

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Umum Tentang Bakteri *Proteus sp.*

Proteus sp. merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang pendek, yang tidak memiliki spora maupun kapsul, namun memiliki kemampuan bergerak aktif berkat adanya flagela peritrik. Bakteri ini bersifat aerob dan dikenal karena kemampuannya untuk cepat menyebar di atas permukaan media padat. *Proteus sp.* juga menghasilkan enzim urease yang mampu menguraikan urea menjadi amonia. Bakteri ini dapat hidup bebas di lingkungan seperti air, tanah, dan sampah, serta sering ditemukan pada tinja (Randan dkk, 2018).

Proteus sp. sering ditemukan sebagai penyebab infeksi saluran kemih (ISK), terutama pada infeksi nosokomial yang terjadi pada pasien dengan perawatan jangka panjang di rumah sakit. Infeksi ini umumnya disebabkan oleh penggunaan peralatan medis yang tidak steril, seperti kateter, nebulizer, dan sarung tangan untuk pemeriksaan luka. Kateter menjadi salah satu alat medis yang paling sering berkontribusi terhadap tingginya angka kejadian ISK. Jika infeksi tidak ditangani secara dini dan tepat, dapat berkembang menjadi komplikasi serius seperti gagal ginjal, sepsis, hingga kematian (Randan dkk, 2018).

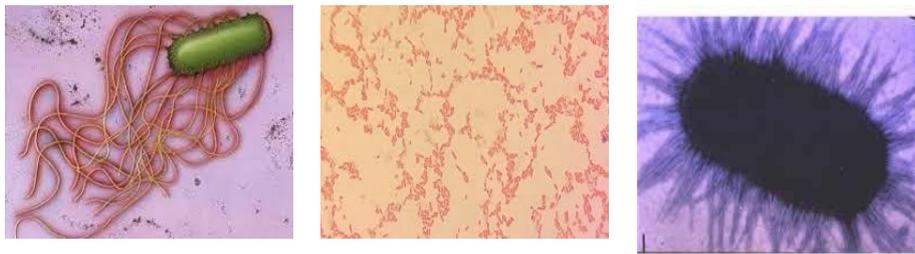
1. Taksonomi *Proteus sp*

Taksonomi bakteri *Proteus sp.* adalah sebagai berikut:

Domain : Bakteri
Filum : *Proteobacteria*
Kelas : *Gamma proteobacteria*
Ordo : *Enterobacteriales*
Family : *Enterobacteriaceae*
Genus : *Proteus*
Spesies : *Proteus vulgaris*
Proteus morgani
Proteus mirabilis
Proteus rittgeri

2. Morfologi *Proteus sp*

Proteus sp. termasuk dalam famili Enterobacteriaceae dan merupakan bakteri berbentuk batang (basil), gram negatif, tidak membentuk spora, serta tidak memiliki kapsul. Bakteri ini memiliki flagela peritrik yang memungkinkan pergerakan aktif. Beberapa strain dapat berbentuk coccobacilli, polimorfik, berpasangan, atau membentuk rantai. Ukuran bakteri ini berkisar antara 0,4-0,8 x 1,0-3,0 mm. *Proteus sp.* termasuk dalam kelompok bakteri non-fermenter fruktosa dan bersifat fakultatif yang berarti dapat tumbuh dalam kondisi aerob maupun anaerob (Randan dkk, 2018).



(Gambar 1 bakteri *Proteus*: geogle 2023)

3. Sifat biakan *Proteus sp*

Proteus sp. adalah bakteri aerob dan anaerob fakultatif yang dapat menunjukkan pertumbuhan optimal pada suhu 37°C. Bakteri ini memiliki kemampuan untuk memfermentasi glukosa, menghasilkan asam dan gas, serta dapat mengubah fenilalanin menjadi asam fenilpiruvat. Selain itu, *Proteus sp.* dapat menghidrolisis urea dengan cepat berkat keberadaan enzim urease, yang menghasilkan kondisi alkali pada media Triple Sugar Iron Agar (TSIA) dan membentuk gas hidrogen sulfida (H₂S). Disebut sebagai bakteri proteolitik, *Proteus sp* mampu menguraikan dan memecah protein dalam kondisi aerob maupun anaerob, sehingga menghasilkan komponen dengan bau tidak sedap seperti hidrogen, sulfid, amina, indol, dan asam lemak. Bakteri ini juga dapat menghidrolisis urea menjadi karbonat (CO₃) dan amonia (NH₃), yang kemudian melepaskan amonia ke dalam lingkungan (Randan dkk, 2018).

4. Patogenitas *Proteus sp.*

Proteus sp. termasuk dalam kelompok kuman patogen yang dapat menyebabkan infeksi saluran kemih, serta berbagai kelainan bernanah seperti abses dan infeksi luka. Selain itu, *Proteus sp.* juga ditemukan sebagai penyebab diare pada anak-anak dan dapat menimbulkan infeksi lainnya pada manusia (Randan dkk, 2018).

5. Penularan Penyakit Oleh Bakteri *Proteus sp.*

Penyebaran penyakit yang disebabkan oleh *Proteus sp.* dapat terjadi melalui air sumur yang digunakan oleh penduduk untuk berbagai aktivitas, seperti mandi, mencuci, serta untuk keperluan makan dan minum. Kemungkinan adanya kontaminasi bakteri ini dalam air sumur dapat menyebabkan *Proteus sp.* masuk ke dalam tubuh, baik melalui saluran pencernaan maupun melalui luka, yang pada gilirannya dapat memicu infeksi pada saluran kemih dan menyebabkan diare (Randan dkk, 2018).

6. Pencegahan *Proteus sp.*

1. Memperhatikan kebersihan sarana umum terutama sumur yang digunakan sebagai sumber mata air untuk kehidupan sehari-hari.
2. Memperhatikan kebersihan diri, mencuci tangan setiap buang air.
3. Menjaga kebersihan makanan dan minuman, memasak air hingga benar benar matang agar terhindar dari infeksi bakteri.
4. Memperhatikan kebersihan luka yang sedang diderita agar bakteri *Proteus sp.* maupun bakteri yang lain tidak mudah menginfeksi tubuh.
5. Hindari terjadinya nosokomial infeksi melalui penggunaan kateter yang tidak steril.

B. Tinjauan Umum Tentang Daun Bandotan

1. Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.)

Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) merupakan salah satu tumbuhan yang banyak dimanfaatkan sebagai obat oleh masyarakat di Indonesia maupun di negara lain. Tumbuhan ini dapat tumbuh pada berbagai jenis tanah dan memiliki laju pertumbuhan yang sangat cepat. Di Indonesia, *Ageratum conyzoides* dikenal dengan berbagai nama lokal, antara lain badotan, rumput tahi babi (di Jambi), rumput Belanda (di Bengkulu), jukut bau dan ki bau (di Sunda), wedusan dan tempuyak (di Jawa), dus bedusan (di Madura), empedu tanah (di Kalimantan Tengah), mbora (di Kalimantan Timur), buyuk-buyuk (di Manado), tada-tada (di Sulawesi Tengah), siangur (di Batak Angkola Mandailing), serta sibaubau (di Batak Toba) (Nur Aisyah Harahap, 2022).

2. Klasifikasi Bandotan

Tumbuhan bandotan dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Ordo	: <i>Asterales</i>
Familia	: <i>Astreaceae</i>
Genus	: <i>Ageratum</i>
Spesies	: <i>Ageratum conyzoides</i> L. (Nur Aisyah Harahap, 2022)

3. Morfologi Tanaman Bandotan

Ageratum conyzoides L. tergolong sebagai tumbuhan terna semusim, yang tumbuh tegak dengan bagian bawah yang dapat berbaring, mencapai tinggi sekitar 30-50 cm dan bercabang. Batangnya berbentuk bulat, lunak, dan ditutupi oleh bulu halus. Daunnya berbentuk oval dengan warna hijau atau hijau kekuningan, sering kali dengan bintik kuning yang berwarna hijau. Panjang daun berkisar antara 2-10 cm dan lebar 0,5-5 cm, dengan tepi daun yang bergerigi serta dilengkapi dengan bulu-bulu putih halus di sekelilingnya. Tangkai daun berukuran sekitar 0,5-5 cm dan tumbuh secara

berselingan atau berhadapan. Bunga *Ageratum conyzoides* muncul dalam jumlah banyak dan berbentuk kecil-kecil, berkumpul dalam satu tabung, dengan variasi warna bunga yang mencakup ungu dan putih (Nur Aisyah Harahap, 2022).



Gambar 2. Bandotan (*Ageratum Conyzoides L.*)
(Sumber: Dokumentasi pribadi)

4. Kandungan Senyawa dan Manfaat Bandotan

Ageratum conyzoides L. memiliki rasa pahit dan pedas, dengan sifat netral. Daun tanaman bandotan mengandung berbagai senyawa bioaktif, termasuk glikosida, tanin, alkaloid, resin, saponin, flavonoid, terpen, polifenol, dan minyak atsiri. Selain itu, bagian akar tanaman ini juga mengandung senyawa fenolik dan terpenoid. Secara tradisional, tanaman bandotan telah banyak dimanfaatkan dalam pengobatan untuk mengatasi berbagai penyakit kulit, seperti bisul, pembengkakan, dan borok (Nur Aisyah Harahap, 2022).

Tanaman bandotan dapat dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional karena kandungan terpenoid, alkaloid, minyak atsiri, dan fenoliknya yang memiliki potensi sebagai antibakteri. Ekstrak tanaman ini mengandung senyawa metabolit sekunder, seperti minyak atsiri dan saponin, yang berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri (Nur Aisyah Harahap, 2022).

a. Alkaloid

Alkaloid adalah golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam tumbuhan, yang mengandung satu atau lebih atom

nitrogen dengan sifat basa, di mana sebagian besar atom nitrogen tersebut merupakan bagian dari cincin heterosiklik. Senyawa ini berfungsi sebagai amina dan memberikan berbagai efek farmakologis, fisiologis, serta psikologis. Alkaloid dapat ditemukan di berbagai bagian tumbuhan, termasuk biji, daun, ranting, dan kulit batang.

b. Triterpenoid

Lebih dari 4.000 jenis triterpenoid telah diisolasi, dengan lebih dari 40 jenis kerangka dasar yang telah dikenali, yang pada prinsipnya merupakan hasil siklisasi dari skualen. Triterpenoid terdiri dari kerangka yang mengandung tiga dan enam siklik yang terintegrasi dengan siklik lima, atau dapat berbentuk empat siklik dan enam siklik yang memiliki gugus fungsi pada posisi siklik tertentu.

c. Steroid

Steroid merupakan *triterpenoid* yang mengandung siklopentana perhidrofenantren yaitu 3 cincin sikloheksana dan sebuah cincin siklopentana. Steroid dapat ditemukan pada jaringan tumbuhan.

d. Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa fenol terbesar yang terdapat di alam. Senyawa ini berperan sebagai pigmen yang memberikan warna ungu, biru, dan sebagian warna kuning pada tumbuhan. Flavonoid memiliki struktur dasar yang terdiri dari 15 atom karbon, dengan dua cincin benzena (C₆) yang terikat pada rantai propana (C₃), sehingga membentuk konfigurasi C₆-C₃-C₆.

e. Tanin

Tanin adalah polifenol yang terdapat pada tumbuhan dan memiliki peran penting dalam pengikatan protein, pembentukan pigmen melalui interaksi dengan ion logam, serta sebagai senyawa antioksidan. Tanin memiliki rumus molekul C₇₅H₅₂O₄₆, dengan beberapa varian yang tidak berwarna dan ada pula yang berwarna kuning atau cokelat. Berdasarkan reaksi hidrolitik dan asal fenoliknya, tanin dibagi menjadi dua kelas utama. Kelas pertama adalah *tannin*

hydrolysable, yang mudah terurai oleh asam mineral atau enzim seperti tannase. Struktur kimianya meliputi asam galat, asam hexahidrodifenik, atau asam allagic. Kelas kedua adalah tannin terkondensasi, yang tidak larut dalam asam mineral dan enzim, sehingga disebut juga sebagai tannin non-hydrolysable..

f. Saponin

Saponin adalah glikosida dengan berat molekul tinggi yang ditandai oleh strukturnya yang mengandung inti steroid atau triterpenoid yang terikat dengan satu atau lebih rantai gula. Saponin memiliki spektrum luas dalam aktivitas biologis dan sering digunakan dalam pengobatan herbal. Beberapa jenis saponin menunjukkan sifat antibakteri, antifungal, dan kemampuan untuk meningkatkan sistem kekebalan tubuh.(Nur Aisyah Harahap, 2022).

5. Tumbuhan Gulma

Gulma adalah tumbuhan yang tumbuh di lokasi dan waktu yang tidak diinginkan oleh manusia. Keberadaan gulma di antara tanaman budidaya sangat beragam dalam hal jenis dan tingkat dominasinya. Jenis gulma dengan dominansi tinggi dapat menimbulkan kerugian yang signifikan, terutama dengan menurunkan hasil tanaman secara substansial. Keragaman gulma dipengaruhi oleh berbagai faktor, antara lain intensitas cahaya, ketersediaan unsur hara, metode pengolahan tanah, teknik budidaya tanaman, jarak atau kerapatan tanam, serta umur tanaman. Persebaran gulma bervariasi antara satu wilayah dengan wilayah lainnya, bergantung pada faktor-faktor tersebut. Oleh karena itu, identifikasi gulma dan pengenalan jenis-jenis gulma yang dominan menjadi langkah awal yang krusial dalam menentukan efektivitas strategi pengendalian gulma (Setiawan et al., 2022). Akan tetapi gulma juga memiliki berbagai manfaat salah satunya di gunakan sebagai tumbuhan obat. Beberapa tumbuhan gulma yang berpotensi sebagai obat diantaranya. Seperti tumbuhan pegagan (*Centella asiatica* L) memiliki manfaat antidiabetes, tumbuhan Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) bermanfaat sebagai antibakteri dan tumbuhan Urang aring (*Eclipta alba* L)

yang bermanfaat sebagai penumbuh rambut, antioksidan, antibakteri dan antikanker. Setiap gulma mengandung senyawa metabolit sekunder seperti *alkaloid, saponin, fitat, flavonoid, steroid, tanin triterpenoid, dan alkaloid*, yang berpotensi digunakan sebagai tumbuhan obat bagi masyarakat, guna menyembuhkan penyakit seperti demam, sakit pencernaan, sakit kepala, herpes dan luka terbuka (Rahmawati et al., 2022).

C. Tinjauan Khusus Tentang Aktivitas Antibakteri

1. Pengertian Aktifitas Antibakteri

Aktivitas antibakteri merujuk pada konsentrasi terkecil dari suatu agen antibakteri yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Antibakteri adalah senyawa yang digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri yang bersifat merugikan. Tujuan utama pengendalian mikroorganisme adalah untuk mencegah penyebaran penyakit dan infeksi, membasmi mikroorganisme yang menginfeksi inang, serta mencegah pembusukan dan kerusakan bahan yang disebabkan oleh aktivitas mikroorganisme (Sari, 2022).

2. Mekanisme Kerja Antibakteri

a. Menghambat sintesis dinding sel

Bakteri memiliki dinding sel yang kaku sebagai lapisan luar, yang berfungsi untuk mempertahankan bentuk dan ukuran mikroorganisme, serta melindungi bakteri dari tekanan osmotik internal yang tinggi. Kerusakan pada dinding sel, seperti yang dapat disebabkan oleh enzim lisozim, atau penghambatan pembentukan dinding sel, dapat menyebabkan terjadinya lisis sel, di mana sel bakteri pecah dan mati.

b. Menghambat fungsi membran sel

Sitoplasma pada semua sel hidup dilindungi oleh membran sitoplasma, yang berfungsi sebagai sawar dengan permeabilitas selektif. Membran ini berperan dalam proses transportasi aktif dan pengaturan komposisi internal sel. Jika integritas fungsional membran sitoplasma terganggu, makromolekul dan ion-ion akan keluar dari sel, yang pada akhirnya menyebabkan kerusakan atau kematian sel.

c. Menghambat sintesis protein

Untuk kelangsungan hidup mikroba, diperlukan sintesis protein yang esensial, yang dapat dihambat oleh agen-agen seperti eritromisin, linkomisin, tetrasiklin, glisilsiklin, aminoglikosida, dan kloramfenikol. Bakteri memiliki ribosom berukuran 70S yang terdiri dari dua subunit, yaitu subunit 30S dan 50S. Gangguan pada salah satu atau kedua subunit ribosom tersebut dapat menghambat proses sintesis protein, yang pada akhirnya mengganggu pertumbuhan dan kelangsungan hidup bakteri (Anggraini, 2021).

D. Tinjauan Umum Tentang Ekstraksi

1. Pengertian Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan komponen aktif yang diinginkan dari bahan mentah simplisia dengan menggunakan pelarut yang sesuai, di mana komponen tersebut dapat larut. Bahan mentah obat, yang berasal dari tumbuhan atau hewan, umumnya tidak memerlukan proses lanjutan selain pengumpulan dan pengeringan. Karena setiap bahan mentah obat mengandung sejumlah komponen yang dapat larut dalam pelarut tertentu, produk yang dihasilkan dari proses ini disebut sebagai ekstrak (Anggraini, 2021).

2. Metode Ekstraksi

Metode ekstraksi simplisia melibatkan penggunaan bahan alami yang belum mengalami pengolahan, kecuali dinyatakan lain, umumnya berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia ini digunakan sebagai bahan obat setelah melalui proses ekstraksi, di mana komponen aktifnya dipisahkan menggunakan pelarut yang sesuai. Simplisia dapat berasal dari tumbuhan, hewan, atau mineral yang memiliki potensi sebagai bahan baku dalam pembuatan obat. (Maressa, 2021).

3. Cara Dingin

a. Maserasi

Maserasi adalah proses ekstraksi simplisia dari bahan alam yang dilakukan dengan menggunakan pelarut yang sesuai, di mana bahan

tersebut mengalami beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu ruangan. Secara teknologi, metode ini termasuk dalam teknik ekstraksi yang mengedepankan prinsip pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik mengacu pada proses pengadukan yang berlangsung secara terus-menerus, sementara remaserasi merujuk pada proses pengulangan penambahan pelarut setelah penyaringan maserat pertama, dan seterusnya. Proses ini bertujuan untuk meningkatkan efisiensi ekstraksi komponen aktif dari bahan mentah.

b. Perkolasi

Perkolasi adalah proses ekstraksi yang menggunakan pelarut baru secara berulang hingga mencapai ekstraksi yang sempurna (exhaustive extraction). Umumnya, proses ini dilakukan pada suhu ruangan. Proses perkolasi dimulai dengan tahapan pengembangan bahan, diikuti dengan tahap meserasi antara, dan kemudian tahap perkolasi utama, yang meliputi peneteskan atau penambahan ekstrak. Proses ini dilanjutkan secara terus-menerus hingga diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya berkisar antara 1 hingga 5 kali dari jumlah bahan awal. Tujuan dari proses ini adalah untuk memastikan bahwa semua komponen aktif yang diinginkan dapat diekstraksi secara optimal dari bahan mentah.

4. Cara Panas

a. Reflux

Reflux adalah metode ekstraksi yang dilakukan dengan menggunakan pelarut pada suhu titik didihnya selama periode waktu tertentu, dengan jumlah pelarut yang terbatas dan relatif konstan, serta dilengkapi dengan sistem pendinginan balik. Metode ini umumnya melibatkan proses pengulangan pada residu pertama hingga 3 hingga 5 kali, sehingga dapat dianggap sebagai proses ekstraksi yang sempurna. Tujuan dari metode refluks adalah untuk meningkatkan efisiensi ekstraksi komponen aktif dari bahan mentah dengan memanfaatkan suhu tinggi dan kondisi yang terkontrol (Maressa, 2021).

b. Soxhlet

Metode Soxhlet adalah teknik ekstraksi yang menggunakan pelarut baru secara berulang, umumnya dilakukan dengan alat khusus yang dirancang untuk menghasilkan proses ekstraksi yang terus-menerus (*continuous extraction*). Dalam metode ini, jumlah pelarut yang digunakan relatif konstan, dan sistem dilengkapi dengan pendinginan balik untuk mencegah kehilangan pelarut akibat penguapan. Teknik Soxhlet memungkinkan ekstraksi yang efisien dari komponen aktif dalam bahan mentah dengan memanfaatkan sifat pelarut yang terus-menerus dialirkan melalui bahan yang diekstraksi, sehingga meningkatkan hasil ekstraksi.

c. Digesti

Digesti adalah metode maserasi kinetik yang melibatkan pengadukan terus-menerus pada suhu yang lebih tinggi daripada suhu ruangan, biasanya berkisar antara 40°C hingga 50°C. Metode ini bertujuan untuk meningkatkan efisiensi ekstraksi komponen aktif dari bahan mentah dengan memanfaatkan suhu yang lebih tinggi untuk mempercepat proses pelarutan (Maressa, 2021).

d. Dekok

Dekok adalah metode ekstraksi yang mirip dengan infus, namun dilakukan dengan waktu yang lebih lama, biasanya selama 30 menit atau lebih. Pada metode ini, suhu yang digunakan mencapai titik didih air, berkisar antara 90°C hingga 100°C. Proses dekok efektif dalam mengekstrak senyawa-senyawa aktif dari bahan mentah yang lebih keras atau sulit larut, sehingga memungkinkan pemanfaatan komponen bioaktif yang terkandung di dalamnya secara optimal. Metode ini sering digunakan untuk mengekstrak bahan-bahan seperti akar, kulit, atau bagian tanaman yang lebih keras. (Maressa, 2021).

5. Jenis Jenis Pengeringan

Pengeringan merupakan salah satu metode untuk mengawetkan bahan nabati dengan cara mengurangi kadar air yang terkandung pada bahan

(Handoyo & Pranoto, 2020). jenis pengeringan dapat dilakukan sebagai berikut:

1. Pengeringan matahari

Pengeringan dengan sinar matahari dilakukan dengan menjemur daun di bawah sinar matahari. Metode ini menawarkan keuntungan dari segi biaya produksi yang rendah dan waktu pengeringan yang relatif singkat. Namun, paparan sinar matahari, terutama sinar ultraviolet, dapat menyebabkan degradasi senyawa fitokimia yang terkandung dalam simplisia. Beberapa contoh bahan yang biasanya dikeringkan dengan metode ini antara lain ikan asin dan kerupuk. Meskipun efektif, perlu diperhatikan bahwa kualitas nutrisi dan kandungan aktif dalam bahan dapat terpengaruh oleh proses pengeringan ini (Ariani dkk, 2022).

2. Pengeringan kering angin

Metode pengeringan yang dilakukan di tempat teduh dan tidak terkena sinar matahari secara langsung dikenal sebagai pengeringan kering angin. Metode ini khususnya digunakan untuk bahan-bahan yang memiliki senyawa mudah menguap. Meskipun dianggap murah dan ramah lingkungan, pengeringan kering angin memiliki kelemahan dalam hal efisiensi, karena proses ini memerlukan waktu yang cukup lama untuk mengeringkan simplisia. Akibatnya, kelembapan yang tinggi dan kondisi lingkungan dapat memengaruhi kualitas akhir dari bahan yang dikeringkan (Hu da 2019).

3. Pengeringan oven

Pengeringan dilakukan pada suhu 50°C selama 150 menit menggunakan oven. Metode pengeringan ini dianggap lebih menguntungkan karena dapat mengurangi kadar air dalam jumlah besar dalam waktu yang singkat. Namun, penggunaan suhu yang terlalu tinggi dapat meningkatkan biaya produksi dan mengakibatkan perubahan biokimia yang merugikan, sehingga dapat mengurangi kualitas produk yang dihasilkan. Oleh karena itu, penting untuk

mengatur suhu dan waktu pengeringan secara tepat agar kualitas produk tetap terjaga (Pangestu, 2019).

4. Pengeringan rumah kaca

Metode pengeringan ini dilakukan dengan menggunakan alat yang menyerupai ruangan yang dirancang untuk menyimpan panas matahari. Sinar matahari diserap oleh bahan pembentuk pengering yang memanfaatkan efek rumah kaca untuk mengumpulkan panas dan menaikkan suhu di dalam ruangan pengering. Namun, penggunaan efek rumah kaca tidak akan optimal jika tidak dapat mengendalikan sinar matahari atau energi panas yang masuk. Hal ini disebabkan oleh fakta bahwa energi panas matahari hanya tersedia pada siang hari dan sangat bergantung pada kondisi cuaca yang dapat berfluktuasi. Oleh karena itu, pemilihan lokasi dan desain alat pengering sangat penting untuk memastikan efisiensi proses pengeringan (Pramudita, 2020).

E. Tinjauan Umum Tentang Uji Daya Hambat Antibakteri

1. Pengertian Uji Daya Hambat

Uji daya hambat dalam penelitian ilmiah adalah suatu metode yang digunakan untuk menguji kemampuan suatu zat atau senyawa dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme seperti bakteri atau jamur secara *in vitro*. Pada umumnya, uji daya hambat dalam penelitian ilmiah dilakukan dengan menguji suatu zat atau senyawa terhadap kultur bakteri atau jamur secara *in vitro* untuk mengetahui kemampuan zat atau senyawa tersebut dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Uji daya hambat dapat dilakukan dengan menggunakan berbagai zat atau senyawa, seperti ekstrak tumbuhan, senyawa kimia, atau antibiotik (Fatimah, 2022).

2. Metode Pengujian

Uji daya hambat suatu antibakteri diperoleh dari suatu sistem yang efektif dan efisien. Pengujian terhadap aktifitas antibakteri dapat uji dengan menggunakan metode dilusi dan difusi:

a. Metode Difusi

Metode difusi merupakan teknik yang digunakan untuk mengevaluasi sensitivitas mikroba terhadap agen antimikroba, baik yang larut maupun tidak larut. Metode ini berlandaskan prinsip difusi zat antimikroba dalam media padat, seperti agar, dan dilakukan dengan cara mengamati zona hambat yang terbentuk di sekitar agen antimikroba tersebut. Dengan pengamatan terhadap daerah pertumbuhan mikroorganisme, dapat ditentukan efektivitas agen antimikroba dalam menghambat pertumbuhan mikroba uji.

Metode difusi merupakan suatu teknik yang digunakan untuk mengukur dan mengamati diameter zona bening yang terbentuk di sekitar cakram. Pengukuran dilakukan setelah sampel didiamkan selama 18-24 jam dan diameter zona bening diukur menggunakan jangka sorong. Metode difusi ini dapat dibagi menjadi beberapa jenis, yaitu metode sumuran, metode difusi dengan sliner/cakram, dan metode parit (Fitriana et al., 2020).

b. Metode *Kirby Bauer*

Metode Kirby-Bauer, atau yang dikenal sebagai metode difusi cakram (disk diffusion method), adalah teknik yang digunakan untuk mengukur diameter zona bening yang menunjukkan respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh senyawa antibiotik. Metode ini merupakan salah satu yang paling umum digunakan untuk menentukan sensitivitas antibakteri terhadap suatu antibiotik. Dalam metode ini, digunakan cakram kertas saring (paper disk) yang berfungsi sebagai wadah untuk zat antimikroba. Cakram tersebut diletakkan pada lempeng agar yang telah diinokulasi dengan mikroba uji, kemudian diinkubasi pada kondisi waktu dan suhu yang sesuai dengan kondisi optimum mikroba tersebut. Hasil yang diperoleh umumnya dapat diamati setelah inkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Pengamatan dilakukan dengan mencermati adanya atau tidaknya

daerah bening yang terbentuk di sekitar cakram, yang menunjukkan adanya zona hambat pada pertumbuhan bakteri.

1) Kelebihan dari metode *disc diffusion*

Jumlah zat uji yang di gunakan dapat di atur, dapat dilakukan lebih banyak pengujian dalam satu kali kegiatan, lebih cepat, mudah dan murah karena tidak menggunakan alat khusus.

2) Kelemahan dari Metode *disc diffusion*

Yaitu ukuran zona bening yang terbentuk sangat tergantung dari kondisi inkubasi inoculum predifusi dan preinkunasi serta ketebalan medium (Wulaindi, 2022).

c. Metode E-test

Metode ini dilakukan dengan menggunakan strip plastik yang mengandung agen antimikroba dengan konsentrasi yang bervariasi, mulai dari kadar terendah hingga tertinggi. Strip tersebut diletakkan pada permukaan media agar yang telah diinokulasi dengan mikroorganisme. Tes ini bertujuan untuk mengestimasi Minimum Inhibitory Concentration (MIC), yaitu konsentrasi minimum suatu agen antimikroba yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Pengamatan terhadap zona bening yang terbentuk akan menunjukkan konsentrasi agen antimikroba yang efektif dalam menghambat dan mencegah pertumbuhan mikroorganisme pada media agar.

d. Metode *Ditch-Plate*

Pada metode ini, sampel uji berupa agen antimikroba ditempatkan di dalam parit yang dibuat dengan mengiris media agar secara membujur di tengah cawan petri sepanjang 15 cm. Mikroba uji, yang dapat terdiri dari maksimum enam jenis, kemudian digoreskan secara merata ke arah parit yang berisi agen antimikroba.

e. Metode *Well diffusion* (sumuran)

Metode *Well diffusion* ini dilakukan dengan membuat lubang atau sumuran pada media agar yang telah diinokulasi mikroorganisme dan

pada lubang tersebut diberi agen antimikroba yang akan diuji. Bila terbentuk zona bening, maka ini menunjukkan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba yang digunakan pada permukaan media.

Metode difusi sumuran dilakukan dengan membuat lubang secara tegak lurus pada media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri uji. Jumlah dan lokasi lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian setiap lubang diisi dengan sampel yang akan diuji. Media yang telah diberi perlakuan tersebut diinkubasi pada suhu dan durasi yang telah ditentukan. Setelah inkubasi selesai, dilakukan pengamatan terhadap pertumbuhan bakteri untuk menilai ada atau tidaknya zona hambatan di sekitar lubang yang menunjukkan aktivitas antibakteri (Nurhayati dkk, 2020).

Metode difusi sumuran memiliki kelebihan dalam hal kemudahan pengukuran luas zona hambatan yang terbentuk, karena bakteri dapat beraktivitas tidak hanya di permukaan atas media, tetapi juga hingga ke bawah permukaan media. Namun, metode ini memiliki beberapa kekurangan, antara lain pada proses pembuatan sumuran yang dapat menghadapi berbagai kesulitan, seperti adanya sisa-sisa agar pada media yang digunakan untuk membuat sumuran. Selain itu, terdapat kemungkinan media agar mengalami retakan atau pecah di sekitar lokasi sumuran, yang dapat mengganggu proses peresapan antibiotik ke dalam media dan mempengaruhi terbentuknya diameter zona bening saat melakukan uji sensitivitas (Nurhayati dkk, 2020).

f. Metode Dilusi

Metode dilusi merupakan teknik yang digunakan untuk menilai potensi agen antimikroba terhadap mikroorganisme dengan cara menentukan Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM). Metode ini terbagi menjadi dua jenis, yaitu dilusi cair dan dilusi padat. Dilusi cair diterapkan untuk mengukur KHM, sedangkan dilusi padat digunakan untuk mengukur KBM. Pada

metode dilusi cair, dilakukan pengenceran serial agen antimikroba dalam media cair yang kemudian ditambahkan mikroorganisme uji. Sementara itu, pada metode dilusi padat, mikroorganisme uji diinokulasi pada media agar yang telah mengandung agen antimikroba. Salah satu keunggulan metode dilusi adalah kemampuannya untuk menggunakan satu konsentrasi agen antimikroba guna menguji beberapa jenis mikroorganisme uji secara bersamaan (Fitriana dkk, 2020).

3. Media Pertumbuhan

Media adalah bahan yang digunakan untuk menumbuhkan dan memperbanyak mikroorganisme, termasuk bakteri. Penggunaan media memiliki peranan penting dalam bidang mikrobiologi, antara lain untuk isolasi, perhitungan jumlah mikroba, dan pengujian sifat-sifat fisik mikroorganisme yang diperlukan untuk proses identifikasi. Media pemeriksaan mikrobiologi harus mengandung nutrisi yang baik dan sesuai dengan kebutuhan mikroorganisme agar pertumbuhan dan perkembangannya dapat berlangsung secara optimal. Nutrisi yang dibutuhkan mikroorganisme untuk pertumbuhan meliputi karbon, nitrogen, unsur non-logam seperti sulfur dan fosfor, serta unsur logam seperti kalsium (Ca), zinc (Zn), natrium (Na), kalium (K), tembaga (Cu), mangan (Mn), magnesium (Mg), dan besi (Fe), serta vitamin, air, dan sumber energi (Susanti., dkk 2022).

Media Mueller-Hinton Agar (MHA) mengandung pati yang berfungsi menyerap racun yang dikeluarkan oleh bakteri, sehingga tidak mengganggu aktivitas antibiotik. Media MHA direkomendasikan oleh Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) sebagai media yang digunakan untuk uji kepekaan bakteri terhadap antibiotik, karena MHA menunjukkan hasil reproduktif yang baik. Media ini memiliki kadar sulfonamid dan trimetoprim yang rendah serta inhibitor tetrasiklin, dan mampu mendukung pertumbuhan bakteri yang sulit tumbuh. Selain itu, terdapat banyak data penelitian yang telah dikumpulkan mengenai uji kepekaan menggunakan media MHA (Nofita, A. D., 2020).

4. Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Pertumbuhan Bakteri

a) Nutrien

Nutrien atau zat makanan yang diperlukan untuk pertumbuhan bakteri harus mengandung sumber karbon, sumber nitrogen, mineral (seperti sulfur dan fosfat), serta faktor-faktor pertumbuhan yang mencakup asam amino, purin, pirimidin, dan vitamin. Persyaratan untuk pertumbuhan bakteri bervariasi tergantung pada jenis bakteri tersebut. Beberapa bakteri mampu berkembang biak dengan berbagai jenis nutrisi, sementara yang lain memiliki kekhususan dan hanya memerlukan jenis nutrisi tertentu untuk pertumbuhannya.

b) Suhu

Suhu optimal untuk pertumbuhan bakteri bervariasi tergantung pada jenis bakteri yang bersangkutan. Pada suhu yang tepat (optimal), sel-sel bakteri dapat berkembang biak dan tumbuh dengan sangat cepat. Sebaliknya, pada suhu yang lebih rendah atau lebih tinggi, bakteri masih dapat berkembang biak, namun dalam jumlah yang lebih sedikit dan dengan kecepatan yang tidak sebanding dengan pertumbuhan pada suhu optimal.

c) Kelembaban

Kelembaban merupakan faktor penting dalam mendukung pertumbuhan bakteri, di mana sebagian besar bakteri memerlukan kelembaban yang tinggi untuk berkembang dengan optimal. Umumnya, tingkat kelembaban di atas 85% diperlukan untuk mendukung pertumbuhan bakteri yang baik. Udara yang sangat kering dapat menghambat atau bahkan membunuh bakteri, namun tidak ada nilai pasti untuk kadar kelembaban minimum yang diperlukan bagi pertumbuhan bakteri. Selain itu, yang lebih mempengaruhi pertumbuhan bakteri adalah kandungan air yang tersedia secara biologis, bukan total kelembaban di lingkungan tersebut.

d) Pencahayaan

Cahaya matahari memiliki pengaruh signifikan terhadap pertumbuhan bakteri, di mana sebagian besar bakteri cenderung tumbuh lebih baik dalam kondisi gelap. Paparan sinar matahari, terutama radiasi ultraviolet (UV), dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan merusak struktur DNA serta komponen seluler lainnya. Oleh karena itu, kondisi gelap lebih mendukung pertumbuhan bakteri, karena mereka dapat menghindari efek merusak dari sinar matahari langsung.

e) Oksigen

Kebutuhan oksigen pada bakteri tertentu mencerminkan mekanisme yang digunakan untuk memenuhi kebutuhan energinya.

f) Konsentrasi ion hydrogen (pH)

pH media pembenihan juga memengaruhi pertumbuhan mikroorganisme; sebagian besar patogen memiliki pH optimal antara 7,2 hingga 7,6. Meskipun kondisi awal pembenihan mungkin menguntungkan bagi pertumbuhan mikroorganisme, pertumbuhan selanjutnya dapat terhambat akibat produk metabolisme mikroorganisme itu sendiri. Hal ini terutama terjadi pada mikroorganisme yang bersifat fermentatif, yang menghasilkan sejumlah besar asam organik yang dapat bersifat inhibitif (Fitri nur, 2019).

5. Kriteria Zona Hambat

Berdasarkan standart *Clinical Laboratory Standart Institute* (CLSI, 2021). Kriteria zona hambat *Chloramphenicol* dikelompokan sebagai berikut:

Tabel 1. Diameter zona hambat

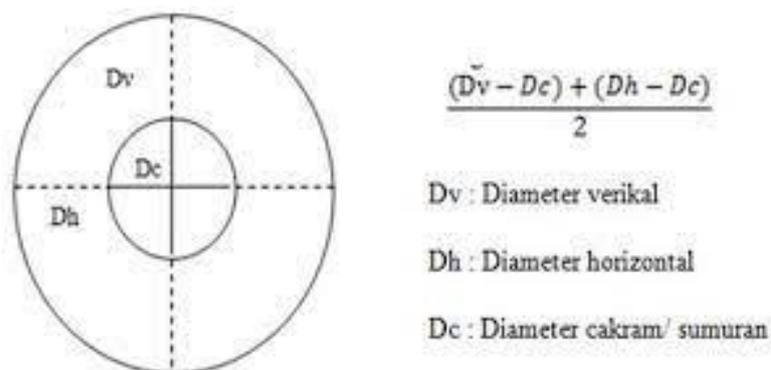
Kriteria	Diameter Zona Hambat
Resisten	≤ 12 mm
Intermediet	13-17 mm
Sensitif	≥ 18 mm

No	Jenis Tanaman	Bakteri	Konsentrasi	Zona Hambat (mm)	Referensi
1.	Lidah buaya (<i>Aloe vera</i>)	<i>Proteus</i> <i>sp.</i>	250 gr/ml 300gr/ml 350 gr/ml	3,33 mm 16,33 mm. 19,33 mm	(Randan D, 2018)
2.	Daun Binahong (<i>Anredera</i> <i>cordifolia</i> (Ten.) <i>Steenis.</i>)	<i>Proteus</i> <i>mirabili</i> <i>s</i>	20% 40% 60% 80%	3,00 mm 4,00 mm 6,00 mm 8,00 mm	(Nur Patria Tjahjani, 2022)
3.	Daun Mangkokan (<i>Polyscias</i> <i>scutellaria</i> (Burm.f.) <i>Fosberg.</i>)	<i>Proteus</i> <i>vulagar</i> <i>is</i>	20% 40% 60% 80%	7 mm 8,2 mm 8,4 mm 11,4 mm	(Roslianiz ar et al., 2022).

Tabel 2. Perbandingan Zona Hambat Pada Bakteri *Proteus* sp.

6. Pengukuran Zona Hambat

Diameter zona bening diukur menggunakan jangka sorong dengan satuan mm. Metode pengukuran dilakukan menggunakan rumus berikut:

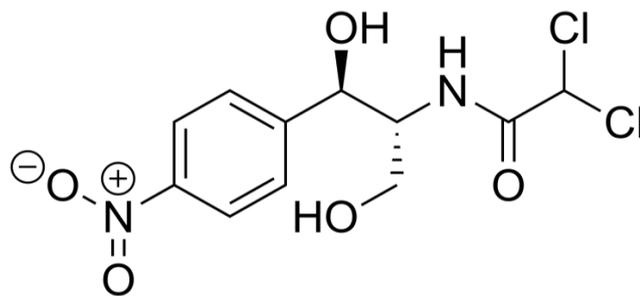


Gambar 3. Diameter Zona Hambat

Sumber: (Dinar Maulani, 2022)

F. Tinjauan Umum Tentang Antibiotik

Antibiotik merupakan senyawa kimia yang dihasilkan oleh fungi atau dapat disintesis secara kimia, yang memiliki kemampuan untuk membunuh atau menghambat perkembangan bakteri serta organisme lain, dengan tingkat toksisitas yang relatif rendah pada manusia. Obat yang digunakan untuk mengendalikan mikroba harus memiliki sifat toksisitas selektif yang tinggi, di mana senyawa tersebut harus sangat toksik bagi mikroba, tetapi relatif tidak beracun bagi inang (Nufus, 2019). Dalam penelitian ini, antibiotik Chloramphenicol digunakan sebagai kontrol positif terhadap pertumbuhan bakteri *Proteus sp*, dan interpretasi zona hambat dari *Chloramphenicol* akan dianalisis (Rahayuningsih, dkk 2023).



Gambar 4. Struktur kimia Chloramphenicol

(Sumber: Daisi., 2019)