

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Infeksi

Penyakit yang disebabkan karena infeksi banyak terjadi disebabkan mikroorganisme patogen yang bersifat dinamis (Konoralma.,2019). Infeksi banyak terjadi di negara-negara berkembang (Savitri et al., 2019). Infeksi sering terjadi karena adanya interaksi mikroba patogen dengan mikroorganisme pada kondisi lingkungan dan sosial tertentu. Gangguan dari adanya infeksi ini dikarenakan adanya mikroorganisme contohnya bakteri, jamur, parasit serta virus yang mengakibatkan timbulnya gejala klinis atau bahkan menyebabkan asimtomatik yang dikenal sebagai *carier* (pembawa parasit, bakteri dan virus) (Rudy Joegijantoro, 2019).

2.2. Bakteri

Bakteri adalah mikroorganisme yang dapat dilihat secara mikroskopik umumnya memiliki satu sel tetapi tidak memiliki inti sel membran dan dinding sel juga tidak berklorofil (Febriza et al., 2021).

2.3. Isolasi Bakteri

Isolasi bakteri adalah proses pemisahan satu jenis bakteri dari campuran mikroorganisme yang terdapat dalam suatu sampel untuk memperoleh kultur murni yang dapat diteliti lebih lanjut. Proses ini umumnya dilakukan menggunakan media pertumbuhan selektif atau diferensial dengan teknik aseptis agar tidak terjadi kontaminasi dari mikroorganisme lain (Hasbi et al., 2024).

2.3.1. Gen 16S rRNA

Identifikasi bakteri menggunakan metode 16S rRNA dapat digunakan untuk mengidentifikasi bakteri. Proses ini mencakup isolasi DNA, amplifikasi wilayah 16S menggunakan PCR, visualisasi gen melalui elektroforesis, sekuensing, dan pemerosesan data sekuens menggunakan analisis bioinformatika. Penanda gen 16S rRNA adalah salah satu metode yang paling umum digunakan untuk mengidentifikasi bakteri. Urutan gen ini memiliki panjang sekitar 1.550 bp dan terdiri dari wilayah yang

dilestarikan (*conserved*), yang dianggap memiliki perbedaan antara bakteri. Keunggulan identifikasi menggunakan 16S rRNA termasuk kemampuan untuk mengidentifikasi bakteri yang tidak dikultur, mengidentifikasi kesamaan antar spesies bakteri untuk mengetahui berapa banyak persamaan dan perbedaan, dan menjadi sangat efektif untuk penelitian karena akurasi yang tinggi dan waktu identifikasi yang singkat. Namun, metode ini memiliki kelemahan, yaitu tidak berlaku untuk spesies tertentu (Fatmawati & Warganegara, 2021).

Gen 16S rRNA merupakan instrumen molekuler yang berperan penting dalam identifikasi berbagai spesies bakteri dan telah banyak dimanfaatkan dalam berbagai disiplin penelitian di Indonesia. Perannya sebagai penanda genetik memungkinkan identifikasi bakteri secara lebih akurat dan efisien. Metode sekuensing gen 16S rRNA telah diaplikasikan secara luas dalam penelitian di bidang klinis, perikanan, kelautan, pertanian, dan peternakan (Fatmawati & Warganegara, 2021).

2.3.2. Isolasi DNA (*Deoxyribonucleic Acid*)

Isolasi DNA terdiri dari beberapa tahapan, yaitu lisis (penghancuran sel), pengikatan DNA (DNA binding), pencucian, dan elusi, dengan prinsip pemisahan menggunakan sentrifugasi (Faatih, 2009). Proses isolasi DNA merupakan langkah awal yang penting sebelum melanjutkan ke tahap identifikasi gen 16S rRNA. Sentrifugasi digunakan sebagai metode pemisahan senyawa berdasarkan perbedaan densitas molekul. Apabila prosedur isolasi dijalankan dengan tepat dan sesuai standar, maka DNA kromosom dapat diperoleh dengan tingkat kemurnian yang tinggi, yang dapat dibuktikan melalui pola pita yang jelas pada hasil elektroforesis. Tingkat keakuratan dan ketelitian dalam pelaksanaan prosedur sangat memengaruhi kemurnian DNA plasmid yang dihasilkan (Fatmawati & Warganegara, 2021).

Isolasi DNA adalah salah satu teknik dasar dalam biologi molekuler yang menjadi tahap awal untuk melakukan studi lanjutan terkait informasi genetik suatu organisme. DNA tersusun atas basa nukleotida, yaitu adenin (A), guanin (G), sitosin (C), dan timin (T), di mana urutan nukleotida tersebut menyimpan informasi genetik yang berperan dalam pengaturan dan perkembangan makhluk hidup (Widyastuti., 2011). Proses lisis secara enzimatik umumnya menggunakan enzim proteinase K (Widyastuti, 2011). Tujuan dari tahap isolasi DNA adalah untuk memisahkan asam

nukleat dari komponen seluler lainnya. Proses ini dapat dilakukan dengan menggunakan reagen yang mengandung deterjen (seperti Wash 1), serta larutan yang mengandung NaCl dan berbagai jenis buffer, misalnya buffer Tris atau fosfat dengan pH 7 hingga 8. Beberapa modifikasi sering diterapkan pada tahap ini, seperti inkubasi pada suhu tinggi, atau penggunaan senyawa seperti *Ethylenediaminetetraacetic acid* (EDTA) yang berfungsi menghambat aktivitas enzim nuklease. Tahap akhir berupa pengendapan bertujuan untuk memisahkan DNA dari larutan isolat yang digunakan (Widyastuti, 2011).

Dalam ilmu mikrobiologi, proses identifikasi mikroorganisme memiliki peranan yang sangat krusial. Identifikasi yang akurat berkontribusi terhadap efektivitas pengobatan, pencegahan penularan penyakit, penghindaran resistensi antimikroba, serta eksplorasi senyawa aktif. Secara konvensional, identifikasi mikroorganisme patogen penyebab penyakit menular dilakukan melalui metode kultur, yang kemudian dilanjutkan dengan analisis karakter fisiologis dan biokimia. Namun, metode ini memerlukan waktu yang tidak singkat, dan tidak semua mikroorganisme dapat dikulturkan dengan mudah, seperti beberapa jenis mikobakteri dan virus tertentu. Seiring perkembangan teknologi, metode identifikasi berbasis molekuler dengan kecepatan tinggi serta sensitivitas dan spesifisitas yang lebih baik telah dikembangkan, salah satunya melalui analisis sekuens gen 16S rRNA. Gen pengkode RNA ribosom (rRNA) merupakan gen yang paling terkonservasi (dilestarikan) (Rinanda, 2011).

Daerah gen RNA ribosom (rRNA) yang hipervariabel memfasilitasi identifikasi spesies bakteri. Wilayah hipervariabel gen 16S rRNA memiliki panjang sekitar 1.550 pasangan basa dan panjang 500 basa. Organisme dapat dibedakan satu sama lain di wilayah ini. Primer yang digunakan untuk amplifikasi sekuens mengenali wilayah yang dilestarikan dan memperkuat wilayah hipervariabel, menghasilkan sekuens yang spesifik untuk organisme (Akihary and Kolondam, 2020). Waktu identifikasi yang singkat dan tingkat akurasi yang tinggi dari analisis 16S rRNA merupakan dua keunggulan tambahan dibandingkan metode konvensional. Menurut Janda & Abbott (2007), ukurannya yang besar (1.500 pb) juga dianggap menguntungkan untuk digunakan dalam bidang informatika. Gen 16S rRNA memiliki

keuntungan dalam mengenali kesamaan antara spesies bakteri. Karena semua spesies bakteri memiliki gen 16S rRNA, maka hubungan filogenetik diantara mereka dapat ditentukan. Hasil urutan digunakan untuk membandingkan dan membedakan urutan dalam database yang berbeda. Alat Pencarian Penyelarasan Lokal Dasar (BLAST) adalah metode yang umum digunakan. Pusat Informasi (NCBI) telah mengumpulkan ribuan rangkaian dari berbagai isolat lingkungan dan klinis ke dalam melalui server <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> Sumber data tambahan yang dapat digunakan (Fatmawati & Warganegara, 2021).

DNA (asam nukleat deoksiribosa) merupakan asam nukleotida, sekumpulan molekul yang menentukan bentuk dan karakteristik semua makhluk hidup, biasanya berbentuk heliks ganda, dan bertanggung jawab atas perkembangan biologis semua bentuk kehidupan seluler instruksi genetik yang menentukan (Fatmawati & Warganegara, 2021).

2.3.3. *Polymerase Chain Reaction (PCR)*

Teknik PCR dan metode lain seperti pengurutan DNA telah mengubah bidang ilmu pengetahuan dan teknologi. Metode yang digunakan untuk mensintesis dan memperkuat DNA secara in vitro adalah reaksi berantai polimerase (PCR). Kary Mullis mengembangkan teknologi ini pada tahun 1985. Teknologi PCR memungkinkan bagian DNA diamplifikasi jutaan kali dalam waktu beberapa jam.

Proses PCR terdiri atas beberapa tahapan, yaitu: (1) Pra-denaturasi DNA templat, (2) Denaturasi DNA templat, (3) Penempelan Primer pada templat (*annealing*), (4) Pemanjangan primer atau (ekspansi), dan (5) Pemantauan (Post-ekspansi). Siklus atau tahapan berulang, terdiri dari tahap (2) hingga (4) dimana jumlah DNA diduplikasi setiap kali (Handoyo dan Rudiretna, 2001).

Untuk melakukan PCR, komponen berikut diperlukan dan fungsi masing-masing:

a. Templat DNA

Metode lisis merupakan teknik yang umum digunakan dan efisien untuk memisahkan DNA kromosom dari DNA plasmid. Prinsip dasar metode ini adalah menghancurkan dinding sel tanpa merusak DNA yang hendak diisolasi, sehingga

penghancuran dinding sel biasanya dilakukan dengan bantuan buffer lisis. Komposisi buffer lisis yang digunakan disesuaikan dengan jenis sampel yang diolah.

b. Primer

Keberhasilan proses PCR sangat dipengaruhi oleh primer yang digunakan. Primer berperan sebagai penentu batas fragmen DNA target yang akan diamplifikasi serta menyediakan gugus hidroksi (-OH) pada ujung 3' yang dibutuhkan untuk sintesis DNA.

c. Buffer PCR

Buffer PCR yang digunakan disesuaikan berdasarkan nilai pH dan kapasitasnya. Secara komersial tersedia dua jenis buffer PCR, yaitu "buffer garam rendah" dengan (pH 8,75 kapasitas rendah), serta "buffer garam tinggi" dengan (pH 9,2 kapasitas tinggi). Untuk DNA target dengan panjang antara 0 dan 5 kilobase, biasanya digunakan "buffer garam rendah". Sebaliknya, untuk DNA target dengan panjang lebih dari 5 kilobase, digunakan "buffer garam tinggi".

d. Waktu

Panjang primer berpengaruh terhadap durasi proses annealing, di mana primer dengan panjang antara 18 hingga 22 basa memerlukan waktu sekitar 30 detik, sedangkan primer yang lebih dari 22 basa membutuhkan waktu hingga 60 detik. Tahapan denaturasi, annealing, dan ekstensi dalam proses amplifikasi DNA umumnya berlangsung antara 30 hingga 90 detik, tergantung pada jenis dan karakteristik templat DNA yang digunakan. Waktu reaksi yang terlalu lama berisiko merusak struktur templat DNA dan mengurangi efektivitas enzim DNA polimerase, sedangkan durasi yang terlalu singkat dapat menyebabkan proses denaturasi tidak berlangsung secara optimal.

e. Pewarnaan Bakteri

Pewarnaan merupakan tahapan krusial dalam pemeriksaan mikroskopis karena memungkinkan visualisasi bakteri secara lebih jelas, termasuk dalam hal ukuran, bentuk, serta struktur permukaan dan morfologi sel seperti dinding sel vakuola. Teknik pewarnaan gram secara khusus digunakan untuk mengklasifikasikan bakteri ke dalam dua kelompok utama, yaitu gram positif dan gram negatif, berdasarkan perbedaan struktur dan komposisi kimia dinding selnya. Proses ini melibatkan penggunaan

beberapa reagen pewarna, antara lain kristal violet (ungu), larutan iodin, alkohol sebagai zat peluntur, serta safranin sebagai pewarna kontras. Bakteri gram positif akan mempertahankan warna ungu setelah perlakuan dengan alkohol, sedangkan warna pada bakteri gram negatif akan hilang, sehingga pewarnaan kontras diperlukan untuk mewarnai sel tersebut, umumnya dengan pewarna merah seperti safranin.

Safranin merah adalah salah satu pewarna penutup yang paling umum untuk pewarnaan gram karena mudah larut dalam pelarut polar dan stabil dalam berbagai pH. Dalam penelitian ini, larutan alkohol 96% digunakan sebagai pengeksrak untuk mengekstrak zat warna dari sediaan bahan alam. Untuk mencapai hasil terbaik, digunakan kompleks kation kalium dengan zat warna, yang menunjukkan adanya ion bermuatan positif, yang memungkinkan zat warna untuk terikat pada bagian sel yang bermuatan negatif. Sel bakteri yang mengandung banyak asam nukleat dapat berikatan dengan pewarna basa yang bermuatan positif karena gugus posfat mereka membawa muatan negatif. (Virgianti, 2017).

2.4. Antibakteri

Antibakteri ialah zat yang dipakai untuk menghambat dan mematikan mikroorganisme patogen berdasarkan klasifikasi dari komponen seluler sehingga dapat mempengaruhi bakteri yang bersifat mematikan sel mikroba (bakterisida) serta menghambat pertumbuhan suatu mikroba (bakteriostatik) dengan menggunakan antibiotik (Greti M et al., 2020).

Antibiotik adalah obat yang digunakan untuk mengobati penyakit infeksi dengan membunuh atau menghentikan pertumbuhan mikroba penyebab infeksi (Adiana, 2022). Antibiotik dapat dihasilkan secara alami dan mempunyai kemampuan ketika menekan maupun menghentikan adanya proses biokimiawi terutama pada proses infeksi yang diakibatkan oleh mikroorganisme (Santoso et al, 2022).

2.5. Golongan Antibiotik

Golongan antibiotik terdiri dari:

1. Penisilin dengan mekanisme kerja : Penghambatan sintesis dinding sel mikroba dengan contoh obat Amoksisilin dan Ampisilin (Mariana et al., 2021)

2. Sefalosporin dengan mekanisme kerja: Menghambat dinding sel bakteri dengan mensintetis peptidoglikan pada sub unit digunakan untuk stabilitas mekanis dinding sel bakteri. Contoh obatnya Cefriaxon, Cefadroxil, Cefixim, Cefuroxim, dan Cefotaxim (Selifiana et al.,2023).
3. Aminoglikosida dengan mekanisme kerja: Mengikat sub unit 30S pada ribosom bakteri sehingga adanya ketidakcocokan antara kodon mRNA dengan *aminoacyl*-tRNA sehingga akan terjadi kesalahan translasi protein. Contoh obatnya adalah Streptomisin, neomisin, kanamisin, amikasin, gentamisin (Anggita et al., 2022).
4. Maklorida dengan mekanisme kerja: Menghambat sintesis peptide untuk mencegah produksi protein. Contoh obat Azitromisin, erytromisin, dan spiramycin (Anggita et al., 2022).
5. Kuinolon dengan mekanisme kerja: Mengikat enzim secara kompleks yang dapat menghambat proses replikasi dan menyebabkan kematian sel. Contoh obat Ciprofloxacin, moxifloxacin, dan levofloxacin (Anggita et al., 2022).
6. Fluoroquinolone dengan mekanisme kerja: Menghambat enzim *topoisomerase* II (DNA gyrase) dan *topoisomerase* IV yang dibutuhkan sel bakteri untuk proses replikasi DNA. Contoh obat Ciprofloxacin, Norfloxacin, Pefloxacin, dan Ofloksasin (Raini, 2017).
7. Tetrasiklin dengan mekanisme kerja: Menghambat sintesis protein dengan mengikat molekul tRNA yang dimuat dengan asam amino. Contoh obat Tetracycline, Oxytetracycline, dan Minocycline (Anggita et al., 2022).
8. Karbapenam dengan mekanisme kerja: Menghambat *polymerase* dan juga pelekatan peptidoglikan. Contoh obat Biapenem, ertapenem, dan doripenem (Dharmawan & Layanto, 2019).
9. Clindamycin dengan mekanisme kerja: Menghambat sintesis protein bakteri dengan menghambat ikatan peptide. Contoh obat Clindamycin (Novaryatiin, 2016).
10. Monobactam dengan mekanisme kerja: Menghambat sintesis dinding sel bakteri. Contoh obat Aztreonam (Anggita et al., 2022).

11. Sulfonamida dengan mekanisme kerja: Sulfonamida akan berkompetisi dengan PABA untuk pembentukan dihidrofolat yang akan menentukan bentuk suatu analog yang tidak aktif sehingga terjadinya penghambatan dalam pertumbuhan bakteri. Contoh obat Sulfadiazine, sulfathiazole, dan sulfamethoxazol (Sjahriani & Pattiyah, 2019)
12. Kloramfenikol dengan mekanisme kerja: Memblokir ikatan asam amino oleh tRNA sehingga dapat menghambat pertumbuhan sel bakteri contoh obat Kloramfenikol dan Thiamphenicol (Anggita et al., 2022).

2.6. Jamur

Jamur sudah banyak dikenal dengan nama *micromyces* yang merupakan jamur penghasil tubuh buah atau sporakarp besar dan dapat hidup di berbagai lingkungan (Sayuti et al, 2023). Jamur merupakan makrofungi nonfotosintetik yang khas dan memiliki tekstur berdaging bersifat *efigenous* atau *hypogenous* yang dapat dilihat secara makroskopik dengan mata telanjang (Oli et al., 2020).

Jamur merupakan salah satu sumber daya alam yang masih belum dimanfaatkan secara optimal, memiliki berbagai macam senyawa metabolit sekunder yang menunjukkan berbagai aktivitas biologis. Aktivitas tersebut meliputi sifat hepatoprotektif, anti-penuaan, antibakteri, antikanker, anti-HIV, antiinflamasi, antioksidan, antiparasit, serta antitumor. Oleh karena itu, jamur memiliki potensi terapeutik yang signifikan dan dapat dikembangkan lebih lanjut dalam bidang pengobatan (Gebreyohannes et al., 2023).

2.7. Antijamur atau Antifungi

Antijamur atau Antifungi dapat diartikan sebagai fungisidal dan juga fungistatik. Fungisidal merupakan suatu zat yang memiliki aktivitas dalam membunuh jamur sedangkan fungistatik salah satu senyawa yang bermanfaat dalam menghambat pertumbuhan jamur tanpa menyebabkan kematian (Herkamela, 2022).

2.8. Golongan Antifungi

Golongan obat antifungi atau antijamur terdiri dari beberapa golongan yaitu golongan azol, golongan poliena, golongan alilamin. Golongan antijamur bekerja pada dinding sel jamur dan antijamur golongan lainnya.

1. Golongan azol

Obat antijamur golongan azol adalah obat antifungi generasi pertama. Golongan azole bekerja dalam menghambat biosintesis ergosterol yang merupakan komponen paling penting untuk mempertahankan integritas sel jamur. Mekanisme kerja golongan azol adalah menghambat 14- α -demethylase atau enzim sitokrom P450 mikrosomal yang ada pada sel jamur dan akan mengakibatkan terjadinya gangguan permeabilitas membran untuk aktivitas enzim yang terikat pada membran, sehingga akan menghentikan terjadinya perkembangan sel jamur (Herkamela, 2022). Contoh obat golongan azol yaitu ketokonazol, klotrimazol, dan mikonazol (Sophia & Suraini, 2024).

2. Golongan Poliena

Golongan poliena memiliki aktivitas fungisida dan fungistatik. Mekanisme kerja golongan poliena adalah membentuk ikatan sitoplasma ergosterol pada sitoplasma jamur sehingga menyebabkan perubahan permeabilitas membran dan membentuk pori-pori intramembran yang menyebabkan jamur akan kehilangan inti sel yaitu ion dan molekul kecil sehingga jamur akan mati. Contoh obat ini adalah amfoterisin B, nistatin, dan natamisin (Yasir et al, 2023).

3. Golongan Alilamin

Golongan alilamin bekerja dengan cara menghambat sintesis ergosterol tetapi tidak melalui enzim sitokrom P450 dan bekerja dengan enzim *skualen epoksidase* yang akan menimbulkan efek toksik bagi jamur itu sendiri (Fernadya Sylvia, 2020). Golongan alilamin juga bekerja dalam penghambatan enzim skualen epoksidase yang terdapat pada membran sel jamur untuk menghambat proses biosintesis ergosterol. Skualen epoksidase adalah enzim yang berperan untuk mengkatalis reaksi enzimatik pertama pada proses sintesis ergosterol yang berpengaruh pada perubahan skualen epoksida sehingga mengakibatkan akumulasi skualen intraseluler abnormal dan

menyebabkan kekurangan ergosterol, contoh obat golongan ini yaitu, Terbinafine hidroklorida (Lamisil) (Rodiah & Fifendy, 2022).

4. Antifungi Yang Bekerja Pada Dinding Sel

Kandungan dinding sel yang terdapat pada jamur yaitu manno protein, chitin serta alfa, dan β -glucans yang berperan dalam memproteksi, dan melindungi morfologi sel, kekakuan sel, meningkatkan proses metabolisme, pertukaran ion, dan filtrasi. Contoh obat anti jamur golongan ini adalah produk echinocandins yang telah disetujui penggunaannya yaitu caspofungin, micafungin, dan anidulfungin (Rodiah & Fifendy, 2022).

Obat antijamur memiliki keterbatasan karena mudahnya menyebabkan terjadinya resistensi. Resistensi ini terjadi karena antijamur berikatan dengan ergosterol yang dapat menimbulkan resistensi. Selain itu, mempunyai efek samping yang besar, penetrasi yang dilakukan buruk akan berpengaruh pada jaringan didalamnya (Rodiah & Fifendy, 2022).

2.9. Resistensi Antibiotik

Resistensi adalah suatu kondisi dimana mikroba yang mengalami kekebalan terhadap antibiotik yang menyebabkan bakteri memiliki kemampuan dalam menahan efektifitas obat sehingga bakteri tidak mati setelah pemberian antibiotik karena obat tidak memberikan efek terapi (Mulatsari et al, 2023).

Resistensi antibiotik juga dapat terjadi karena kemampuan mikroba yang dapat berkembangbiak dan tidak dapat memberikan efek menghambat atau membunuh sehingga agen antimikroba tidak efektif (Kurnianto & Syahbanu, 2023).

2.10. Metode Uji Aktivitas Antimikroba

Uji aktivitas antimikroba merupakan langkah penting dalam mengevaluasi potensi senyawa atau ekstrak tumbuhan sebagai agen penghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen. Metode yang umum digunakan untuk uji ini adalah uji aktivitas antimikroba adalah sebagai berikut:

2.10.1. Metode Difusi Cakram

Metode difusi cakram merupakan salah satu teknik pengujian aktivitas antimikroba yang memanfaatkan cakram kertas sebagai media penyerap senyawa uji. Cakram kertas yang telah dijenuhkan dengan zat uji diletakkan di atas permukaan media yang telah diinokulasi dengan mikroorganisme uji, kemudian diinkubasi selama 18–24 jam pada suhu 37°C (Nurhayati et al., 2020). Metode ini juga digunakan untuk mengamati zona hambat yang terbentuk di sekitar cakram pada media yang jernih, yang mencerminkan efektivitas antimikroba dari senyawa yang diuji. Salah satu keunggulan dari metode ini adalah prosedurnya yang relatif cepat dan efisien (Intan et al., 2021).

2.10.2. Metode sumuran

Metode sumuran merupakan teknik pengujian antimikroba yang dilakukan dengan menggunakan media agar padat yang telah diinokulasi dengan mikroorganisme uji. Selanjutnya, dibuat lubang-lubang secara tegak lurus (sumuran) pada media tersebut, dengan jumlah dan posisi yang disesuaikan sesuai kebutuhan. Lubang tersebut kemudian diisi dengan sampel uji, dan seluruh media diinkubasi selama 24 jam. Setelah masa inkubasi, dilakukan observasi terhadap pertumbuhan mikroorganisme dengan cara mengamati zona bening yang terbentuk di sekitar sumuran, yang menunjukkan adanya aktivitas antimikroba dari sampel yang diuji (Nurhayati et al., 2020).

2.10.3. Metode Mikrodilusi

Metode mikrodilusi merupakan pengembangan dari metode dilusi cair yang menggunakan jumlah bakteri, media, dan zat uji dalam volume yang lebih sedikit serta menggunakan microplate dengan 96 well. Pengamatan dilakukan dengan menilai tingkat kekeruhan pada setiap sumur 96 well melalui pengukuran nilai kerapatan optik (optical density/OD) menggunakan alat microplate reader, yang berdasarkan pada nilai absorbansi. Uji efektivitas termasuk dalam metode kuantitatif dalam memperoleh data berupa nilai LC_{50} (*Inhibitor concentration 50%*) dan LC_{90} (*consentration 50%*). Efek penghambatan dapat ditentukan berdasarkan nilai LC_{50} dan LC_{90} semakin rendah nilai

yang dihasilkan akan sangat potensial juga aktivitas penghambatan pembentukan bakterinya (Rollando, 2019).

2.10.4. Metode SEM (*Scanning electron microscope*)

SEM merupakan metode yang digunakan untuk mengungkap ciri morfologi organisme yang telah diisolasi dan juga digunakan untuk diagnosis.

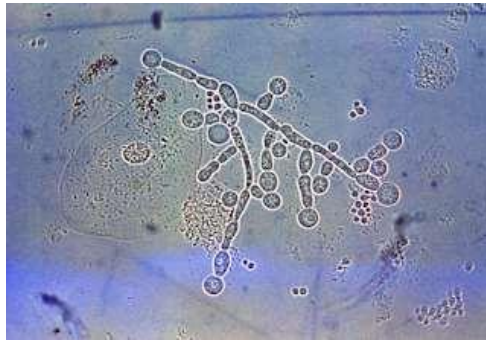
SEM merupakan salah satu jenis mikroskop elektron yang mampu menghasilkan gambaran spesimen dengan cara memindai objek menggunakan sinar elektron berenergi tinggi, bukan menggunakan cahaya, melalui pola pemindaian raster. Prinsip kerja dari Uji SEM adalah suatu alat yang dapat memproduksi sinar elektron yang kemudian akan mempercepat anoda sehingga lensa magnetic dapat memfokuskan elektron ke sampel. Sinar elektron akan berfokus pada pemindaian seluruh sampel sehingga elektron baru akan keluar dan diterima oleh detector pemindaian (Yu et al., 2021). Metode uji ini dapat digunakan untuk memindai dan mengurangi muatan untuk partikel kecil seperti struktur bakteri, jamur dan virus dengan pembesaran sampai 1000x konduktif (Golding et al., 2016).

2.11. Fungi Uji

2.11.1. *Candida albicans*

Candida albicans adalah salah satu organisme jamur yang biasa ditemukan didalam mukosa manusia dan hidup pada reservoir lingkungan tertentu. *Candida albicans* merupakan spesies penyebab infeksi oportunistik (Lopes & Lionakis, 2022).

Candida albicans merupakan spesies yang terdapat pada mukosa, gastrointestinal, dan vagina. *Candida albicans* termasuk mikroba patogen yang menyebabkan patologi terhadap individu imunokompeten dan imunokompromais, gangguan yang disebabkan oleh *Candida albicans* yaitu gangguan superfisial seperti saryawan neonatal, menyebabkan terjadinya infeksi yang luas berulang pada esofagus dan vagina sehingga berpengaruh pada morbiditas yang signifikan karena menyebabkan translokasi yang melintasi epitel dan penyebarannya melalui darah sehingga terjadi manifestasi klinik yang mengancam jiwa (Swidergall & Leibund Gut-Landmann, 2022).

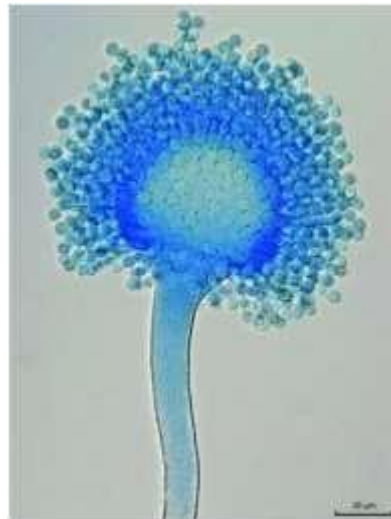


Gambar 2. 1 *Candida Albicans*

Sumber : <https://www.analislaboratoriummedik.com/2024/01/candida-albicans.html>

2.11.2. *Aspergillus flavus*

Aspergillus flavus merupakan jamur virulen tanaman juga agen aspergilosis invasive yang paling umum dan termasuk kedalam spesies flavi yang menghasilkan berbagai mitotoksin yang merugikan manusia (Cho et al., 2022). *Aspergillus flavus* adalah parasit fakultatif termasuk patogen oportunistik pada manusia yang menyebabkan penyakit aspergilosis. *Aspergillus flavus* menghasilkan aflatoksin yang merupakan metabolit sekunder poliketida bersifat karsinogenik dan mutagenik (Tian et al., 2022).



Gambar 2. 2 *Aspergillus flavus*

Sumber: <https://images.app.goo.gl/HSd7To3GGchokXsE8>

2.11.3. *Malassezia purfur*

Malassezia purfur merupakan flora normal bersifat lipofilik sering menyerang manusia dan berperan secara patogenik pada berbagai masalah yang terjadi pada

penyakit kulit seperti pytriasis, vesticolor, dermatitis seboroik, folikulitis, dermatitis atopic dan ketombe (Laokor & Juntachai, 2021).



Gambar 2. 3 *Malassezia purfur*

Sumber: <https://www.greeners.co/flora-fauna/malassezia-furfur-jamur-patogen-penyebab-ketombe-rambut/>

2.12. Antifungi

2.12.1. Ketokonazol

Ketokonazol merupakan agen antijamur yang digunakan dalam pengobatan berbagai infeksi yang disebabkan oleh fungi yang menyerang kulit dan membran mukosa. Senyawa ini termasuk dalam golongan azol dan bekerja dengan cara menghambat aktivitas enzim sitokrom P450 14 α -demetilase yang terdapat pada sel jamur. Hambatan terhadap enzim tersebut mengganggu proses biosintesis ergosterol, yaitu komponen esensial dalam membran sel jamur, sehingga menyebabkan kerusakan struktur dan fungsi membran sel fungi (Rizki & Panjaitan, 2018).

2.13. Bakteri Uji

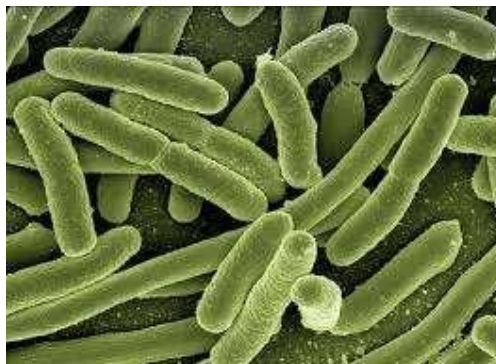
Pengujian dilakukan dengan menggunakan bakteri isolat klinis yang telah di isolasi dari pasien Infeksi saluran kemih (ISK) yang telah diidentifikasi spesies bakteri secara molekular.

2.13.1. *Escherichia coli* Isolat Klinis

Escherichia coli merupakan bakteri koliform yang tergolong dalam famili *Enterobacteriaceae*. Bakteri ini termasuk jenis enterik, yaitu mikroorganisme yang mampu hidup serta bertahan di dalam saluran pencernaan. *E. coli* memiliki morfologi berbentuk batang, bersifat gram negatif, dan tergolong sebagai bakteri fakultatif aerob.

Selain itu, bakteri ini tidak membentuk spora dan secara alami merupakan bagian dari flora normal yang terdapat di usus.

ISK umumnya disebabkan oleh *Escherichia coli*, khususnya strain uropathogenic *E. coli* (UPEC) yang berperan sebagai patogen utama. Proses infeksi diawali dengan kolonisasi bakteri pada permukaan epitel saluran kemih, yang kemudian diikuti oleh pembentukan biofilm. Struktur biofilm ini meningkatkan kemampuan bakteri dalam bertahan terhadap respon imun tubuh serta pengobatan dengan antibiotik. Selain itu, *E. coli* juga memiliki kapasitas untuk membentuk reservoir intraseluler, yang memungkinkannya untuk bertahan dalam jangka waktu lama dan memicu terjadinya infeksi berulang (Nasrollahian et al., 2024).



Gambar 2. 4 Bakteri *Escherichia coli* Isolat klinis

Sumber: <https://pixabay.com/id/images/search/escherichia%20coli/>

2.13.2. *Acetobakter baumannii* Isolat Klinis

Acinetobacter baumannii merupakan patogen oportunistik yang dikenal sebagai penyebab utama infeksi nosokomial, termasuk infeksi saluran kemih (ISK). Bakteri ini cenderung menimbulkan infeksi saluran kemih pada individu dengan kondisi tertentu, seperti penggunaan kateter urin jangka panjang, kondisi immunosupresi, atau pasien yang menjalani perawatan di unit perawatan intensif (Kyriakidis et al., 2021).



Gambar 2. 5 Bakteri *Acetobakter baumannii* Isolat klinis
Sumber : <https://www.shutterstock.com/id/image-illustration/bacterium-acinetobacter-baumannii-multidrug-resistant-nosocomial-572447728>

2.14. Antibiotik

2.14.1. Ciproloxacin

Ciproloxacin merupakan antibiotik yang termasuk kedalam golongan fluorokuinolon dan digunakan untuk menangani infeksi yang disebabkan oleh bakteri gram positif maupun gram negatif. Antibiotik ini memiliki spektrum kerja yang luas dan bekerja dengan cara menghambat aktivitas enzim DNA girase (topoisomerase II) serta topoisomerase IV. DNA girase terdiri atas subunit A, yang berfungsi dalam proses penyegelan ulang DNA, dan subunit B, yang berperan dalam pengelolaan superkoiling DNA untai ganda. Hambatan terhadap enzim ini menyebabkan kerusakan pada struktur DNA, termasuk degradasi DNA untai tunggal melalui mekanisme eks nukleolitik (Shariati et al., 2022).

2.15. Ekstraksi

Ekstraksi ialah proses dalam memisahkan zat dengan berdasar pada kelarutan terhadap dua cairan yang tidak dapat bercampur (Melwita & Oktaviani, 2020).

2.16. Maserasi

Maserasi adalah metode ekstraksi dengan cara dingin karena dilakukan di suhu 60° C. Metode ini sesuai untuk senyawa yang tidak tahan panas dan memang menghindari rusaknya senyawa yang terkandung didalamnya karena memiliki sifat termotabil. Proses ekstraksi ini memiliki keuntungan karena bisa dilakukan dengan peralatan yang cukup sederhana. Prinsip kerja dari metode ini dengan berdasar pada

larutan pengestraksi yang dapat menembus dinding sel lalu masuk dalam rongga sel hingga zat aktif akan menyebar serta larut dalam larutan ekstrak (Asworo & Widwastuti, 2023).

2.17. Fraksinasi

Fraksinasi merupakan suatu metode yang digunakan untuk memisahkan serta mengelompokkan senyawa kimia dalam suatu ekstrak berdasarkan tingkat kepolaran yang berbeda. Proses ini dilakukan dengan menggunakan beberapa jenis pelarut yang memiliki perbedaan tingkat kepolaran dan tidak saling bercampur, sehingga memungkinkan terjadinya pemisahan senyawa secara selektif (Ardiansyah & Ramayani, 2022).

2.18. Tinjauan Jamur kuping merah (*Auricularia auricula-judae*)

Jamur kuping merah (*Auricularia auricula-judae*) merupakan jamur yang biasa disebut sebagai kuping yahudi, jamur kayu dan kuping jeli (Zhao et al., 2019). Jamur yang kaya akan nutrisi seperti protein, unsur mikro, vitamin dan rendah lemak. Selain itu, jamur ini memiliki khasiat diantaranya antitumor, detoksifikasi, antikoagulan, hipoglikemik, yang baik dikonsumsi untuk menurunkan kolesterol (Li et al., 2021).

2.19. Klasifikasi Jamur Kuping Merah (*Auricularia auricula-judae*)

Jamur Kuping Merah adalah jamur dari genus *auricularia* yang dibudidayakan secara *artifisial* di cina (Mohammad et al., 2020) dan Jamur ini juga termasuk spesies dari kelas *Heterobasidiomycetes* (jelly fungi) (Triani et al., 2017). Saat ini Jamur Kuping Merah merupakan jamur budidaya terpenting keempat didunia setelah *agaricus bisoprus* (Okereke et al, 2022).



Gambar 2. 6 Jamur Kuping Merah (*Auricularia Auricula-Judae*)
(Dokumentasi Pribadi)

Taksonomi Jamur kuping merah (*Auricularia auricula-judae*) sebagai berikut:

Kingdom	: Mycetae
Divisi	: <i>Basidiomycota</i>
Kelas	: <i>Homobasidiomycetes</i>
Ordo	: Auricurales
Famili	: Auricularaceae
Genus	: <i>Auricularia</i>
Spesies	: <i>Auricularia auricula-judae</i>

2.20. Morfologi

Jamur Kuping Merah memiliki bentuk yang menyerupai telinga manusia, memiliki tekstur kenyal seperti jelly dan gelatin. Jamur ini memiliki warna coklat muda dan coklat tua ketika jamur sudah tua dengan tubuh buah yang licin dan halus. Jamur kuping merah memiliki diameter sekitar 2-15 cm dan dapat ditemukan pada kayu yang busuk atau sudah mati kemudian dapat menempel sehingga dapat melekat dengan tipe akar seperti rhizoid (Norfajrina et al., 2021).

2.21. Penggunaan Secara Empiris

Jamur kuping merah adalah jamur tradisional khas tiongkok yang biasanya dikonsumsi dan dimanfaatkan sebagai obat karena memiliki berbagai senyawa bioaktif

yang telah diyakini seperti membantu dalam menurunkan tekanan darah, antimikroba, antiinflamasi, mengurangi lemak didalam pembuluh darah, menghambat penginderaan kuorum bakteri, juga dapat digunakan dalam detoksifikasi dan memiliki karakteristik dalam peningkatan sistem kekebalan tubuh (Shan et al., 2019).

2.22. Kandungan Senyawa

Analisis fitokimia dari ekstrak Jamur kuping merah (*Auricularia auricula-judae*) memiliki senyawa bioaktif metabolit sekunder yaitu polisakarida, melanin, senyawa tannin, flavonoid (Veronica et al., 2020). Dan juga terdapat senyawa polifenol yang menunjukkan adanya saponin, fenol, glikosida dan juga mengandung senyawa fenolik seperti antioksidan (Islam et al., 2021).

2.23. Efek Farmakologi Jamur kuping merah

Jamur kuping merah secara empiris memiliki manfaat dalam kesehatan. Berdasarkan penelitian pada ekstrak Jamur terdapat efek antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan juga mencegah penghambatan pembentukan biofilm tanpa merusak sel *plaktonik* bakteri konsentrasi penghambatan bakteri uji adalah 50 µg/mL (Gebreyohannes et al., 2024). Selain itu, jamur ini juga memiliki aktivitas antioksidan kuat untuk menangkal radikal bebas yang ditentukan berdasarkan nilai konsentrasi penghambatan yaitu pada konsentrasi 50% kemudian memiliki efek antimikroba terhadap *Escherichia coli*, *Klebsiella Pneumoniae* dan *Staphylococcus aureus* (Gebreyohannes et al., 2024).

Berdasarkan penelitian sebelumnya jamur kuping merah (*Auricularia auricula-judae*) memiliki aktivitas sebagai antifungi pada *Mikrosporum gipsum* dan *Candida albicans* pada ekstrak jamur kuping merah pada konsentrasi 200.000 µg/mL dengan diameter penghambatan sebesar 10,03±0,32 dan 15,77±0,35. Selain itu, Jamur kuping merah memiliki KHM dan KFM 12.500 µg/mL untuk *Candida albicans* dan 6.250 µg/mL *Mikrosporum gipsum* (Sukmawati et al., 2024).