

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Infeksi Saluran Pernafasan Akut (ISPA)

2.1.1 Definisi ISPA

ISPA adalah infeksi akut yang melibatkan organ saluran pernapasan bagian atas dan saluran pernapasan bagian bawah yang berlangsung kurang dari 2 minggu. Infeksi ini disebabkan oleh bakteri dari genus *Staphylococcus*, *pneumococcus*, *Streptococcus*, *Haemophilus*, dan *Corynebacterium* serta virus seperti adenovirus, coronavirus, dan parainfluenza (Murray & Rosenthal, 2021). ISPA akan menyerang host apabila ketahanan tubuh (immunologi) menurun. Tanda dan gejala penyakit infeksi saluran pernafasan dapat berupa batuk, sakit tenggorokan, kesulitan bernafas, pilek, demam, dan sakit kepala yang tidak perlu pengobatan dengan antibiotik (WHO, 2021).

ISPA dibagi menjadi dua, yaitu infeksi saluran pernapasan atas (*Upper Respiratory Tract Infection*) dan infeksi saluran pernapasan bawah (*Lower Respiratory Tract Infection*). ISPA atas meliputi batuk pilek, faringitis, otitis, flusalesma, sinusitis. ISPA bawah meliputi bronkiolitis dan pneumonia (Dipiro *et al.*, 2020).

2.1.2 Faringitis

Faringitis merupakan kondisi peradangan yang terjadi pada mukosa faring (tenggorokan). Bakteri *Streptococcus pyogenes* merupakan agen penyebab utama dari faringitis akut, dengan prevalensi kasus 20–30% pada anak-anak hingga remaja dan 5–15% pada orang dewasa. Faringitis umumnya ditandai dengan gejala seperti demam, nyeri tenggorokan, kesulitan menelan, faring yang kemerahan, dan adanya pembengkakan. Penularan penyakit faringitis dapat melalui kontak langsung dengan air liur atau sekret hidung (biasanya melalui tangan) dan penyebarannya lebih cepat terjadi di institusi, sekolah, rumah, dan tempat yang ramai (Dipiro *et al.*, 2020).

Faringitis biasanya akan sembuh dengan sendirinya. Akan tetapi jika gejala berlangsung lebih dari satu minggu dan disertai demam, pembengkakan kelenjar getah bening, atau ruam kulit, kemungkinan telah terjadi komplikasi. Faringitis dapat

menyebabkan komplikasi seperti demam rematik (demam yang disertai peradangan sendi dan kerusakan katup jantung) dan peradangan ginjal (glomerulonefritis setelah infeksi streptokokus) (Wolford *et al.*, 2023).

2.1.3 Pneumonia

Pneumonia merupakan penyakit infeksi saluran pernapasan bawah yang bersifat akut. Penyakit ini berupa radang paru-paru yang disebabkan oleh Mikroorganisme seperti bakteri, virus, atau jamur. Peradangan tersebut menyebabkan alveoli terisi oleh cairan ataupun nanah yang dapat menghambat pernafasan. Gejala umumnya seperti demam, batuk, sesak napas dan nyeri dada (WHO, 2022).

Penyakit pneumonia dapat disebabkan oleh beberapa mikroba patogen organisme gram positif, seperti *Staphylococcus* dan *Streptococcus pyogenes*. Bakteri *Staphylococcus aureus* juga ditemukan pada 12%–21% kasus, dengan sekitar setengahnya resisten terhadap metisilin. Sekitar 30-50% individu sehat dapat terinfeksi *Staphylococcus aureus*. Angka kematian pada pasien lanjut usia dengan pneumonia berat mencapai 40% dan angka kematian pada pasien dengan pneumonia ringan hingga sedang kurang dari 5% (Dipiro *et al.*, 2020).

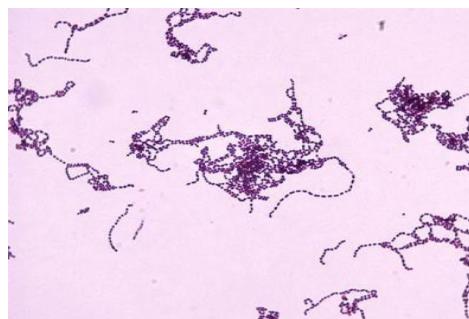
2.2 Bakteri secara umum

Nama bakteri berasal dari kata "Bakterion" (bahasa Yunani) yang berarti batang. Bakteri adalah organisme prokariotik (tanpa inti sel). Berdasarkan struktur dinding sel, bakteri dibagi menjadi Gram positif dan Gram negatif. Dinding sel bakteri Gram positif terdiri dari lapisan peptidoglikan tebal, sementara bakteri Gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan tipis dan membran luar yang mengandung protein, lipoprotein, fosfolipid, lipopolisakarida, dan membran dalam (Riaz & Tande, 2021).

2.2.1 *Streptococcus pyogenes*

Streptococcus pyogenes (Grup A) adalah bakteri Gram positif penyebab berbagai infeksi pada manusia, mulai dari faringitis dan impetigo hingga penyakit berat seperti sindrom syok toksik dan fasitis nekrotikans (Farooq *et al.*, 2023). Bakteri *Streptococcus pyogenes* merupakan penyebab utama faringitis bakterial tanpa komplikasi dan tonsilitis yang biasa disebut radang tenggorokan (Kenneth, 2020). Penularan bakteri ini melalui

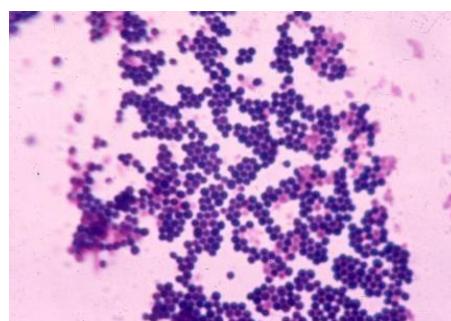
kontak langsung dengan air liur atau cairan hidung dari orang yang terinfeksi. Bakteri *Streptococcus pyogenes* muncul sebagai koloni berwarna abu-abu putih dengan diameter 1-2 mm dikelilingi oleh zona (B) hemolisis lengkap jika dibiakkan di piring agar darah (Lacey *et al.*, 2024).



Gambar 2.1 Bakteri *Streptococcus pyogenes* (Rizki andini, 2024)

2.2.1 *Staphylococcus aureus*

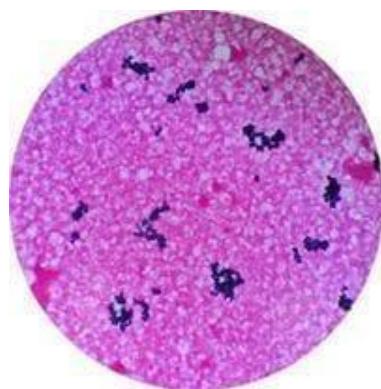
Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif yang bersifat patogen pada manusia melalui invasi jaringan maupun pengaruh toksin yang dihasilkannya. Bakteri ini memiliki sel berbentuk bulat atau kokus dengan diameter 0,8 - 1,0 μm menyerupai buah anggur. Infeksi MRSA dapat menular melalui kontak langsung dengan penderita, luka yang terinfeksi, atau tangan yang terkontaminasi. Bakteri ini secara alami ditemukan pada kulit, rongga hidung dan saluran pernapasan atas manusia sebagai bagian dari flora normal. Dalam kondisi sistem imun yang menurun atau adanya kerusakan pada jaringan tubuh, *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan infeksi lokal seperti faringitis, tonsilitis, sinusitis dan bronkitis. Dengan adanya enzim proteolitik pada *Staphylococcus aureus* dapat menimbulkan pneumonia, infeksi tulang dan sendi, maupun endokarditis (Jawetz., 2019).



Gambar 2.2 Bakteri *Staphylococcus aureus* (Nurwartanti *et al.*,2019)

2.2.2 *Staphylococcus epidermidis*

Staphylococcus epidermidis merupakan bakteri gram positif yang berbentuk kokus (bulat), permukaan halus, berwarna putih hingga abu-abu dan berdiameter sekitar 1-2 mm. Bakteri ini merupakan flora normal pada kulit, saluran napas dan saluran cerna manusia. Namun dapat menjadi patogen oportunistik penyebab infeksi nosokomial pada persendian dan pembuluh darah, termasuk infeksi saluran pernapasan (Jawetz, 2019). Bakteri ini menghasilkan toksin dan lendir yang memudahkannya menempel pada permukaan. Lendir tersebut membuat bakteri *Staphylococcus epidermidis* lebih resisten terhadap beberapa antibiotik dan fagositosis (pembunuhan bakteri oleh sistem kekebalan tubuh). Infeksi *Staphylococcus epidermidis* ditandai dengan kerusakan jaringan serta adanya suruprasi (pembentukan nanah). Infeksi yang lebih berat yaitu *Staphylococcus epidermidis* terlibat sebagai agen penyebab penyakit saluran kemih, infeksi kateter, pneumonia, infeksi luka operasi, abses payudara, osteomielitis, dan katup asli endokarditis (Lee & Anjum, 2023).



Gambar 2.3 Bakteri *Staphylococcus epidermidis* (<http://www.gbif.org.2019>)

2.3 Pencegahan dan pengobatan ISPA

Pencegahan dapat dilakukan dengan memperbanyak istirahat dan minum air putih untuk mengencerkan dahak, kompres hangat apabila suhu diatas batas normal (36,5°C - 37°C), dan irigasi nasal (Dipiro *et al.*, 2020). Mengonsumsi makanan kaya vitamin C untuk meningkatkan daya tahan tubuh, minuman lemon hangat atau madu untuk meredakan batuk (Kemenkes, 2020). Pada saat terserang ISPA dapat dilakukan pengobatan untuk meringankan gejala diantaranya adalah:

1. Terapi simptomatik

- a. Dekongestan oral atau topikal dapat membantu mengurangi keluhan pada pasien dengan *rhinorrhea*. Sebaiknya dekongestan diberikan pada anak di atas 2 tahun karena efek sampingnya seperti gelisah, palpitas, dan takikardia. Dekongestan topikal seperti fenilepinefrin atau oxymetazoline lebih banyak dipakai, sebaiknya digunakan 3-4 hari saja untuk menghindari efek *rebound*.
- b. Antihistamin oral generasi pertama, Chlorpheniramine maleat atau Diphenhydramine, biasanya digunakan untuk mengurangi pilek dan bersin-bersin karena memiliki efek antikolinergik.
- c. Guaifenesin adalah obat pengencer dahak yang membantu mengurangi lendir di bagian hidung dan tenggorokan (nasofaring).
- d. Kodein sebagai antitusif yang bekerja di pusat saraf untuk mengurangi frekuensi batuk.

2. Terapi antibiotik

Pengobatan ISPA sebagian besar menggunakan antibiotik karena ISPA penyebab utamanya adalah virus dan bakteri. (Dipiro *et al.*, 2020). Antibiotik hanya boleh digunakan jika ada kecurigaan atau konfirmasi infeksi bakteri (Kemenkes, 2020). Pemilihan antibiotik yang tepat sangat penting dalam terapi penyakit infeksi bakteri. *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Streptococcus pyogenes* merupakan bakteri Gram positif yang sering menjadi penyebab Infeksi Saluran Pernapasan Akut (ISPA), seperti faringitis, tonsilitis, dan pneumonia. Infeksi ringan hingga sedang akibat *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis* umumnya diobati menggunakan antibiotik seperti amoksicilin-klavulanat dan ciprofloxacin, pada infeksi berat yang disebabkan strain resisten MRSA terapi lanjutan seperti vankomisin sedangkan pada bakteri *Streptococcus pyogenes* terhadap penyebab utama faringitis biasanya diobati dengan amoksicilin dan klindamisin. Terapi antibiotik terhadap penyakit ISPA secara umum yaitu:

Tabel 2.1 Terapi Antibiotik

| Golongan Antibiotik | Obat | Mekanisme Kerja | Indikasi Penggunaan |
|----------------------------|--|---|--|
| Penisilin | Amoksisilin, Penisilin V, Amoksisilin-klavulanat | Menghambat sintesis dinding sel bakteri, menyebabkan lisis bakteri. | Sinusitis, faringitis streptokokus, pneumonia bakteri. |
| Sefalosporin | Cefuroxime, Ceftriaxone, Cefotaxime | Menghambat sintesis dinding sel bakteri, menyebabkan kerusakan dinding sel bakteri. | Sinusitis, pneumonia, otitis media, bronkitis |
| Makrolida | Azitromisin, Klaritromisin, Eritromisin | Menghambat sintesis protein bakteri dengan mengikat subunit ribosom 50S. | Pneumonia atipikal (Mycoplasma pneumoniae), |
| Tetrasiklin | Doksisisiklin, Tetrasiklin | Menghambat sintesis protein dengan mengikat subunit ribosom 30S. | Bronkitis, pneumonia atipikal, sinusitis, faringitis atipikal. |
| Fluoroquinolone | Levofloksasin, Moksifloksasin, Ciprofloxacin | Menghambat DNA gyrase dan topoisomerase IV, mengganggu replikasi DNA bakteri. | Pneumonia, bronkitis, sinusitis |
| Lincosamides | Klindamisin | Menghambat sintesis protein bakteri dengan berikanan pada subunit ribosom 50S. | Pneumonia anaerob, sinusitis, otitis media |

2.4 Antibakteri

Antibakteri adalah zat yang dapat menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri dengan cara mengganggu metabolisme mikroba yang membahayakan manusia. Obat antibakteri harus memiliki toksitas selektif, yang dapat membunuh bakteri tanpa merusak sel manusia. Berdasarkan sifatnya, antibakteri dibagi menjadi dua jenis: bakterisidal yang bersifat membunuh bakteri, dan bakteriostatik yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri tanpa membunuhnya (Wang *et al.*, 2024).

2.4.1 Ciprofloxacin (obat pembanding)

Ciprofloxacin merupakan antibiotik golongan fluorokuinolon berspektrum luas yang aktif terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif penyebab infeksi. Mekanisme kerja *ciprofloxacin* dengan menghambat aktivitas enzim topoisomerase II (DNA gyrase) dan topoisomerase IV. Kedua enzim ini berperan dalam proses replikasi dan perbaikan DNA bakteri. Penghambatan enzim-enzim ini mengakibatkan gangguan pada replikasi DNA, yang menyebabkan kerusakan pada sel bakteri. (Weinstein & Lewis, 2020)

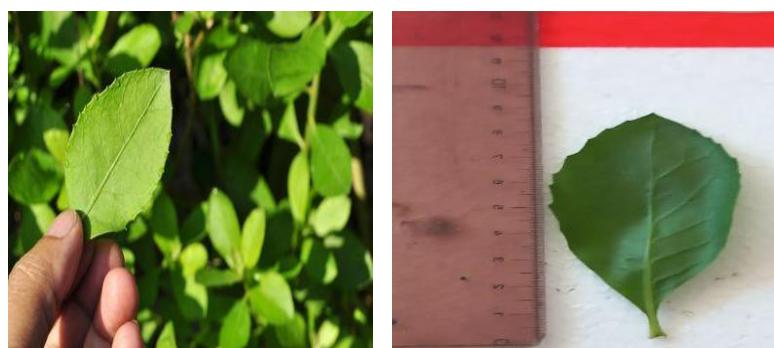
2.4.2 Resistensi Antibiotik

Resistensi bakteri terjadi ketika bakteri menjadi kebal oleh efek bakterisidal maupun bakteriostatik dari antibiotik. Kemampuan tersebut merupakan evolusi suatu bakteri yang mengalami perubahan-perubahan sebagai bentuk mekanisme adaptasi dan pertahanan diri terhadap paparan agen toksik seperti zat antibiotik sehingga menjadi resisten atau kebal terhadap obat-obatan yang digunakan untuk menyembuhkan infeksi yang ditimbulkan oleh bakteri. Resistensi antibiotik terjadi ketika pemberian antibiotik dalam dosis minimal hambatnya (MIC) tidak lagi berefek pada bakteri, jamur dan virus, dimana sebelumnya pada dosis minimal tersebut antibiotik dapat bekerja dalam menghambat atau membunuh bakteri (Manaia *et al.*, 2024).

Terjadinya resistensi bakteri terhadap antibiotik dipengaruhi oleh berbagai faktor. Pola penggunaan antibiotik secara irasional atau tidak tepat merupakan faktor paling utama yang mempengaruhi terjadinya resisten antibiotik pada bakteri. Penggunaan antibiotik yang dikatakan irasional meliputi pemilihan antibiotik yang tidak sesuai indikasi pasien, jangka waktu yang tidak tepat, *over prescription* atau peresepan secara berlebihan. Antibiotik bekerja dengan menargetkan bakteri. Namun dalam praktik klinisnya terkadang sulit untuk membedakan infeksi virus dan bakteri yang membuat peresepan antibiotik sering tidak sesuai indikasi pasien. Hal tersebut dapat memicu mekanisme kekebalan baru pada bakteri sehingga dapat menjadi resisten terhadap antibiotik. Pengonsumsian antibiotik yang tidak tuntas atau dibawah durasi yang dianjurkan menyebabkan bakteri beradaptasi terhadap antibiotik dosis rendah yang telah dikonsumsi sehingga dapat juga menyebabkan resistensi antibiotik (Hussein, 2024).

2.5 Tanaman Beluntas

Beluntas (*Pluchea Indica L.*) berasal dari India dan menyebar ke China bagian Selatan, Indo-China, Thailand, Malaysia, Indonesia, Australia, dan pulau-pulau Pasifik. Di Indonesia, penyebarannya meliputi pulau Sumatra, Jawa, Sulawesi, dan Nusa tenggara. Umumnya tanaman ini ditanam sebagai tanaman pagar dan berkhasiat sebagai obat secara tradisional (Chan *et al.*, 2022).



Gambar 2.4 Daun beluntas (*Pluchea indica* L.)
Sumber: (Dokumentasi pribadi)

2.5.1 Klasifikasi Tanaman Beluntas

Adapun klasifikasi daun beluntas yaitu:

| | | |
|--------------|---|---------------------------------|
| Kingdom | : | Plantae |
| Sub Kingdom | : | Tracheobionta |
| Super Divisi | : | Spermatophyta |
| Divisi | : | Magnoliophyta |
| Kelas | : | Magnoliopsida |
| Sub Kelas | : | Asteridae |
| Ordo | : | Asterales |
| Family | : | Asteraceae |
| Genus | : | Pluchea |
| Spesies | : | <i>Pluchea indica</i> (L.) Less |

2.5.2 Morfologi Daun Beluntas

Tumbuhan beluntas merupakan tanaman berbentuk perdu, tingginya mencapai 2 meter. Batang bulat, berkayu, dan bercabang. Daunnya tunggal, berbentuk oval, tepinya rata, ujungnya runcing, berbulu halus, panjang kurang lebih 3,8-6,4 cm, lebarnya 2-4 cm,

permukaan menyirip, berwarna hijau, bila diremas daun bertekstur kasar. Bunga warna putih kekuningan, putiknya berbentuk jarum, panjang kurang lebih 6 mm, berwarna hitam kecoklatan. Berbiji kecil dan coklat keputih- putihan. Akarnya tunggang dan bercabang (Setiawan, 2023).

2.5.3 Kandungan Senyawa Daun Beluntas

Tanaman beluntas (*Pluchea indica* L.) mempunyai kandungan senyawa yang telah dibuktikan dengan dilakukan skrining fitokimia dengan hasil bahwa tanaman beluntas (*Pluchea indica* L.) memiliki senyawa aktif diantaranya flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, dan minyak atsiri. Senyawa ini diyakini bersifat sebagai aktivitas anti-inflamasi, antioksidan dan antibakteri (Sugiaman *et al.*, 2021). Sifat antibakteri dari senyawa daun beluntas dapat membantu melawan infeksi dengan mengganggu permeabilitas sel bakteri, mengakibatkan kerusakan dinding sel bakteri dan menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel bakteri yaitu protein, asam nukleat dan nukleotida (*Sari et al.*, 2023).

2.6 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan senyawa bioaktif yang terkandung dalam simplisia dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Ekstrak merupakan sediaan kental yang didapatkan dari ekstraksi senyawa aktif simplisia menggunakan pelarut yang tepat, selanjutnya pelarut diuapkan dan massa yang tertinggal diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan. Ekstraksi secara umum dapat diklasifikasikan menjadi dua yaitu (Badaring *et al.*, 2020):

1. Ekstraksi cair-cair adalah metode pemisahan komponen dalam suatu campuran dengan menggunakan dua pelarut cair yang tidak bercampur. Contohnya bertahap (corong pisah) dan sinambung (Craig).
2. Ekstraksi padat-cair merupakan metode pemisahan senyawa dari campuran padat dengan bantuan pelarut cair. Metode Ekstraksi padat cair terbagi menjadi 2 jenis berdasarkan penggunaan suhu, yaitu ekstraksi cara panas dan cara dingin :
 - a. Ekstraksi cara panas melibatkan pemanasan selama proses berlangsung bertujuan agar mempercepat proses ekstraksi. Contohnya refluks, sokletasi, infudasi, dekokta, dan digesti.

- b. Ekstraksi cara dingin digunakan untuk mengisolasi senyawa yang bersifat termolabil (tidak tahan pemanasan) yang bertujuan agar senyawa tidak menjadi rusak. Contohnya maserasi dan perkolasian.

2.6.1 Maserasi

Maserasi adalah metode ekstraksi yang melibatkan perendaman simplisia nabati dalam pelarut tertentu selama waktu tertentu dan dilakukan pada suhu ruangan 20-30°C untuk mencegah penguapan pelarut yang berlebihan, dengan pengadukan atau penggojokan sesekali untuk memaksimalkan ekstraksi. Prinsip kerja dari maserasi adalah proses melarutnya zat aktif berdasarkan sifat kelarutannya dalam suatu pelarut (like dissolved like). Pelarut yang digunakan, akan menembus dinding sel dan kemudian masuk ke dalam sel tanaman yang penuh dengan zat aktif. Zat aktif akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan di luar sel, sehingga larutan yang pekat akan dipaksa keluar (Wijaya *et al.*, 2022).

2.7 Uji Aktivitas Antibakteri

Metode pengujian antibakteri dilakukan untuk mengetahui aktivitas suatu zat terhadap bakteri. Uji aktivitas antibakteri terdapat 2 cara umum yang dapat digunakan yaitu metode difusi dan metode dilusi (Wootton *et al.*, 2021).

2.7.1 Difusi

Prinsip kerja metode ini didasarkan pada kemampuan difusi zat antibakteri ke dalam media padat, dimana mikroba yang diuji diinokulasi terlebih dahulu. Metode difusi dapat dilakukan dengan 2 metode yaitu (Amalia *et al.*, 2021):

1. Difusi cakram

Metode ini dilakukan dengan menggunakan kertas cakram. Ke dalam media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri dimasukkan kertas cakram dan diisi dengan senyawa uji. Diameter zona hambat berwarna jernih yang terbentuk di daerah sekitar cakram kertas merupakan indikator dari kemampuan penghambatan terhadap mikroorganisme atau bakteri uji. Diameter zona hambat pertumbuhan bakteri diukur dalam satuan mm. Aktivitas zona hambat antimikroba dikelompokkan menjadi empat

kategori yaitu aktivitas lemah (<5 mm), sedang (5-10 mm), kuat ($>10-20$ mm), dan sangat kuat ($>20-30$ mm).

2. Difusi sumuran

Metode ini melibatkan pembuatan sumuran (lubang kecil) dalam media agar yang telah diinokulasi dengan mikroorganisme uji. Larutan agen antimikroba kemudian diteteskan ke dalam sumuran. Setelah inkubasi, zona penghambatan di sekitar sumuran diukur untuk menentukan aktivitas antimikroba dari bahan uji.

2.7.2 Dilusi

Metode ini digunakan untuk menentukan KHM dan KBM dengan prinsip pengenceran antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap. Tujuannya untuk mengetahui seberapa banyak jumlah zat antibakteri yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan atau mematikan bakteri yang diuji. Uji aktivitas antimikroba dengan metode ini dapat digunakan dengan media cair maupun padat (Kowalska-Krochmal & Dudek-Wicher, 2021).

1. Dilusi Cair

Dilusi cair terdiri dari makrodilusi dan mikrodilusi. Pada prinsipnya pengerjaannya sama hanya berbeda dalam volume. Untuk makrodilusi volume yang digunakan lebih dari 1 ml, sedangkan mikrodilusi volume yang digunakan 0,05 ml sampai 0,1 ml. Metode mikrodilusi merupakan pengembangan dari metode dilusi cair yang menggunakan media, bakteri, dan senyawa uji dalam jumlah yang sedikit dan menggunakan alat microplate 96 wells. Metode mikrodilusi ini dipilih karena memiliki beberapa kelebihan yaitu, lebih sensitif dari metode difusi, jumlah sampel yang dibutuhkan lebih sedikit serta dapat memberikan hasil semi kuantitatif hingga kuantitatif sehingga bisa digunakan untuk penentuan kadar hambat minimum (KHM) secara akurat. kekurangan dari metode ini adalah waktu pengerjaan yang lama, risiko kesalahan dalam penyajian larutan antimikroba untuk setiap pengujian, dan sejumlah besar medium serta risiko terkontaminasi.

2. Dilusi Padat

Metode ini tahap pengerjaannya mirip dengan metode dilusi cair tetapi menggunakan media padat. Keuntungan metode ini adalah bahwa satu konsentrasi zat antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji.

2.8 Scanning Electron Microscopy (SEM)

SEM merupakan mikroskop elektron yang mampu menghasilkan gambar beresolusi tinggi dari permukaan sampel. Hasil uji SEM dimaksudkan untuk mengamati perubahan struktur, morfologi, kerusakan dinding sel dan membran sitoplasma akibat pengaruh zat antibakteri, yang akan mengalami kerusakan sel seperti sel mengkerut, menggelembung dan lisis dinding sel (Septiano *et al.*, 2021).

Dalam SEM, persiapan sampel sangat penting untuk memastikan hasil pencitraan yang optimal. Proses ini meliputi pencucian, fiksasi, post-fiksasi, dan dehidrasi, yang bertujuan mempertahankan struktur sel dan meningkatkan kontras pencitraan. Tahap awal dalam persiapan sampel dimulai dengan pencucian menggunakan buffer fosfat (PBS) atau buffer cacodylate untuk menjaga kestabilan pH. PBS sering digunakan karena murah dan efektif, tetapi dapat bereaksi dengan osmium tetroksida (OsO_4), menyebabkan presipitasi yang mengganggu pencitraan. Oleh karena itu, buffer cacodylate lebih disarankan dalam fiksasi yang menggunakan osmium tetroksida, karena lebih stabil dan tidak menyebabkan presipitasi yang dapat merusak dinding sel (Goldstein *et al.*, 2017).

Fiksasi menggunakan larutan seperti glutaraldehida atau formaldehida untuk mempertahankan struktur sel. Fiksasi ini membentuk ikatan silang dengan protein, sehingga sel tetap dalam kondisi stabil selama proses preparasi. Post-fiksasi dengan osmium tetroksida. Osmium berikatan dengan lipid membran sel, membantu mengurangi efek muatan elektrostatik dan mempertajam detail struktur sel. Selanjutnya, sampel mengalami tahap dehidrasi dengan larutan etanol bertahap guna menghilangkan kandungan air tanpa merusak struktur bakteri. Sampel kemudian dikeringkan dengan *Critical Point Drying* (CPD) untuk menghindari kerusakan akibat tegangan permukaan air yang tersisa (Subhan, 2022).