Metode dilusi padat ini hampir sama dengan metode dilusi cair, hanya saja metode dilusi padat menggunakan media padat. Kelebihan metode dilusi padat ini adalah dapat hanya menggunakan satu konsentrasi agen antibakteri untuk menguji beberapa bakteri uji (Wardhani, 2015).

Data diameter zona hambat dapat dikategorikan ke penilaian menurut CSLI yaitu resisten, intermediet atau sensitif. Penilaian dapat dikatakan resisten, intermediet, atau sensitive apabila zona hambat yang dihasilkan sebagai berikut: (CLSI, 2012)

Tabel 2
Diameter Zona Bening Daya Hambat Aktivitas Antibakteri

Kategori	Diameter
Resisten	≤ 12 mm
Intermediet	13-17 mm
Sensitif	≥ 18 mm

(CLSI, 2012)