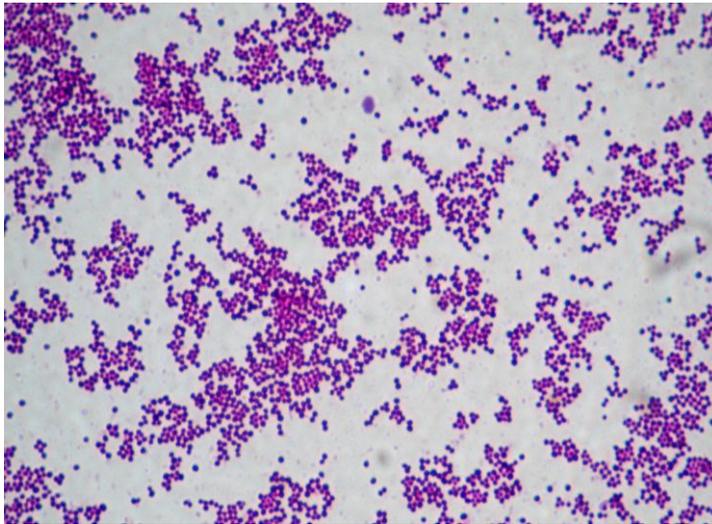


BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Staphylococcus aureus*



Gambar 1. Koloni *Staphylococcus aureus*

2.1.1 Klasifikasi

Klasifikasi *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut¹⁴:

- Kingdom : Bacteria
Ordo : Bacillales
Famili : Micrococcaceae
Genus : Staphylococcus
Spesies : *Staphylococcus aureus*

2.1.2 Morfologi dan Sifat

Staphylococcus adalah bakteri berbentuk sferis yang tumbuh bergerombol seperti buah anggur dengan ukuran diameter sekitar 0,5-1,5 μ m. *Staphylococcus*

aureus merupakan bakteri gram positif fakultatif anaerob yang tumbuh pada suhu optimum 34° C, menghasilkan pigmen kuning keemasan, tidak menghasilkan spora dan tidak motil.¹⁵ *Staphylococcus aureus* mampu menghasilkan enzim katalase yang berperan dalam proses perubahan hidrogen peroksida (H₂O₂) menjadi hydrogen (H₂) dan oksigen (O₂), karena hal tersebut *Staphylococcus aureus* dikatakan bersifat katalase positif dimana hal ini dapat membedakannya dari genus *Streptococcus*. *Staphylococcus aureus* juga menunjukkan kemampuan untuk menghasilkan enzim koagulase yang dapat membedakannya dari *Staphylococcus* jenis lainnya, seperti *Staphylococcus epidermidis*.¹⁶ Sifatnya sebagai bakteri komensal dalam tubuh manusia yang jumlahnya berimbang dengan flora normal lainnya.¹⁷ *S.aureus* pada manusia diantaranya ditemukan pada hidung, kulit, tenggorokan dan lain-lain.¹⁸

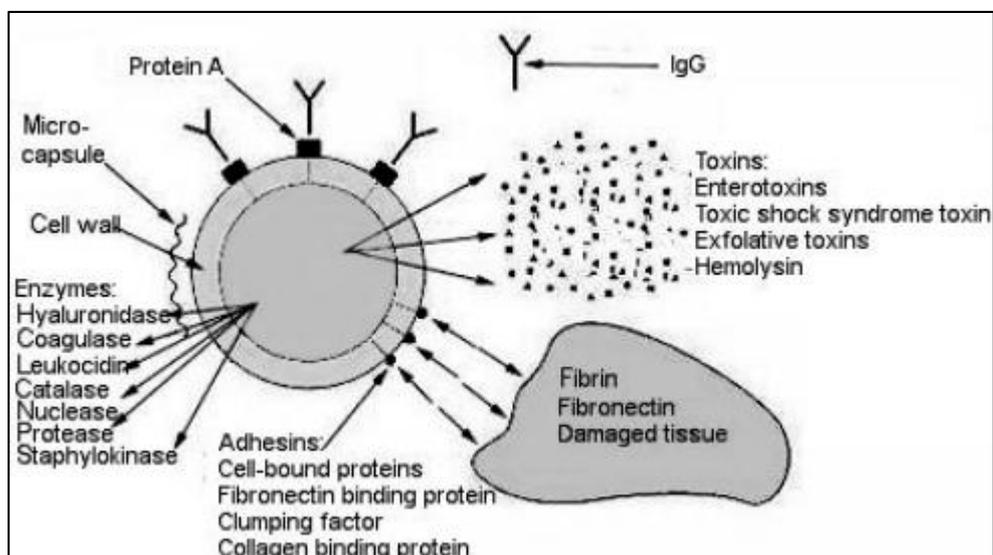
2.1.3 Patogenesis dan Manifestasi Klinis

Dari semua genus *Staphylococcus*, *Staphylococcus aureus* merupakan spesies yang paling virulen dan patogen bagi manusia. *S. aureus* mempunyai kemampuan adaptasi pada lingkungan yang berbeda dan dapat berkolonisasi pada kulit manusia, kuku, lubang hidung, dan membran mukosa dan dapat menyebar ke manusia lain melalui kontak fisik dan aerosol.¹⁹ Kolonisasi *S. aureus* sangat penting untuk mengetahui infeksi.²⁰

S. aureus menyebabkan persebaran infeksi yang luas mulai dari kulit, luka dan jaringan dalam infeksi yang lebih mengancam nyawa seperti pneumonia, endokarditis, arthritis septik dan sepsis. Bakteri ini termasuk salah satu bakteri penyebab infeksi nosokomial terbanyak. *S. aureus* juga menyebabkan keracunan

makanan, *scalded-skin syndrome*, toksik syok sindrom, melalui toksin yang berbeda-beda.²¹

Berbagai faktor virulensi berkontribusi pada kemampuan *S. aureus* menyebabkan infeksi (Gambar 2); enzim, racun, protein adhesi, permukaan sel protein, faktor yang membantu bakteri untuk menghindari pertahanan kekebalan tubuh bawaan, dan resistensi antibiotik menengahi kelangsungan hidup bakteri dan invasi jaringan di tempat infeksi.²² Terlebih toksin tertentu penyebab entitas penyakit tertentu.



Gambar 2. Faktor virulensi *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus memiliki dinding sel yang terdiri dari peptidoglikan, peptidoglikan mempunyai aktifitas seperti endotoksin, menstimulasi keluarnya sitokin dari makrofag yaitu interleukin-1 dan aktivasi komplemen, kapsul akan mencegah fagositosis PMN, adanya toksin dan enzim yang dihasilkan untuk merusak sel inang.^{18,19} Selain itu, faktor dari *Staphylococcus aureus* yang menyebabkan sukarnya penanganan infeksi adalah adanya resistensi bakteri terhadap antibiotik.¹⁸

2.1.4 Resistensi Antibiotik dan Pengobatan

Pada awalnya penisilin digunakan sebagai terapi infeksi *Staphylococcus aureus*. Kemudian, resistensi muncul ketika ditemukan strain elemen genetik β -lactamase, dan hari ini 80% dari semua strain *S.aureus* merupakan resisten penisilin. Obat selanjutnya yang diperkenalkan untuk mengobati infeksi *S.aureus* adalah semisintetik yaitu oksasilin atau metisilin, namun tidak lama setelah itu ditemukan isolat resisten metisilin.²¹

Berdasarkan hasil studi *Antimicrobial Resistance in Indonesia*, pada tahun 2000-2004 di RSUD Dr. Soetomo Surabaya dan RSUP dr. Kariadi Semarang, membuktikan bahwa sudah terdapat kuman multi-resisten seperti MRSA (*Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*) dan bakteri penghasil ESBL (*Extended Spectrum Beta Lactamases*).⁷

Pengobatan terhadap infeksi *S.aureus* biasanya menggunakan berbagai jenis antibiotik seperti tetrasiklin, vankomisin, atau penisilin resisten β -lactamase. Perbedaan jenis obat yang diberikan dipertimbangkan dari angka resistensi bakteri terhadap suatu antibiotik, seperti hasil penelitian yang dilakukan oleh Endang Sri Lestari dkk tahun 2009 menyatakan bahwa dari 361 kultur positif *S.aureus* 67,9% masih sensitif terhadap seluruh antibiotik yang diujikan, 32,1% resisten terhadap satu atau dua agen antibiotik, 21,1% resisten terhadap satu jenis antibiotik dan 10,5% resisten terhadap dua atau lebih antibiotik, angka tersebut diperoleh dari sampel yang dirawat di rumah sakit dan tidak dirawat di rumah sakit.²³ Adapun antibiotik yang digunakan dalam penelitian tersebut adalah tetrasiklin, oksasilin, gentamisin, eritromisin, klorampenikol dan trimetropim-sulfametoksazol.²³

2.2 Obat Tradisional

Tanaman obat telah lama digunakan dan penggunaannya tersebar baik di Negara maju maupun Negara berkembang. Menurut WHO sekitar 80% penduduk di Negara berkembang menggunakan pengobatan tradisional yang sebagian besar berasal dari tanaman.⁸

Banyak tanaman yang tumbuh di Negara ini dapat digunakan sebagai tanaman obat mengingat Indonesia sebagai Negara yang memiliki keanekaragaman hayati terbesar kedua di dunia setelah Brazil. Pemakaian obat tradisional untuk berbagai macam pengobatan sudah lama dipraktikan oleh masyarakat Indonesia. Dorongan masyarakat pada saat ini untuk kembali ke alam (*back to nature*) sangat besar karena pengobatan dengan menggunakan bahan sintetik kimia (obat-obat kimia) cukup mahal dan memiliki efek samping yang serius.²⁴

Untuk mendukung hal tersebut maka dilakukan pengembangan obat tradisional melalui penelitian-penelitian ilmiah terbaru dan diproduksi secara modern agar bisa dimanfaatkan sebagai obat untuk kepentingan kesehatan dan kesejahteraan masyarakat. Proses saintifikasi tersebut sangat penting agar penggunaan obat tradisional tidak berdasarkan pengalaman saja tetapi memiliki bukti ilmiah sehingga bisa digunakan dalam sistem pelayanan kesehatan formal yang modern.²⁵

Menurut Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 6 Tahun 2012 tentang Industri dan Usaha Obat Tradisional, obat tradisional adalah bahan atau ramuan bahan yang berasal dari tumbuhan, hewan, mineral, sediaan sarian,

atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun temurun digunakan untuk pengobatan sesuai dengan norma yang berlaku di masyarakat.²⁶

2.2.1 Bentuk Sediaan Obat Tradisional

Menurut Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia: 661/Menkes/SK/VII/1994 Tentang Persyaratan Obat Tradisional terdapat bentuk-bentuk sediaan obat tradisional, antara lain²⁷:

a. Rajangan

Sediaan obat tradisional berupa potongan simplisia, campuran simplisia, atau campuran simplisia dengan sediaan galenik, yang penggunaannya dilakukan dengan pendidihan atau penyeduhan dengan air panas.

b. Serbuk

Sediaan obat tradisional berupa butiran homogen dengan derajat halus yang cocok, bahan bakunya berupa simplisia sediaan galenik, atau campurannya.

c. Pil

Sediaan padat obat tradisional berupa massa bulat, bahan bakunya berupa serbuk simplisia, sediaan galenik, atau campurannya.

d. Dodol atau Jenang

Sediaan padat obat tradisional bahan bakunya berupa serbuk simplisia, sediaan galenik atau campurannya.

e. Pastiles

Sediaan padat obat tradisional berupa lempengan pipih umumnya berbentuk segi empat, bahan bakunya berupa campuran serbuk simplisia, sediaan galenik, atau campuran keduanya.

f. Kapsul

Sediaan obat tradisional yang terbungkus cangkang keras atau lunak, bahan bakunya terbuat dari sediaan galenik dengan atau tanpa bahan tambahan.

g. Tablet

Sediaan obat tradisional padat kompak dibuat secara kempa cetak, dalam bentuk tabung pipih, silindris, atau bentuk lain, kedua permukaannya rata atau cembung, dan terbuat dari sediaan galenik dengan atau tanpa bahan tambahan.

h. Cairan obat dalam

Sediaan obat tradisional berupa larutan emulsi atau suspensi dalam air, bahan bakunya berasal dari serbuk simplisia atau sediaan galenik dan digunakan sebagai obat dalam.

i. Sari atau ekstrak

Cairan obat dalam dengan tujuan tertentu diperbolehkan mengandung etanol.

j. Cairan obat luar

Sediaan obat tradisional berupa larutan suspensi atau emulsi, bahan bakunya berupa simplisia, sediaan galenik dan digunakan sebagai obat luar.

k. Salep atau krim

Sediaan setengah padat yang mudah dioleskan, bahan bakunya berupa sediaan galenik yang larut atau terdispersi homogen dalam dasar salep atau krim yang cocok dan digunakan sebagai obat luar.

2.3 Tumbuhan Kedondong Laut



Gambar 3. Tumbuhan kedondong laut

2.3.1 Taksonomi dan Morfologi Tumbuhan Kedondong Laut

Dalam sistematika (taksonomi), tumbuhan kedondong laut dapat diklasifikasikan sebagai berikut²⁸:

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Kelas : Dicotyledoneae
Ordo : Apiales
Famili : Araliaceae
Genus : *Polyscias*

Spesies : *Polyscias fruticosa*

Nama umum tumbuhan adalah kedondong laut. Tumbuhan ini dikenal masyarakat Indonesia dengan nama daerah yaitu: Puding (Melayu), Kedondong laut (Sunda), Kadungdung petedhan (Madura), Bombu (Makasar), Keudem rintek (Minahasa), Gurabati (Ternate), dan Dewu papua (Ambon).²⁹

Pohon kedondong ini adalah perdu tegak atau pohon kecil yang tingginya mencapai 2-3. Berbatang tegak, berkayu, bulat, dan hijau kekuningan. Daunnya bulat telur, rata atau keriting, tepinya bergerigi halus tersusun ganda. Pertulangan daun menyirip, berukuran 8–15 cm × 3–7 cm. Bunganya berjumlah 5-8 kuntum yang tersusun dalam payung, dan perhiasan bunganya berwarna hijau dan berukuran kecil. Buahnya tergolong buah buni, bulat, dan berwarna hijau keunguan. Bijinya bulat pipih berwarna hitam. Sedangkan akarnya tergolong akar tunggang berwarna coklat.⁹

Kedondong laut memiliki daun kelipatan 3 yang berbentuk seperti bulu burung, dengan bagian atas yang memendek dengan panjang 5 sampai 10 cm. Bagian bawah daun tumbuhan ini lebih besar dari bagian atasnya, dan memiliki bentuk yang tajam serta bergerigi. Daun tumbuhan kedondong laut juga memiliki aroma yang khas.¹⁰

2.3.2 Kandungan Kimia Daun Kedondong Laut

Menurut studi literatur, penelitian terhadap kandungan senyawa yang terdapat dalam tumbuhan kedondong laut telah dilakukan oleh Sekolah Farmasi ITB Bandung pada tahun 1994. Pemeriksaan fitokimia pendahuluan daun kedondong laut ditemukan adanya senyawa flavonoida, steroida dan triterpenoida,

saponin serta tanin. Dari ekstrak etanol telah diisolasi suatu senyawa yang diduga sebagai saponin triterpenoida . Dari fraksi n-heksana telah diisolasi suatu senyawa yang diduga termasuk senyawa golongan steroida atau triterpenoida. Dari fraksi etil asetat ditemukan adanya golongan senyawa asam fenolat yang diduga sebagai asam p-hidroksi benzoat dan asam vanilat, serta satu senyawa yang belum diidentifikasi. Flavonoida ditemukan pada ekstrak etanol, fraksi diklormetana, fraksi etil asetat dan fraksi air. Dari fraksi air telah diisolasi suatu senyawa flavonoida yang mirip kelompok auron.³⁰

Alkaloid merupakan suatu senyawa yang bersifat basa sehingga kemungkinan akan menekan pertumbuhan bakteri karena bakteri tumbuh pada pH asam. Flavonoid dan tanin yang merupakan senyawa fenolik berinteraksi dengan protein dinding sel yang menyebabkan presipitasi dan terdenaturasinya protein dinding sel. Flavonoid memiliki sifat lipofilik sehingga dimungkinkan akan merusak membran sel bakteri. Senyawa tanin diduga dapat merusak membran sel bakteri. Sementara tanin diduga dapat mengerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri. Akibat terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati.³⁰

Saponin merupakan salah satu metabolit sekunder kedondong laut adalah glikosida yang tersusun dari gula yang berikatan dengan aglikon memiliki struktur yang terdiri dari rantai triterpenoid atau steroid dan bersifat non polar. Struktur saponin tersebut menyebabkan saponin bersifat seperti sabun atau deterjen sehingga saponin disebut sebagai surfaktan alami.³¹ Saponin mempunyai aktivitas

farmakologi yang cukup luas yaitu imunomodulator, antitumor, antiinflamasi, anti jamur, antivirus, dan antibakteri. Saponin dapat merusak membran sitoplasma sel bakteri sehingga dapat mengganggu protein membran. Saponin mempunyai mekanisme menghambat sekaligus membunuh bakteri. Senyawa-senyawa kimia ini yang dapat melisiskan bakteri dan dapat bekerja sebagai antibakteri alami.⁹

2.4 Pengesktrakan

2.4.1 Ekstraksi

Ekstraksi adalah istilah dalam bidang farmasi yang artinya pemisahan bahan aktif baik pada tanaman maupun hewan dengan menggunakan pelarut selektif sesuai standar prosedur ekstraksi.³² Standarisasi proses ekstraksi bertujuan untuk memurnikan zat aktif dari zat lain dengan menggunakan pelarut tertentu, proses standarisasi juga sangat berpengaruh pada kualitas obat herbal.³³

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. 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. Ekstrak awal sulit dipisahkan melalui teknik pemisahan tunggal untuk mengisolasi senyawa tunggal. Oleh karena itu, ekstrak awal perlu dipisahkan ke dalam fraksi yang memiliki polaritas dan ukuran molekul yang sama.²⁵

Proses ekstraksi khususnya untuk bahan yang berasal dari tumbuhan adalah sebagai berikut²⁵:

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

2.4.2 Metode Ekstraksi

Pemilihan metode ekstraksi tergantung pada sifat bahan dan senyawa yang akan diisolasi. Sebelum memilih suatu metode, target ekstraksi perlu ditentukan terlebih dahulu. Ada beberapa target ekstraksi, diantaranya³⁴:

1. Senyawa bioaktif yang tidak diketahui
2. Senyawa yang diketahui ada pada suatu organisme
3. Sekelompok senyawa dalam suatu organisme yang berhubungan secara struktural.

Ada beberapa metode ekstraksi senyawa organik bahan alam yang umum digunakan, antara lain³⁵:

a. Maserasi

Maserasi merupakan proses perendaman sampel menggunakan pelarut organik pada suhu ruangan. Proses ini sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam karena melalui perendaman sampel tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi

senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan. Pemilihan pengestrak untuk proses maserasi akan memberikan efektifitas yang tinggi melalui cara memerhatikan kelarutan senyawa bahan alam pelarut tersebut.

b. Perkolasi

Perkolasi merupakan proses melewatkan pelarut organik pada sampel sehingga pelarut akan membawa senyawa organik bersama-sama pelarut. Efektifitas dari proses ini hanya akan lebih besar untuk senyawa organik yang sangat mudah larut dalam pengestrak yang digunakan.

c. Sokletasi

Proses sokletasi sangat baik untuk senyawa yang tidak terpengaruh oleh panas. Penggunaan pengestrak dalam proses ini akan dapat dihemat karena terjadinya sirkulasi pengestrak yang selalu membasahi sampel.

d. Destilasi uap

Proses destilasi uap banyak digunakan untuk senyawa organik yang tahan pada suhu cukup tinggi, yaitu yang lebih tinggi dari titik didih pelarut yang digunakan. Pada umumnya lebih banyak digunakan untuk minyak atsiri.

e. Pengempasan

Metode ini banyak digunakan dalam proses industri seperti pada isolasi senyawa dari buah kelapa sawit dan isolasi katekin dari daun gambir. Proses ini tidak menggunakan pelarut.

2.4.2.1 Maserasi

Maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi yang dilakukan melalui perendaman serbuk bahan dalam larutan pengeksrak. Metode ini digunakan untuk mengekstrak zat aktif yang mudah larut dalam cairan pengeksrak, tidak mengembang dalam pengeksrak, serta tidak mengandung benzoin. Keuntungan dari metode ini adalah peralatannya mudah ditemukan dan pengerjaannya sederhana.³⁶

Ada beberapa variasi metode maserasi, antara lain digesti, maserasi melalui pengadukan kontinyu, remaserasi, maserasi melingkar, dan maserasi melingkar bertingkat. Digesti merupakan maserasi menggunakan pemanasan lemah (40-50°C). Maserasi pengadukan kontinyu merupakan maserasi yang dilakukan pengadukan secara terus-menerus, misalnya menggunakan *shaker*, sehingga dapat mengurangi waktu hingga menjadi 6-24 jam. Remaserasi merupakan maserasi yang dilakukan beberapa kali. Maserasi melingkar merupakan maserasi yang cairan pengeksrak selalu bergerak dan menyebar. Maserasi melingkar bertingkat merupakan maserasi yang bertujuan untuk mendapatkan pengeksrakan yang sempurna.³⁶

Lama maserasi memengaruhi kualitas ekstrak yang akan diteliti. Lama maserasi pada umumnya adalah 4-10 hari.³⁷ Maserasi akan lebih efektif jika dilakukan proses pengadukan secara berkala karena keadaan diam selama maserasi menyebabkan turunnya perpindahan bahan aktif. Melalui usaha ini diperoleh suatu keseimbangan konsentrasi bahan ekstraktif yang lebih cepat masuk ke dalam cairan pengeksrak.³⁸

2.4.3 Pelarut Ekstrak

Pemilihan jenis pelarut harus mempertimbangkan beberapa faktor antara lain selektivitas, kemampuan untuk mengekstrak, toksisitas, kemudahan untuk diuapkan dan harga pelarut. Larutan pengestraksi yang digunakan disesuaikan dengan kepolaran senyawa yang diinginkan. Menurut prinsip *like dissolves like*, suatu pelarut akan cenderung melarutkan senyawa yang mempunyai tingkat kepolaran yang sama. Pelarut polar akan melarutkan senyawa polar dan sebaliknya.³⁹

Flavonoid merupakan senyawa golongan polifenol yang terdistribusi luas pada tumbuhan dalam bentuk glikosida yang berikatan dengan suatu gula, karena itu flavonoid merupakan senyawa yang bersifat polar. Pelarut polar yang biasa digunakan untuk ekstraksi flavonoid adalah metanol, aseton, etanol, air dan isopropanol.³⁹

Ekstraksi menggunakan pelarut etanol atau metanol biasa digunakan untuk mengekstraksi kandungan kimia tanaman yang berupa komponen aromatik atau komponen organik jenuh. Umumnya pelarut yang digunakan untuk mengekstraksi komponen yang aktif sebagai antimikroba digunakan pelarut metanol, etanol dan air. Ekstraksi menggunakan pelarut etanol 96% karena etanol adalah pelarut universal yang dapat menyari senyawa polar, nonpolar dan semi polar.⁴⁰

2.5 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri merupakan tes yang digunakan untuk menguji kepekaan suatu bakteri terhadap zat antibakteri. Uji kepekaan/sensitivitas

bertujuan untuk mengetahui daya kerja/efektifitas dari suatu antibakteri dalam membunuh bakteri.⁴¹

Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode pengenceran. *Disc diffusion test* atau uji difusi disk dilakukan dengan mengukur diameter zona bening (*clear zone*) yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri dalam ekstrak. Syarat jumlah bakteri untuk uji kepekaan/sensitivitas yaitu 10⁵-10⁸ CFU/mL. Sedangkan, metode pengenceran dalam tabung dilakukan dengan tujuan untuk mempertegas nilai MIC yang diperoleh dari hasil uji metode cakram kertas.⁴¹

2.5.1 Metode Difusi Kirby-Bauer

Metode yang paling sering digunakan adalah metode difusi agar. Cakram kertas saring berisi sejumlah tertentu obat ditempatkan pada medium padat yang sebelumnya telah diinokulasi bakteri uji pada permukaannya. Setelah diinkubasi, diameter zona hambat sekitar cakram yang dipergunakan mengukur kekuatan hambatan obat terhadap organisme uji. Metode ini dipengaruhi beberapa faktor fisik dan kimia, selain faktor antara obat dan organisme (misalnya sifat medium dan kemampuan difusi, ukuran molekular dan stabilitas obat). Meskipun demikian, standarisasi faktor-faktor tersebut memungkinkan melakukan uji kepekaan dengan baik.¹⁸

Salah satu uji sensitivitas dengan metode difusi agar menggunakan teknik *disc diffusion* adalah metode Kirby Bauer, dalam uji sensitivitas metode Kirby Bauer menggunakan media selektif, yaitu media Mueller Hinton.⁴²

Mekanisme kerja metode Kirby Bauer cukup sederhana, pertama transfer koloni bakteri uji pada media BHI cair, inkubasi 37⁰C selama 18 jam. Pada umur 18 jam bakteri uji mengalami fase eksponensial atau logaritma (dimana bakteri dalam fase aktif, metabolisme dan enzim yang terbentuk maksimal serta berada pada fase patogenitas). Pisahkan beberapa tetes suspensi ke dalam tabung reaksi yang berbeda, tambahkan NaCl fisiologis. Masukkan lidi kapas steril ke dalam suspensi tersebut dan tekan lidi kapas pada dinding tabung, ratakan lidi kapas yang diolesi suspensi ke seluruh permukaan media Mueller Hinton Agar dengan ketebalan standar 0,6 cm. Diamkan \pm 5 menit. Tempatkan disc antibiotik, inkubasi 34⁰C selama 18 jam, amati zona pertumbuhan bakteri di sekitar disc dan ukur diameter zona hambatannya.⁴²

2.5.2 Media Penanaman Bakteri

Penanaman bakteri atau kultur dimaksudkan untuk menumbuhkan satu jenis bakteri dalam suatu media. Media penanaman bakteri dapat berupa cairan, setengah padat atau agar dan campuran keduanya.⁴³

Uji aktivitas antibakteri salah satunya dipengaruhi oleh media, media dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya⁴⁴:

- 1) Keasaman. Keasaman media agar berkisar antara 7,2-7,4 pada temperatur ruangan. Keasaman ini penting diperhatikan karena akan mempengaruhi hasil tes aktivitas antibakteri terhadap bakteri.
- 2) Efek dari timidin atau timin. Media yang mengandung banyak timidin atau timin dapat mengurangi zona hambat. Media Mueller Hinton mempunyai

kadar timidin yang rendah sehingga dapat digunakan sebagai media yang baik untuk uji aktivitas antibakteri.

2.5.3 Mc Farland 0.5

Mc Farland 0.5 merupakan standar yang digunakan sebagai patokan jumlah bakteri pada metode agar dilusi, broth-makro-mikrodilusi, metode disk difusi dan anaerobik tes. Selain itu, Mc Farland 0.5 merupakan salah satu cara yang dapat diaplikasikan untuk menyiapkan bakteri yang akan digunakan untuk uji kemampuan antimikroba.⁴⁵

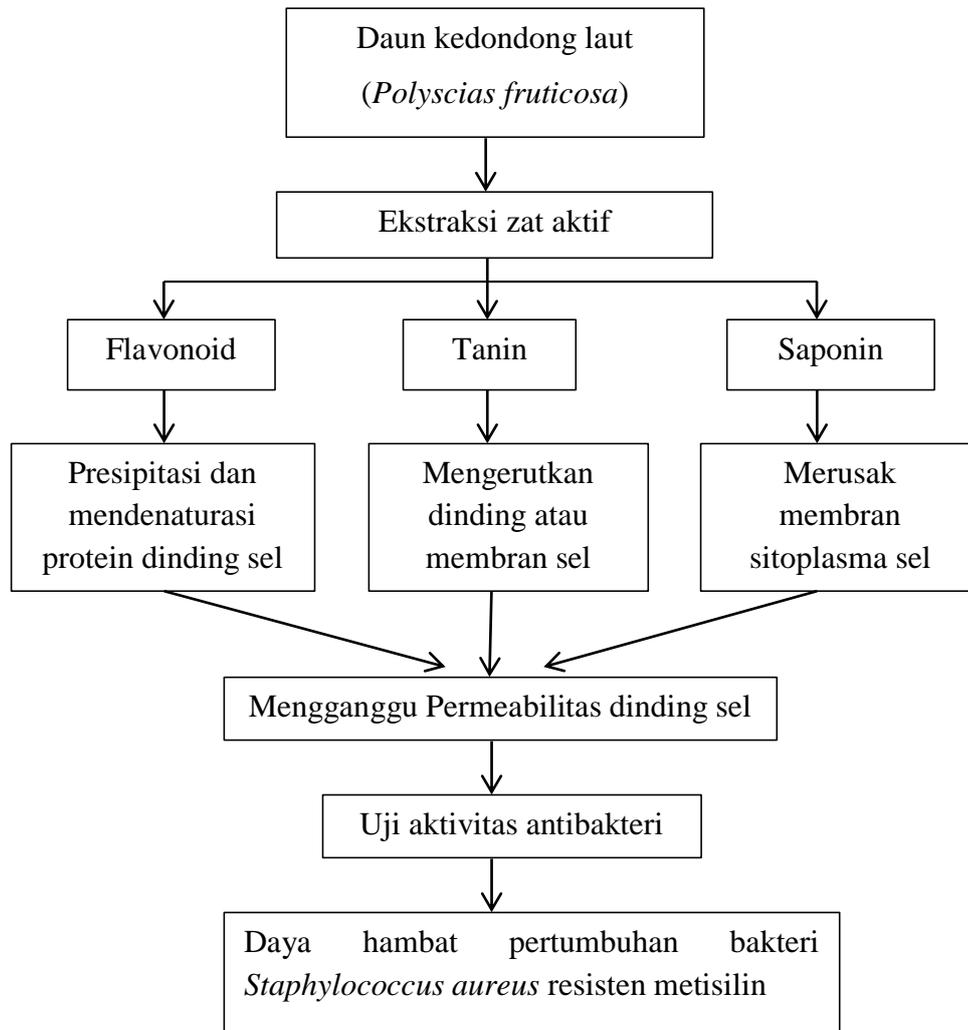
Mc Farland 0.5 merupakan formula yang terdiri dari asam belerang 1% dan barium klorida 1%, dengan perbandingan 99,5 : 0,5. Mc Farland 0.5 disetarakan dengan 10^8 cfu/mL. Mc Farland dimaksudkan untuk menggantikan perhitungan bakteri satu per satu dan untuk memperkirakan kepadatan sel yang digunakan pada prosedur pengujian antimikroba. Untuk menilai kekeruhannya dapat digunakan spektrofotometer. Di samping Mc Farland 0.5 terdapat pula jenis Mc Farland seperti Mc Farland 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0 dan 8.0 yang membedakan dengan Mc Farland 0.5 adalah perbandingan jumlah antara asam belerang 1% dan barium klorida 1%.⁴⁵

2.5.4 Daya Hambat

Daya hambat adalah kemampuan suatu zat untuk menghambat pertumbuhan suatu tanaman atau mikroorganisme. Daya hambat yang dimaksud dalam penelitian ini adalah untuk melihat seberapa besar kemampuan daya hambat akibat penggunaan ekstrak daun kedondong laut terhadap pertumbuhan

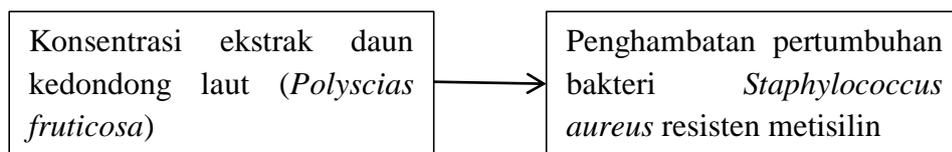
bakteri *Staphylococcus aureus* resisten metisilin. Daya hambat diukur diameternya zona bening yang terbentuk pada media pertumbuhan.¹⁶

2.6 Kerangka Teori



Gambar 4. Kerangka teori

2.7 Kerangka konsep



Gambar 5. Kerangka konsep

2.8 Hipotesis

2.8.1 Hipotesis Mayor

Ekstrak daun kedondong laut mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* resisten metisilin secara *in vitro*.

2.8.2 Hipotesis Minor

1. Ekstrak daun kedondong laut dengan konsentrasi 25% mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* resisten metisilin secara *in vitro*.
2. Ekstrak daun kedondong laut dengan konsentrasi 50% mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* resisten metisilin secara *in vitro*.
3. Ekstrak daun kedondong laut dengan konsentrasi 75% mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* resisten metisilin secara *in vitro*.
4. Ekstrak daun kedondong laut dengan konsentrasi 100% mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* resisten metisilin secara *in vitro*.
5. Adanya perbedaan pengaruh ekstrak daun kedondong laut dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* resisten metisilin secara *in vitro*.