

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Umum Tentang *Salmonella typhi*

1. *Salmonella typhi*

Salmonella typhi merupakan bakteri gram negatif anaerob fakultatif, berflagel, dan aktif bergerak, berbentuk tubuh motil, dan bebas spora. Sel luar terdiri atas struktur, liposakarida kompleks. Bagian liposakarida mempunyai fungsi sebagai endotoksin dan memainkan peran penting dalam menentukan patogenesis organisme. Kompleks endotoksin makromolekuler terdiri dari tiga komponen lapisan luar O-polisakarida, bagian tengah (inti-R), dan lapisan dalam lipid A. Organisme yang berasal dari genus *Salmonella* merupakan sumber penyebab infeksi, mulai dari yang ringan hingga berat seperti demam tifoid dan bakterimia. *Salmonella* adalah agen penyebab *salmonellosis* yang endemik di Indonesia dan merugikan banyak korban (Rahmasari & lestari, 2018).

Bakteri ini dapat hidup pada suhu Ph 6-8 pada suhu 15-4°C (suhu optimal. Bakteri ini dapat mati dengan pemanasan 54,4°C selama satu jam dan suhu 60°C selama 15-20 menit, pasteurisasi, pendidihan dan khlorinisasi. Terjadinya penularan *Salmonella typhi* pada manusia yaitu secara jalur fekal-oral. Sebagian besar terjadi akibat kontaminasi makanan atau minuman yang tercemar (Imara, 2020).

2. Klasifikasi *Salmonella Typhi*

Klasifikasi *salmonella typhi*:

Kingdom	: <i>Bacteria</i>
Phylum	: <i>Protrobacteri</i>
Class	: <i>Gamma prateobakteria</i>
Ordo	: <i>Enterobacteriales</i>
Family	: <i>Enterobacteriaceae</i>
Genus	: <i>Salmonella</i>
Spesies	: <i>Salmonella typhi</i>

3. Morfologi *Salmonella typhi*



Gambar 1. Bakteri *Salmonella typhi* dengan Pewarnaan Gram secara Mikroskopis
(Sumber : Herina, A 2023).

Salmonella merupakan bakteri gram negatif yang terdiri dari family *Enterobacteriaceae*. *Salmonella* adalah bakteri patogenetik enterik dan penyebab utama penyakit bawaan dari makanan (foodborne disease). Antigen *salmonella* terdiri dari tiga yakni tertular O, flagella H dan kapsul Vi (virulensi). Terdapat lebih dari 2.500 serotipe *salmonella* yang dapat menginfeksi manusia. Namun serotipe yang sering menjadi penyebab utama infeksi pada manusia adalah *salmonella paratyphi A*, *Salmonella paratyphi B*, *Salmonella paratyphi C*, *Salmonella cholerasius*, *Salmonella typhi* (Kuswiyanto, 2017).

Salmonella merupakan gram negatif yang pertumbuhannya anaerob fakultatif. Berukuran 1-3,5 μ m x 0,5-0,8 μ m, besar koloni rata-rata 2-4 mm. *salmonella* memiliki flagela petrika yang dapat memberikan sifat motil pada *Salmonella* tersebut. Flagela mengandung protein yang disebut flagelin yang memberi signal bahaya kepada sistem kekebalan tubuh. *Salmonella* adalah organisme yang mudah tumbuh pada medium sederhana namun hampir tidak pernah memfermentasikan laktosa dan sukrosa (Kuswiyanto, 2017).

4. Struktur Antigen *Salmonella typhi*

Salmonella typhi memiliki 3 jenis antigen yaitu antara lain :

a. Antigen O (Antigen sometik)

Antigen ini tahan terhadap suhu panas dan alcohol namun tidak tahan terhadap formaldehid dan terletak pada lapisan luar dari tubuh

kuman. Antigen ini mempunyai struktur lima liposakarida atau disebut endotoksin.

b. Antigen H (Flagella)

Antigen ini terletak pada flagella, fimbriae atau pili dari kuman. Struktur kimia suatu protein dan tahan terhadap formaldehid tetapi tidak suhu panas dan alcohol yang telah memenuhi kriteria penilaian

c. Antigen Vi

Antigen ini memiliki fungsi untuk melindungi kuman dari fagositosis dan terletak pada kapsul dari kuman.

Antigen ini dimiliki *Salmonella typhi* jika didalam tubuh pasien demam tifoid akan menimbulkan 3 macam antibodi lazim yang disebut aglutinin (Napriadin, 2020).

5. Epidemiologi Bakteri *Salmonella typhi*

Seperti yang ditunjukkan dalam banyak jurnal ataupun data terkait dengan kejadian demam tifoid yang sudah mengalami begitu banyak kemajuan dibanding sebelum tahun 2000, akan tetap saja penyakit ini hingga sekarang masih tetap menjadi masalah utama beberapa negara didunia (Brutta dkk, 2018). Demam tifoid adalah penyakit musiman, dimana kasus terbanyak ditemukan pada musim hujan dengan sekitar 45% kejadian dari total kejadian tiap tahunnya. Misal di Asia Selatan curah hujan tinggi dibulan juni hingga oktober, sehingga banyak kasus yang ditemukan pada periode tersebut (Pauland Bandyopadhyay, 2017). Umumnya demam tifoid banyak ditemukan di negara-negara berkembang 10 dan berpenghasilan rendah, juga negara yang beriklim tropis (WHO, 2018).

Pada tahun 2015, berdasarkan data dari GBD didapatkan sekitar 17 juta kasus demam tifoid dan demam paratifoid diseluruh dunia dengan insiden kasus terbanyak di Asia Selatan. Daerah lain yang juga banyak didapat kasus ini yaitu Asia Tenggara dan sub- Sahara Afrika. Dari data WHO, pada tahun 2018 diperkirakan bahwa setiap tahun diseluruh dunia

terjadi 11-21 juta kasus demam tifoid dengan insiden kematian sebanyak 128.000 hingga 161.000 (WHO, 2018).

Untuk di Indonesia, berdasarkan data dari Global Burden of Disease menurut jenis kelamin pada tahun 2019, didapatkan nilai pada laki-laki yaitu 186,07 Disability-adjusted life years (DALYs) per 100.000 (Global Burden of Disease, 2020). Selain itu salah satu penelitian terkait angka kejadian tifoid yang dilakukan antara juni 2010 dan juni 2011 di 14 rumah sakit dan puskesmas terpilih yang ada di 3 pulau yaitu sulawesi (Daerah sekitar makassar), Kalimantan (Daerah sekitar samarinda) dan papua (Daerah sekitar jayapura) didapatkan angka kejadian demam tifoid yaitu 933 orang (yang memenuhi syarat penelitian) (Alba dkk, 2016).

6. Patogenesis Bakteri *Salmonella typhi*

Bakteri *Salmonella typhi* masuk ketubuh melalui makanan atau minuman yang tercemar bakteri *Salmonella typhi*. Setelah bakteri mencapai dinding epitel usus, dan invasi ke jaringan limfoid yang merupakan untuk berkembang baik melalui saluran limfa mesentrik, bakteri masuk ke aliran darah sistemik dan mencapai sel-sel retikulo endotelial dari hati dan limfa. Fase ini dianggap masa inkubasi (7-14 hari). Kemudian dari jaringan ini bakteri dilepas ke sirkulasi sistemik, dan mencapai organ-organ tubuh terutama limpa, usus halus, dan kandung empedu. Kandung empedu merupakan tempat yang disukai bakteri salmonella (Kemenkes, 2014).

7. Pencegahan dan pengobatan

Menurut vaksinasi dapat dilakukan pencegahan demam tifoid. Vaksinasi Ty21(vaksin tifoid oral hidup)serta Vi (*virulensi*) merupakan vaksin yang dapat mencegah demam tifoid secara aman dan efektif. Vaksin Ty21 adalah vaksin yang mengandung *Salmonella typhi* yang sudah dilemahkan dan diberikan secara oral (berkaitan dengan mulut), adapun Vi berupa polisakarida kapsular yang dapat diberikan secara injeksi (Amicizia dkk, 2017).

Deteksi *Salmonella* serta pengobatan dilakukan dengan menggunakan antibiotik yang sangat tepat dan krusial untuk penanganan demam tifoid. Lebih dari 90% pasien akan diobati dengan antibiotika oral yang ada dirumah. Ketika pasien dalam kondisi yang parah di barengi dengan muntah secara terus menerus, diare berat dan sakit di perlukan untuk rawat inap serta melakukan pengobatan dengan menggunakan antibiotik secara parental (Chouwdhury dkk, 2016).

B. Tinjauan Umum Tentang Bidara (*Ziziphus mauritiana*)

1. Pengertian Bidara (*Ziziphus mauritiana*)

Bidara (*Ziziphus mauritiana*) merupakan salah satu tumbuhan indonesia yang memiliki potensi pengobatan berbagai jenis penyakit (Safrudin dan Nurfitasari, 2018). Tanaman bidara memiliki banyak kandungan yang bermanfaat antara lain protein, kalsium, zat besi, magnesium, vitamin, senyawa aktif seperti flavonoid, karotenoid, alkaloid, fenol, kuercetin, metil ester, terpenoid, saponin, dan seabainya. Tanaman bidara saat ini belum banyak dimanfaatkan sebagai sumber saponin. Padahal, tanaman bidara merupakan suatu bahan alam yang berpotensi dan sangat mudah ditemukan karena pertumbuhannya liar (Chairunnisa dkk, 2019).

Tanaman ini berasal dari Timur Tengah dan saat ini sudah menyebar di wilayah tropis dan sub tropis, salah satunya Asia Tenggara. Tanaman ini dapat beradaptasi dengan berbagai kondisi, tetapi tumbuhan ini lebih menyukai udara yang panas dengan curah hujan berkisar antara 125 mm dan diatas 2000 mm, suhu maksimum agar dapat tumbuh dengan baik adalah 37-48°C, dengan suhu minimum 7-13°C. Tanaman ini banyak ditemukan di daerah dengan ketinggian 0-1000 m dpl (Nugrahwati, 2016).



Gambar 2 Daun bidara (*Ziziphus mauritiana*)
(Sumber : Dokumentasi pribadi, 2024).

2. **Klasifikasi Tanaman Bidara (*Ziziphus mauritiana*)**

Klasifikasi tanaman bidara (*Ziziphus mauritiana*) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i>
Super divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliophyta</i>
Subkelas	: <i>Rosidae Ordo</i>
Family	: <i>Rhamnaceae</i>
Genus	: <i>Ziziphus</i>
Spesies	: <i>Ziziphus mauritiana</i> .

3. **Morfologi Bidara (*Ziziphus mauritiana*)**

Ziziphus mauritiana merupakan nama lain dari tanaman bidara. Bidara dikenal dengan beberapa nama didaerah yaitu Widara (jawa, sunda), Rangga (Bima), Kalangan (Sumba), Bekul (Bali), Klom (Kupang). Bidara adalah tanaman yang dapat bertahan hidup dilingkungan yang cukup kering, dan dapat tumbuh pada tanah yang bersifat basa maupun asam. Tanaman bidara tingginya rata-rata mencapai 1,5 m, tumbuh gerak dan mempunyai cabang yang menjuntal, termasuk tanaman berduri, memiliki daun yang selalu berwarna hijau

atau semi kering, bidara juga merupakan tanaman lengkap yang memiliki bunga, buah, daun, batang, dan akar (Raharjang dan Masliyah, 2020).



Gambar 3 : Tanaman Bidara (*Ziziphus mauritiana*)
(Sumber : Dokumentasi pribadi, 2024).

4. Kandungan Kimia Bidara (*Ziziphus mauritiana*)

Tanaman bidara (*Ziziphus mauritiana*) mempunyai kandungan senyawa alkaloid, glikosida, saponin, flavonoid, terpenoid dan fenolik serta aktivitas antioksidan yang baik pada daunnya (Preeti dan Tripa thi, 2014; Kusriani H., Nawawi A., Macter E., 2015). Zat aktif pada tanaman bidara yang berperan sebagai antiseptik dan penyembuhan pada luka dari berbagai sumber, yaitu :

a. Terpenoid dan flavonoid

Terpenoid dan flavonoid adalah zat yang memiliki efek antimikroba dan bertanggung jawab dalam kontraksi luka serta peningkatan kecepatan epitelisasi, dan merupakan senyawa pereduksi yang dapat menghambat reaksi oksidasi senyawa ini mampu mentransfer sebuah elektron kepada senyawa radikal bebas (Haeria dkk, 2016).

b. Saponin

Saponin berperan sebagai antioksidan dan antimikroba, meningkatkan kontraksi luka dan kecepatan epitelisasi. Saponin merupakan glikosida kompleks, bersifat polar dan larut dalam air (hidrolik), disebut juga surfaktan alamiah karena dapat menurunkan tegangan. Saponin juga dapat meningkatkan kemampuan reseptor TGF- β yang terdapat pada fibroblas untuk berkaitan dengan TGF- β yang merupakan factor pertumbuhan yang diperlukan fibroblas dalam mensintesis kolagen (Chairunnisa dkk, 2019).

c. Tanin

Tanin berfungsi sebagai adstrigen yang dapat menyebabkan penciutan pori-pori kulit, menghentikan eksudat dan pendarahan ringan, cara kerja tanin memperlambat enzim yang bekerja diluar sel, kemudian menggantikan substrat tumbuhnya mikroba dan berproses secara langsung dengan memperlambat proses oksidasi (Aldila dkk, 2023).

d. Fenol

Fenol berfungsi sebagai antiseptik pada luka, yaitu membunuh bakteri dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri dan berperan dalam proses epitelisasi dalam menstimulasi proses regenerasi jaringan kulit pada luka sehingga luka dapat dengan cepat tertutup dengan kulit baru (Aldila dkk, 2023).

C. Tinjauan Umum Tentang Ekstraksi

1. Pengertian Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu proses pemisahan kandungan senyawa kimia dari jaringan tumbuhan ataupun hewan dengan menggunakan penyari tertentu (Pratiwi, 2021). Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair dibuat dengan menyari simplisia nabati atau simplisia hewani menurut cara yang cocok diluar pengaruh dari sinar matahari langsung. Ekstrak diperoleh dengan cara ekstraksi tanamanobat dengan ukuran

partikel tertentu dan menggunakan medium pengestraksi (menstruum) yang tertentu pula (Lio dkk, 2020).

2. Metode Ekstraksi

Metode ekstraksi merupakan suatu proses yang tidak melibatkan pemanasan selama ekstraksi yang bertujuan agar tidak terjadi kerusakan kandungan senyawa didalamnya, sedangkan ekstraksi cara panas merupakan suatu proses ekstraksi dengan cara pemanasan yang bertujuan untuk mempercepat proses penyaringan (Laily, 2023).

a. Maserasi

Maserasi merupakan proses ekstraksi simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan dengan suhu ruang. Prosedurnya dilakukan dengan cara merendam simplisia dengan pelarut yang sesuai, dalam wadah tertutup. Pengadukan dilakukan guna meningkatkan kecepatan ekstraksi. Maserasi adalah proses ekstraksi sederhana yang dilakukan dengan cara merendam simplisia dalam satu atau campuran pelarut selama waktu tertentu pada temperatur kamar dan terlindungi dari cahaya. Kelemahan maserasi adalah prosesnya membutuhkan waktu yang cukup lama. Ekstraksi secara menyeluruh juga dapat menghabiskan sejumlah besar volume pelarut yang dapat berpotensi hilangnya metabolit. Beberapa senyawa juga tidak terekstraksi secara efisien jika kurang terlarut pada suhu kamar (27°C). Ekstraksi secara maserasi dilakukan pada suhu kamar (27°C) sehingga tidak menyebabkan degradasi metabolit yang tidak tahan panas (Hamdan, 2022).

b. Perkolasi

Pada metode perkolasi, serbuk sampel di basahi secara perlahan dalam sebuah perkolator. Pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah. Kelebihan dari metode ini adalah sampel senantiasa dialiri oleh pelarut baru. Sedangkan kerugiannya adalah jika sampel dalam percolator tidak homogeny maka pelarut akan sulit menjangkau

seluruh area, selain itu metode ini juga dibutuhkan banyak pelarut dan membutuhkan banyak pelarut dan membutuhkan banyak waktu (Mukhriani, 2014).

c. Soxhletasi

Pada teknik ekstraksi ini, bagian tanaman yang sudah digiling halus dimasukkan kedalam kantong berpori (thimble) yang terbuat dari kertas saring yang kuat dan dimasukan kedalam alat sokhlet untuk dilakukan ekstraksi. Pelarut yang ada dalam labu akan dipanaskan dan uapnya akan mengembun pada condenser. Embunan pelarut ini akan merayap turun menuju kantong berpori yang berisi bagian tanaman yang akan diekstrak. Kontak antara embunan pelarut dan bagian tanaman ini menyebabkan bahan aktif terekstraksi. Ketika ketinggian cairan dalam tempat ekstraksi meningkat hingga mencapai puncak kapiler maka cairan dalam tempat ekstraksi akan tersedot mengalir kelabu selanjutnya. Proses ini berlangsung secara terus-menerus (kontinyu) dan 15 dijalankan sampai tetesan pelarut dari pipa kapiler tidak lagi meninggalkan residu ketika diuapkan (Endarini, 2016).

d. Refluktasi

Pada metode reflux, sampel dimasukan bersama pelarut kedalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut dipanaskan hingga mencapai titik didih. Uap terkondensasi dan kembali kedalam labu. Kerugian dari metode yaitu senyawa yang bersifat termolabil dapat terderadasi (Mukhriani, 2014). Umumnya reflux dilakukan pada reaksi yang lambat terbentuk produk. Refluks dilakukan menggunakan seperangkat alat refluks. Dua bahan atau lebih yang akan direaksikan biasanya termasuk katalis dan batuh didih dimasukan kedalam labu alas bulat (leher satu, dua atau tiga tergantung kebutuhan). Labu kemudian disambungkan dengan pendingin bola yang telah disabungkan dengan selang untuk air pendingin. Setelah alat terpasang semua, labu dipanaskan sampai campuran mendidih. Refluks ini merupakan suatu pelarut titik didih, selama waktu yang tertentu dan

jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Butarbutar, 2019).

D. Tinjauan Umum Tentang Aktivitas Antibakteri

1. Pengertian Tentang Aktivitas Antibakteri

Aktivitas antibakteri adalah kadar terkecil yang dibutuhkan oleh agen antibakteri untuk menghambat pertumbuhan dari mikroorganisme. Antibakteri adalah senyawa yang digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri yang bersifat merugikan. Pengendalian pertumbuhan mikroorganisme bertujuan untuk mencegah pembusukan serta perusakan bahan oleh mikroorganisme (Maria dkk, 2018).

Setiap jenis antibakteria memiliki suatu mekanisme kerja tersendiri dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Mekanisme kerja antibakteri adalah sebagai berikut :

a. Menghambat sistematis dinding sel bakteri

Dinding sel bakteri dikelilingi oleh struktur kaku seperti dinding sel yang berfungsi untuk melindungi membrane protoplasma yang ada dalam sel. Senyawa antimikroba mampu merusak dan mencegah proses sintesis dinding sel, sehingga akan menyebabkan terbentuknya sel yang peka terhadap tekanan osmotik (Fallis, 2016).

b. Menghambat fungsi membran sel sitoplasma.

Membrane sel berfungsi untuk penghalang dengan permeabilitas selektif, melakukan pengangkutan aktif dan mengendalikan susunan dalam sel. Membran sel berfungsi untuk penghalang dengan permeabilitas selektif, melakukan pengangkutan aktif dan mengendalikan susunan dalam sel. Membrane sel mempengaruhi konsentrasi metabolit dan bahan gizi di dalam sel dan tempat berlangsungnya pernafasan sel serta aktivitas sel biosintesis tertentu. Beberapa Antimikroba dapat merusak salah satu fungsi dari membrane sel sehingga dapat menyebabkan gangguan pada kehidupan sel (Fallis, 2016).

c. Menghambat sintesis protein

Suatu sel dapat hidup apabila molekul-molekul protein dan asam nukleat dalam sel tanpa dapat diperbaiki kembali. Suhu tinggi dan konsentrasi pekat dari beberapa zat kimia dapat mengakibatkan koagulasi ireversibel komponen sel yang mendukung kehidupan suatu sel (Palczar, 1998 dalam Ramdani, 2015). Maka dari itu untuk kelangsungan hidup bakteri membutuhkan protein. Sintesis protein berlangsung dalam ribosom. Bakteri memiliki ribosom. Bakteri memiliki ribosom 70S yang terdiri dari dua yaitu 30S dan 50S.

2. Pengamatan Zona Hambat

Zona hambat merupakan tempat dimana pertumbuhan bakteri terhambat akibat antibakteri atau antimikroba. Zona hambat adalah daerah jernih di sekeliling sumur dari media pertumbuhan bakteri uji yang tidak ditumbuhi bakteri. Lebar diameter zona hambat diukur dengan mistar dalam satuan sentimeter (Putri dkk, 2016).

3. Pembuatan kontrol positif (*Ciprofloxacin*)

Antibiotik yang digunakan untuk kontrol positif dalam pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* yaitu *Ciprofloxacin*. *Ciprofloxacin* merupakan antibiotik yang termasuk golongan fluoroquinolon yang merupakan generasi ke 2. Obat ini bekerja dengan melakukan penghambatan terhadap dua jenis enzim DNA girase dan enzim topoisomerase IV. Kedua enzim tersebut berperan dalam pembentukan DNA sel bakteri. Dengan mekanisme kerja tersebut, *Ciprofloxacin* dapat membunuh bakteri sehingga obat ini digolongkan sebagai bakterisidal. Antibiotik ini merupakan antibiotik spektrum luas yang aktif mematikan bakteri gram negatif maupun gram positif (Toding dkk, 2020).

E. Tinjauan Umum Tentang Uji Daya Hambat

1. Pengertian Uji Daya Hambat atau Sensitivitas

Daya hambat bakteri adalah cara bagaimana mengetahui dan mendapatkan produk alami yang berpotensi sebagai bahan antibakteri serta mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan atau

mematikan bakteri pada konsentrasi yang rendah. Uji daya hambat bakteri merupakan suatu metode yang memiliki aktivitas anti bakteri, dapat juga diartikan daya hambat merupakan tempat dimana bakteri terhambat pertumbuhannya akibat anti bakteri atau mikroba. Zona hambat adalah daerah untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada media agar oleh antibiotic.

2. Pengujian Antibakteri

Metode yang biasanya dilakukan dalam menguji aktivitas suatu antibakteri (Khusuma dkk, 2019). yaitu metode dilusi dan difusi yaitu :

a. Uji difusi

1. Metode lubang atau sumuran

Fungsi uji yang umumnya 18-24 jam disuspensikan kedalam media agar pada suhu 45°C. Suspensi fungsi dituangkan kedalam cawan petri steril. Setelah agar memadat, dibuat lubang-lubang dengan diameter 66 mm kemudian dimasukan zat yang akan diuji aktivitasnya sebanyak 20µL dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Aktivitas antifungi dapat dilihat dari daerah bening yang mengelilingi lubang sumuran.

2. Metode garis silang

Zat yang akan diuji diserap kedalam kertas saring dengan cara meneteskan pada kertas saring kosong larutan antifungsi sejumlah volume tertentu dengan kadar tertentu. Kertas saring tersebut diletakan diatas permukaan agar padat, kemudian di gores dengan suspensi fungi 90% dengan agar melalui kertas saringnya, diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37. Aktivitas antifungi dapat dilihat dari daerah jernih yang tidak ditumbuhi fungi dekat kertas saring.

3. Metode cakram kertas

Zat yang akan diuji diserap kedalam kertas saring dengan cara meteskan pada kertas saring kosong larutan antifungsi

sejumlah volume tertentu dengan kadar tertentu. Kertas saring tersebut diletakan diatas permukaan agar padat, kemudian digores dengan suspensi fungi 90% dengan agar melalui kertas saringnya, diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Aktivitas antifungi dapat dilihat dari daerah jernih yang tidak ditumbuhi fungi dekat kertas saring.

b. Uji dilusi

1. Metode dilusi cair

Metode ini mengukur IMC (*minimum inhibitory concentration* atau kadar hambat minimum/KMH) dan MBC (*minimum bactericidal concentration* atau kadar bunuh minimum/KMB). Dilakukan dengan cara membuat seri pengencer agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Larutan uji agen antimikroba pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KMH, Larutan yang ditetapkan pada KHM tersebut selanjutnya diukur ulang pada cair tanpa penambahan mikroba dan diinkubasi sesuai dengan mikroba uji. Media cair yang bening setelah diinkubasi ditetapkan sebagai KMB.

2. 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 antimikroba uji.

3. Media Pertumbuhan Bakteri

Media merupakan tempat pertumbuhan yang mengandung nutrisi penting bagi mikroorganisme sebagai makanannya. Mikroorganisme membutuhkan beberapa unsur logam seperti natrium, kalsium, magnesium, kalium, mangan, besi, tembaga, seng, fosfor, hidrogen, kobalt, oksigen, serta belerang untuk dapat tumbuh (Thohari dkk, 2019).

a. Media *Mueller Hinton Agar* (MHA)

Media Mueller Hinton Agar (MHA) telah direkomendasikan oleh WHO untuk pengujian antibakteri bakteri aerobik dan anaerobik fakultatif terutama untuk makanan dan bahan klinis. Media agar telah terbukti memberikan hasil yang baik dan dapat direproduksi. Media ini mempunyai kelebihan mengandung inhibitor sulfonamida, trimethoprim, dan tetrakslin yang memungkinkan pertumbuhan pathogen yang memuaskan serta konsentrasi agar dapat membuat proses difusi yang lebih baik di bandingkan dari media lain (Marlina dkk, 2022).

Media MHA digunakan untuk uji kepekaan bakteri karena (Atmojo, 2016).

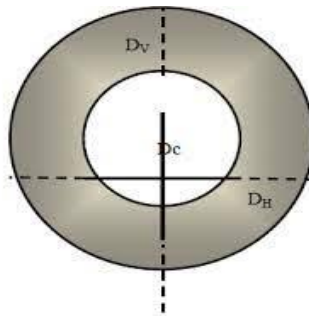
1. Semua bakteri dapat tumbuh karena media ini bukan merupakan media selektif dan media differensial.
2. Mengandung starch (tepung pati) yang berfungsi untuk menyerap racun yang dikeluarkan bakteri sehingga, sehingga tidak mengganggu antibiotik.
3. Rendah sulfonamide, trimethoprim dan tetracycline inhibitors.
4. Mendukung pertumbuhan bakteri non-fastidious yang patogen.

b. Media *Nutrient Agar* (NA)

Media *Nutrient Agar* (NA) adalah media paling umum digunakan untuk pertumbuhan sampel pada uji bakteri dan isolasi mikroorganisme dalam kultur murni. *Nutrient Agar* (NA) juga merupakan media yang dibuat dari ekstrak beef, pepton, dan agar. Ekstrak beef dan pepton berfungsi sebagai sumber protein, nitrogen, vitamin, serta karbohidrat yang dibutuhkan dari suatu mikroorganisme untuk pertumbuhan dan perkembangannya. Sedangkan pada agar berfungsi sebagai pematat yang mengandung karbohidrat berupa galaktam yang tidak mudah diuraikan pada suatu organisme (Munandar, 2016).

4. Pengukuran Zona Hambat

Prinsip dari daya hambat adalah penghambatan terhadap pertumbuhan, yaitu daya hambatan akan terlihat sebagai daerah jernih disekitar daerah yang mengandung zat antibakteri. Diameter zona hambat yang terbentuk bakteri tersebut semakin sensitivitas bakteri terhadap zat antibakteri. Selanjutnya dikatakan bahwa semakin lebar dia meter zona hambat yang terbentuk bakteri tersebut semakin sensitif. Setelah 24 jam pengukuran dilakukan dengan mengukur diameter zona bening yang terbentuk disekeliling kertas cakram (Paper disk) sebanyak 2 perhitungan (diameter vertical dan diameter horizontal), kemudian ditentukan rata-rata dengan cara dibagi 2. Nilai zona hambat diukur dengan rumus :



Gambar 4 : Gambar dan rumus penentuan zona hambat
(Sumber : Torar, 2015)

$$\frac{DV - DC + (DH - DC)}{2}$$

Kerangan :

DV : Diameter vertikal

DH : Diameter Horizontal

DC : Diameter Cakram

5. Klasifikasi Zona Hambat

Menurut Standar CLSI 2021 (*Clinical Laboratory Standards Institute*) zona hambat bakteri *Salmonella typhi* diklasifikasikan menjadi 3 kategori yaitu sebagai berikut:

Tabel 1. Klasifikasi zona hambat

Diameter zona hambat(mm)	Kekuatan daya hambat
≤ 12	<i>Resistent</i>
13-17	<i>Intermediet</i>
≥ 18	<i>Sensitif</i>

(Sumber : CLSI, 2021).