

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

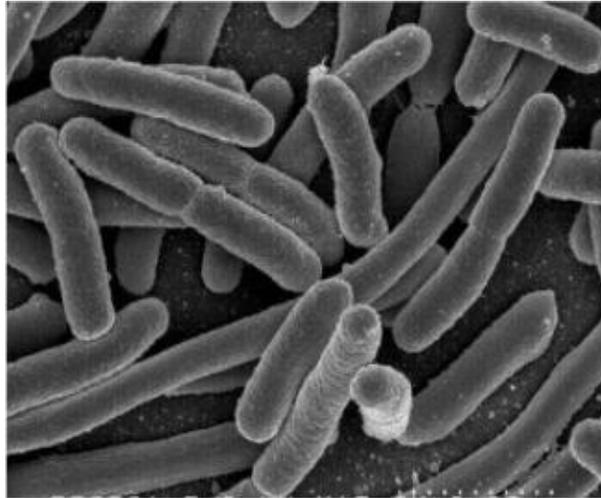
2.1 Bakteri *Escherichia coli*

2.1.1 Morfologi dan Klasifikasi *Escherichia coli*

Bakteri *E. coli* ditemukan pada tahun 1885 oleh Theodor Escherich dan diberi nama sesuai dengan nama penemunya. *E. coli* merupakan bakteri berbentuk batang dengan panjang sekitar 2 micrometer dan diameter 0.5 micrometer. Volume sel *E. coli* berkisar 0.6-0.7 m³. Bakteri ini dapat hidup pada rentang suhu 20-40 0C dengan suhu optimumnya pada 370 C dan tergolong bakteri gram negatif.

Taksonomi bakteri *Escherichia coli* :

Domain : Bacteria
Kingdom : Eubacteria
Phylum : Proteobacteria
Class : Gammaproteobacteria
Order : Enterobacteriales
Family : Enterobacteriaceae
Genus : Escherichia
Species : Escherichia coli



Gambar 1 Klasifikasi dan morfologi bakteri *E. coli* (Escherich, 1885).

Pada umumnya, bakteri ini dapat ditemukan dalam usus besar manusia. Kebanyakan *E. Coli* tidak berbahaya, tetapi beberapa seperti *E. Coli* tipe O157:H7 dapat mengakibatkan keracunan makanan yang serius pada manusia yaitu diare berdarah karena eksotoksin yang dihasilkan bernama verotoksin. Toksin ini bekerja dengan cara menghilangkan satu basa adenin dari unit 28S rRNA (Zhu et al., 1994) sehingga menghentikan sintesis protein. Sumber bakteri ini contohnya adalah daging yang belum masak, seperti daging hamburger yang belum matang.

2.1.2 Manfaat *Escherichia coli*

Dari sekian ratus strain *E. coli* yang teridentifikasi, hanya sebagian kecil bersifat patogen, misalnya strain O157:H7. Hampir semua rekayasa genetika di dunia bioteknologi selalu melibatkan *E. coli* karena struktur genetiknya yang sederhana dan mudah untuk direkayasa. Riset *E. coli* menjadi model untuk aplikasi ke bakteri jenis lainnya. Bakteri ini juga merupakan media kloning yang paling sering dipakai. Teknik rekombinasi DNA tidak akan ada tanpa bantuan bakteri ini (Olivier et al., 2010).

Bakteri *E. coli* yang berada di dalam usus besar manusia berfungsi untuk menekan pertumbuhan bakteri jahat, dan berperan sebagai mikrobiota usus yang membantu proses pencernaan termasuk pembusukan sisa-sisa makanan dalam usus besar. Selain itu, bakteri ini juga membantu produksi vitamin K.

Vitamin K berfungsi untuk pembekuan darah saat terjadi perdarahan seperti pada luka/mimisan. (Pourbakhsh et al., 1997). Bakteri *E. coli* banyak digunakan dalam teknologi rekayasa genetika. Penggunaannya adalah sebagai vektor untuk menyisipkan gen-gen tertentu yang diinginkan untuk dikembangkan. *E. coli* dipilih karena pertumbuhannya sangat cepat dan mudah dalam penanganannya (Fournout et al., 2000). Oleh sebab itu, negara-negara di Eropa sekarang sangat mewaspadai penyebaran bakteri *E. coli* ini, dan bahkan melarang mengimpor sayuran dari luar karena dikhawatirkan dapat disalahgunakan dan menyebabkan kematian. Kebutuhan nutrisi *E. coli* tidak jauh berbeda dengan nutrisi manusia, yaitu gula, protein, dan lemak. *E. coli* memiliki kemampuan lebih karena dapat mencerna asam organik (asetat) dan garam anorganik (amonium sulfat) sebagai sumber nutrisi karbon dan nitrogen. Bakteri ini tidak mampu mengkonsumsi karbohidrat rantai panjang dan juga tidak dapat melakukan fotosintesis. Bakteri *E. coli* juga merupakan makhluk heterotrof yang tergantung pada molekul-molekul organik sederhana seperti gula, protein, dan asam organik. Dengan demikian, apabila *E. coli* bertahan hidup di tanah, maka diperlukan adanya molekul-molekul tersebut yang kemungkinan dihasilkan oleh mikroorganisme lain dalam tanah.



Gambar 2 koloni *E. Coli*

Sumber : Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung, 2013

2.1.3 Bahaya *Escherichia coli*

Bakteri *E. coli* dalam jumlah yang berlebihan dapat mengakibatkan diare, dan bila bakteri ini menjalar ke sistem/organ tubuh yang lain, maka akan dapat menyebabkan infeksi. Jika bakteri *E. coli* sampai masuk ke saluran kencing maka dapat mengakibatkan infeksi pada saluran kemih/kencing (ISK). Zhu et al., 1994). Jenis berbahaya, *E. coli* tipe O157:H7 ini dapat bertahan hidup pada suhu yang sangat rendah dan asam. Salah satu contoh kasus adalah bakteri *E. coli* yang pernah mewabah di Jerman tahun 2013- 2014, belum diketahui jenisnya, namun diduga adalah tipe O157:H7. Selain di usus besar bakteri ini banyak terdapat di alam (Kaper et al., 2004), sehingga memasak makanan hingga matang dan menjaga kebersihan merupakan upaya pencegahan dampak buruk dari *E. coli*.

2.2 Daun Pepaya (*Carica Papaya L.*)

2.2.1 Definisi Daun Pepaya (*Carica Papaya L.*)

Tanaman pepaya (*Carica papaya L*) ini merupakan tanaman yang berasal dari Amerika dan diperkenalkan sebagai tanaman perkebunan di Australia, Hawaii, Filipina, Sri lanka, Afrika Selatan, India, dan di semua

wilayah tropis dan subtropis (Krishna.,dkk 2008). Tanaman pepaya berbuah sepanjang tahun dan mulia berubah pada umur 6-7 bulan. Tanaman pepaya terbesar hampir seluruh indonesia dan tumbuh pada ketinggian 1000 mdpl. Tumbuhan paling baik pada ketinggian 100 mdpl. Tumbuh didaratan yang tidak keras dan bersuhu tidak terlalu dingin, hidup tidak lebih dari delapan tahun, di tempat terbuka dan mendapat penyinaran matahari dengan suhu antara 15-35 C° (BPOM RI, 2012)



Gambar 3 Daun Pepaya

Sumber : Wikipedia bahasa Indonesia, ensiklopedia bebas

25 mar 2021, 10:45

2.2.2 Klasifikasi Daun Pepaya (*Carica Papaya L.*)

Klasifikasi Daun Pepaya (*Carica Papaya L.*) menurut (Rhukmana, 1995) adalah sebagai berikut :

Regnum	:	Plantae
Division	:	Spermatophyta
Subdivisio	:	Angiospermae
Classis	:	Dicotiledoneae
Subkelas	:	Sympetalae
Ordo	:	Caricales
Familia	:	Caricaceae

Genus : Carica
Species : *Carica Papaya L.*

2.2.3 Morfologi

Carica Papaya L. merupakan tumbuhan dikotil yang struktur daunnya tersusun atas jaringan epidermis, jaringan parenkim, dan jaringan pengangkut. Secara anatomi, struktur daun pepaya yakni, tangkai daun yang berbentuk bulat berongga, daunnya bentuknya bulat telur (*ovatus*), ujung runcing (*acutus*), pangkal berbentuk jantung (*cordatus*), merupakan daun tunggal (*folium simplex*), susunan tulang daun menjari (*palminervis*), tepi daun berlekuk menjari tidak beraturan, tangkai daun bulat silindris, berongga, panjang 25-100 cm, permukaan helaian daun licin (*leavis*), warna permukaan daun bagian atas hijau tua, sedangkan bagian bawahnya hijau muda atau hijau keputih-putihan. Letak helaian daun tersebar (*folia sparsa*), kadang-kadang terletak berhadapan, pada tiap 3 lingkaran batang terdapat 8 daun, dan merupakan daun majemuk (Anonim, 2009).

Pada daun pepaya terkandung alkaloid, dehidrokarpain, pesedokarpain, flavonol, benzilglukosinolat, papain dan tannin. Sumber papain adalah getah tanaman pepaya baik yang berada di daun, batang, maupun buah. Namun secara praktis, getah dari buah lebih mudah dipanen. Papain murni biasanya berbentuk kristal kasar, berwarna putih sampai coklat muda dan bersifat agak higroskopis. Papain hasil pemurnian mudah larut dalam air, gliserin, dan larutan alkoholik berkonsentrasi rendah, tetapi tidak larut dalam klorofom dan eter (Suhartono, 1992). 100 gram daun mengandung 74 kalori, 77.5 g H₂O, 7 g protein, 2 g lemak, 11.3 g karbohidrat total, 1.8 g serat, 2.2 g abu, 344 mg kalsium, 142 mg fosfor, 0.8 mg besi, 18 g natrium, 652 mg kalium, 11.565 µg beta karoten, 0.09 mg thiamin, 0.48 mg riboflavin, 2.1 mg niasin, 140 mg asam askorbat dan 136 mg vitamin E (Duke, 1983). Serta jus daun pepaya memiliki senyawa karpain yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme seperti :

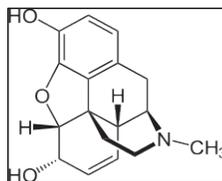
jamur, cacing, dan dapat menghambat pertumbuhan bakteri serta berbagai bentuk sel kanker. Banyaknya kandungan nutrisi serta vitamin pada daun pepaya membuktikan bahwa daun ini kaya manfaat.

2.3 Kandungan dalam Daun Pepaya (*Carica Papaya L.*)

Kandungan metabolit sekunder dari daun pepaya adalah flavonoid (Nugroho, dkk., 2017; Maisarah, dkk., 2013), alkaloid (Julianti, dkk., 2014), fenolik (Maisarah, dkk., 2013), terpenoid (Ayoola, dkk., 2008), serta saponin (Ayoola, dkk., 2008; Ayoola dan Adeyeye, 2010).

1. Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa organik siklik yang mengandung nitrogen dengan bilangan oksidasi negatif yang penyebarannya terbatas pada makhluk hidup. Alkaloid juga merupakan golongan zat metabolit sekunder yang terbesar, yang pada saat ini telah diketahui 5500 buah. Alkaloid pada umumnya mempunyai keaktifan fisiologi yang menonjol sehingga alkaloid sering dimanfaatkan untuk pengobatan. Penggolongan alkaloid dilakukan berdasarkan system cincinnya, misalnya piridina, piperidina, indol, isokunolina, dan tropana. Meskalina dan efedrina merupakan golongan alkaloid yang nitrogennya terdapat dalam struktur alifatik. Alkaloid menunjukkan pita serapan di daerah spectrum UV panjang gelombang maksimal 250-303 nm). Senyawa ini biasanya terdapat dalam tumbuhan sebagai garam berbagai senyawa organik dan sering ditangani di laboratorium sebagai garam dengan asam hidroklorida dan asam sulfat.



Gambar 4 Struktur Alkaloid

Sumber : Wikipedia bahasa Indonesia, ensiklopedia bebas
25 maret 2021, 10:20

2. Tannin

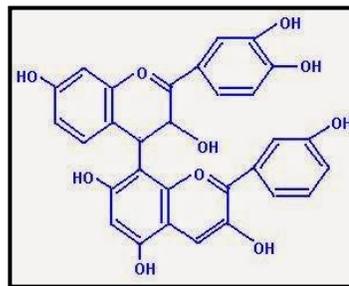
Tanin merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman dan disintesis oleh tanaman. Tanin merupakan senyawa yang mempunyai berat molekul 500-3000 dan mengandung sejumlah besar gugus hidroksi fenolik yang memungkinkan membentuk ikatan silang yang efektif dengan protein dan molekul-molekul lain seperti polisakarida, asam amino, asam lemak dan asam nukleat (Hidayah, 2016).

Tanin dibagi menjadi dua kelompok yaitu tanin yang mudah terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin yang mudah terhidrolisis merupakan polimer gallik dan ellagic acid yang berikatan ester dengan sebuah molekul gula, sedangkan tanin terkondensasi merupakan polimer senyawa flavonoid dengan ikatan karbon-karbon berupa catechin dan gallo catechin (Patra, Min and Saxena, 2012).

Tanin yang berasal dari hijauan (leguminosa) umumnya membentuk tanin terkondensasi dan mempunyai ikatan kompleks dengan protein yang lebih kuat dibandingkan dengan tanin terhidrolisis.

Tanin dapat berinteraksi dengan protein dan ada tiga bentuk ikatan yaitu: ikatan hidrogen, ikatan ion, ikatan kovalen. Tanin terhidrolisis dan terkondensasi berikatan dengan protein dengan membentuk ikatan hidrogen antara kelompok fenol dari tanin dan kelompok karboksil (aromatik dan alifatik) dari protein. Ikatan kuat antara tanin dan protein akan berpengaruh terhadap pencernaan protein (Hidayah, 2016).

Tanin merupakan senyawa fenol bekerja dengan cara menghambat pertumbuhan bakteri dengan mengadakan denaturasi protein dan menurunkan tegangan permukaan, sehingga permeabilitas bakteri meningkat. Kerusakan dan peningkatan permeabilitas sel bakteri menyebabkan pertumbuhan sel terhambat dan akhirnya dapat menyebabkan kematian sel (Ergina, Nuryanti and Pursitasari, 2014).



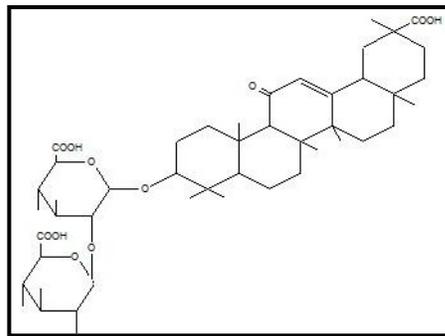
Gambar 5 Struktur Tannin

Sumber : Mahasiswa Farmasi Bicara 25 maret 2021, 10:23

3. Saponin

Saponin berasal dari bahasa latin, *sapo* yang berate sabun, merupakan senyawa aktif permukaan yang kuat dan menimbulkan busa jika dikocok dalam air. Saponin larut dalam air dan alcohol tapi tidak dalam eter (Burrel, *ett al* 1934). Saponin ada pada seluruh tanaman dengan konsentrasi tinggi pada bagian-bagian tertentu dan dipengaruhi oleh varietas tanaman dan pertumbuhan. Saponin merupakan metabolit sekunder dan merupakan kelompok glikosida triterpenoid atau steroid aglikon, terdiri dari satu atau lebih gugus gula yang berikatan dengan

aglikon atau sapogenin, dapat membentuk Kristal berwarna kuning dan amorf, serta berbau menyengat. Rasa saponin sangat ekstrim, dari sangat pahit hingga manis. Saponin biasa dikenal sebagai senyawa *nonvolatile* dan sangat larut dalam air (dingin maupun panas) dan alkohol, namun membentuk busa koloidal dalam air dan memiliki sifat detergen yang baik. Senyawa ini memiliki pita serapan pada daerah spectrum UV (λ maksimal 200-350 nm).



Gambar 6 Struktur Saponin

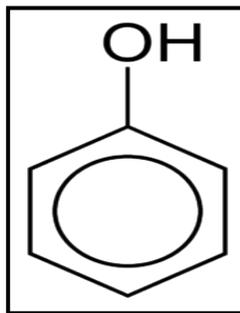
Sumber : Chemistry blogger 25 maret 2021, 10:16

4. Fenol

Senyawa fenol merupakan senyawa yang memiliki gugus hidroksil yang menempel pada cincin aromatik. Senyawa fenol memiliki titik leleh rendah dan bau khas yang sedikit menyengat. Selain itu, juga mudah larut dalam sebagian besar pelarut organik (hidrokarbon aromatic, alcohol, dan keton) agak kurang larut dalam Hidrokarbon alifatik. Fenol membentuk campuran azeotropik dengan air dan zat lainnya. Senyawa fenol memiliki beberapa nama lain seperti asam karbolik, fenat monohidroksibenzena, asam fenat, asam fenilat, fenil hidroksida, oksibenzena, benzenol, monofenol, fenil hidrat, fenilat alkohol, dan fenol alkohol (Zuraida, Sulistiyani, dan Sajuthi, 2017). Fenol memiliki spektrum luas dengan sifat kelarutan pada suatu pelarut yang berbeda-beda yang disebabkan oleh gugus hidroksil pada senyawa tersebut dengan jumlah dan posisi yang berbeda. Apabila kandungan senyawa

fenolik di dalam sampel tinggi maka aktivitas antioksidannya juga tinggi karena adanya peningkatan total fenol sehingga dapat dikatakan bahwa sedang terdapat aktivitas antioksidan yang sedang berlangsung (Toripah dkk., 2014).

Senyawa fenol memiliki sifat yang dapat merusak membran sel yang mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan atau matinya sel karena perubahan permeabilitas sel. Senyawa fenol juga dapat mendenaturasi protein sel dan mengerutkan dinding sel sehingga dapat melisiskan dinding sel jamur. Selain itu, Senyawa fenol melalui gugus hidroksi yang akan berikatandengan gugus sulfhidril dari protein fungi sehingga mampu mengubah konformasi protein membran sel target (Kumalasari, 2015).



Gambar 7 Struktur Fenol

Sumber : wikiwand, 25 maret 2021, 10:27

2.4 Simplisia

Simplisia merupakan bahan alami yang digunakan untuk obat dan belum mengalami perubahan proses apapun, dan kecuali dinyatakan lain umumnya berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia ini terbagi menjadi 3 golongan yaitu, simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan/mineral.

1. Simplisia nabati adalah simplisia yang dapat berupa tanaman utuh, bagian tanaman, eksudat tanaman atau gabungan antara ketiganya. Eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau

dengan cara tertentu sengaja dikeluarkan dari sel nya. Eksudat tanaman dapat berupa zat-zat atau bahan-bahan nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan/diisolasi dari tanamannya.

2. Simplisia hewani adalah simplisia yang dapat berupa hewan utuh atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa bahan kimia murni, misalnya minyak ikan (*Oleum iccoris asselli*) dan madu (*Mel depuratum*).
3. Simplisia pelikan/mineral adalah simplisia berupa bahan elisan atau mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa bahan kimia murni. Contoh : serbuk seng dan serbuk tembaga (Depkes RI, 1989).

2.5 Metode Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi dihentikan kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Ekstrak awal sulit dipisahkan melalui teknik pemisahan tunggal untuk mengisolasi senyawa tunggal. Oleh karena itu, ekstrak awal perlu dipisahkan kedalam fraksi yang memiliki polaritas dan ukuran molekul yang sama. Pemilihan metode ekstraksi tergantung pada sifat bahan dan senyawa yang akan diisolasi. Proses ekstraksi khususnya untuk bahan yang berasal dari tumbuhan adalah sebagai berikut (Tetti, n.d.):

1. Pengelompokan bagian tumbuhan (daun,bunga, dll), pengeringan dan penggilingan bagian tumbuhan
2. Pemilihan pelarut
3. Pelarut polar : air, etanol, methanol dan sebagainya
4. Pelarut semipolar : etil asetat, diklorometan dan sebagainya
5. Pelarut nonpolar : n-heksana, petroleum eter, kloroform dan sebagainya

Jenis-jenis metode ekstraksi adalah sebagai berikut :

a. Maserasi

Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Cara ini sesuai, baik untuk skala kecil maupun skala industri (Agoes, 2007). Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Maserasi biasanya dilakukan pada temperature 15-20°C dalam waktu selama 3 hari sampai bahan-bahan yang larut, melarut (Ansel, 1989). Kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak dan besar kemungkinan beberapa senyawa hilang.

b. Perkolasi

Pada metode perkolasi, serbuk sampel dibasahi secara perlahan dalam sebuah perkolator (wadah silinder yang dilengkapi dengan kran pada bagian bawahnya). Pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah. Perkolasi dilakukan selama 3 jam. Kelebihan dari metode ini adalah sampel senantiasa dialiri oleh pelarut baru. Sedangkan kerugiannya adalah jika sampel dalam perkolator tidak homogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area. Selain itu, metode ini juga membutuhkan banyak pelarut dan memakan banyak waktu.

c. Soxhlet

Metode ini dilakukan dengan menempatkan serbuk sampel dalam sarung selulosa (dapat digunakan kertas saring) dalam klonsong yang ditempatkan diatas labu dan di bawah kondensor. Pelarut yang sesuai

dimasukkan ke dalam labu dan suhu penangas diatur dibawah suhu reflux. Keuntungan dari metode ini adalah proses ekstraksi yang kontinyu, sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu. Kerugiannya adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat etrdegradasi karena ekstrak yang diperoleh terus menerus berada pada titik didih.

d. Reflux dan Destilasi Uap

Pada metode reflux, sampel dimasukkan bersama pelarut ke dalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut dipanaskan hingga mencapai titik didih. Uap terkondensasi dan kembali ke dalam labu.

Destilasi uap memiliki proses yang sama dan biasanya digunakan untuk mengekstraksi minyak esensial (campuran berbagai senyawa menguap). Selama pemanasan, uap terkondensasi dan destilat (terpisah sebagai 2 bagian yang tidak saling bercampur) ditampung dalam wadah yang terhubung dengan kondensor. Kerugian dari kedua metode ini adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi (Seidel V 2006).

2.6 Senyawa Antibakteri

2.6.1 Definisi Senyawa Antibakteri

Senyawa antibakteri adalah senyawa yang digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri maupun fungi yang bersifat merugikan. Senyawa antibakteri mempunyai efek menekan atau menghentikan suatu proses biokimia di dalam organisme, khususnya dalam proses infeksi oleh bakteri. Senyawa antibakteri dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara merusak membrane sel serta mengganggu sintesis asam nukleat dan protein dalam sel bakteri (Tenover, 2006).

Menurut Madigan et al. (2003) mekanisme kerja senyawa antibakteri dalam menghambat pertumbuhan yaitu dengan menghambat sintesis dinding sel bakteri yang terdiri dari peptidoglikan. Struktur peptidoglikan pada membrane sel bakteri merupakan salah satu kompleks polimer mukopeptida (glikopeptida). Kerusakan dinding sel bakteri akan menyebabkan terjadinya lisis karena tertekan osmotik di dalam membrane sel bakteri lebih tinggi daripada diluar membrane sel

2.6.2 Macam-Macam Uji Aktivitas Antibakteri

a. Metode pengenceran agar

Metode pengenceran agar sangat cocok untuk pemeriksaan sekelompok besar isolate bersus rentang konsentrasi antimikroba yang sama (Sacher & McPherson, 2004). Kelemahan metode ini yaitu hanya dapat digunakan untuk isolasi tipe organisme yang dominan dalam populasi campuran (Ernest Jawetz et al., 2005)

b. Difusi agar

Metode difusi digunakan untuk menentukan aktivitas agen antimikroba. Piringan yang berisi agen antiikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih pada permukaan media agar mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba (Pratiwi, 2008). Metode difusi agar dibedakan menjadi dua yaitu cara Kirby Bauer dan Cara Sumuran.

1. Cara Kirby Bauer

Metode difusi disks (tes Kirby Bauer) dilakukan untuk menentukan aktivitas agen antimikroba. Piringan yang

berisi agen antimikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media agar (Pratiwi, 2008). Keunggulan uji difusi cakram agar mencakup fleksibilitas yang lebih besar dalam memilih obat yang akan diperiksa (Sacher & McPherson, 2004)

2. Cara Sumuran

Metode ini serupa dengan difusi disk, dimana dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antimikroba yang akan diuji (Pratiwi, 2008)

c. Metode Dilusi

Metode dilusi dibedakan menjadi dua yaitu dilusi cair dan dilusi padat.

1. Metode Dilusi Cair

Metode ini mengukur KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bakterisidal Minimum). Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji (Pratiwi, 2008)

2. Metode dilusi padat

Metode ini serupa dengan dilusi cair namun menggunakan media padat(solid). Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Pratiwi, 2008).

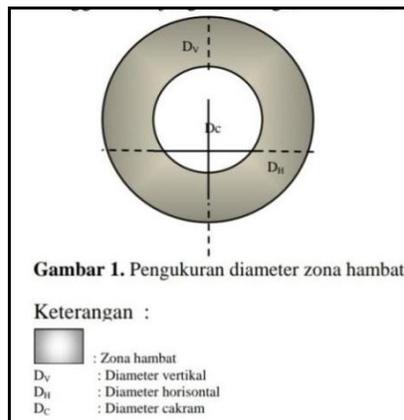
2.7 Kategori Diameter Zona Hambat

Pengamatan dilakukan dengan cara mengukur zona bening yang terbentuk menggunakan jangka sorong, sehingga dapat disebut dengan zon hambat. Susanto, Sudrajat dan Ruga (2012) (*DAYA HAMBAT DEKOK KULIT APEL MANALAGI (Malus Sylvestrs Mill.) TERHADAP PERTUMBUHAN Staphylococcus Aureus Dan Pseudomonas Sp. Penyebab Mastitis Pada Sapi Perah.Pdf*, n.d.)

Diameter	Kekuatan Daya Hambat
≤ 5 mm	Lemah
6-10 mm	Sedang
11-20 mm	Kuat
≥ 21 mm	Sangat kuat

2.7.1 Menghitung Zona Hambat

Zona bening sekitar cakram merupakan petunjuk kepekaan bakteri terhadap bahan antibakteri yang digunakan sebagai bahan uji dan dinyatakan dengan luas zona hambat. Zona hambat yang terbentuk di sekitar cakram kertas saring diukur diameter vertical dan diameter horizontal dengan satuan mm menggunakan jangka sorong.



Gambar 8 Pengukuran Diameter Zona Hambat

Diameter zona hambat diukur dengan rumus :

$$\frac{(Dv - Dc) + (Dh - Dc)}{2a}$$

