

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Penyakit Infeksi Bakteri

Infeksi merupakan kondisi yang disebabkan oleh masuk dan berkembangnya mikroorganisme patogen seperti bakteri, virus, fungi, atau parasit di dalam tubuh (Novard et al., 2019). Menurut (World Health Organization, 2015) di antara berbagai jenis penyakit infeksi, diare dan Infeksi Saluran Pernapasan Akut (ISPA) memang merupakan masalah kesehatan yang umum terjadi pada balita dan anak-anak. Diare umumnya disebabkan oleh infeksi bakteri, virus, atau parasit yang menginfeksi saluran pencernaan, menyebabkan keluarnya tinja cair dan sering. Infeksi Saluran Pernapasan Akut (ISPA) melibatkan infeksi pada saluran pernapasan, seperti hidung, tenggorokan, bronkus, dan paru-paru. Virus yang paling umum menyebabkan ISPA pada anak-anak adalah virus pernapasan seperti virus influenza, virus respiratori sincisial (RSV), dan lainnya.

1. Etiologi Infeksi Bakteri

Infeksi merupakan kondisi yang disebabkan oleh masuk dan berkembangnya mikroorganisme patogen seperti bakteri, virus, fungi, atau parasit di dalam tubuh. Penyakit infeksi terjadi ketika interaksi dengan mikroba menyebabkan kerusakan pada tubuh host dan kerusakan tersebut menimbulkan berbagai gejala dan tanda klinis. Mikroorganisme yang menyebabkan penyakit pada manusia disebut sebagai mikroorganisme patogen, salah satunya bakteri pathogen (Novard, 2019).

2. Patofisiologi Infeksi Bakteri

Penyakit infeksi merupakan penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme pathogen yang mungkin sangat dinamis. Sistem kontaminasi terjadi karena adanya interaksi antara gen atau unsur penyebab penyakit (bakteri) dengan manusia sebagai inangnya. Bakteri dapat masuk ke dalam tubuh melalui berbagai tempat, misalnya luka, hidung, mulut, atau mata. Saat terjadi infeksi bakteri, sistem kekebalan tubuh akan berusaha membunuh bakteri. Proses inilah yang kemudian menyebabkan demam, menggigil, lemas, dan tanda-tanda peradangan, seperti nyeri, bengkak, dan kemerahan (Novard, 2019).

2.2 Bakteri Uji

1. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus adalah bakteri aerob fakultatif gram positif dan patogen utama pada manusia. Sama dengan bakteri aerob fakultatif lainnya, *S. aureus* dapat tumbuh tanpa adanya oksigen baik melalui fermentasi atau dengan menggunakan akseptor elektron terminal alternatif, seperti nitrat. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa oksigen berperan dalam patogenesis *S. aureus*, baik dalam kapasitasnya untuk menghasilkan faktor virulensi maupun kemampuannya untuk bertahan dan tumbuh di lingkungan yang berbeda (Masalha et al., 2001)

Bakteri *Staphylococcus aureus* berbentuk bulat dengan diameter 0,7–1,2 μm , berkelompok tidak teratur seperti buah anggur, tidak membentuk spora, dan mungkin anaerob. Bakteri tersebut tumbuh paling baik pada 37°C, tetapi pada suhu kamar 20–25°C akan membentuk pigmen dengan warna abu-abu hingga kuning keemasan dengan koloni bundar, halus, menonjol, dan berkilau. Lebih dari 90% isolat klinik menunjukkan *S. aureus* dengan kapsul polisakarida atau selaput tipis, yang berkontribusi pada kemampuan bakteri untuk menyebar (Ely John Karimela, 2017). *S. aureus* merupakan salah satu penyebab Pada hidung dan kulit manusia, terdapat bakteri yang berkolonisasi sehingga dapat menyebabkan beberapa penyakit seperti infeksi kulit, endocarditis, bakteremia, pneumonia, meningitis, osteomyelitis, sepsis dan toxic shock syndrome (Rahmadani dkk., 2017).

2. MRSA (Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*)

Infeksi nosokomial yang paling umum disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap methicillin, juga dikenal sebagai MRSA, terdiri dari dua jenis: MRSA yang diperoleh di masyarakat (CAMRSA) dan MRSA yang diperoleh di rumah sakit (HAMRSA). MRSA dikaitkan dengan peningkatan angka kematian, durasi perawatan yang lebih lama, dan biaya perawatan yang lebih tinggi. Kolonisasi MRSA biasanya muncul sebelum infeksi dan bertanggung jawab secara signifikan atas penyebaran infeksi Untuk menghentikan resistensi dan mendapatkan hasil klinik yang baik, data sistematis tentang kejadian dan pola resistensi *Staphylococcus aureus* diperlukan. Pola resistensi juga berubah dari waktu ke waktu. MRSA prevalensi dan hasil penggunaan antibiotik (Nuryah dkk., 2019).

3. *Escherichia coli*

Escherichia coli adalah bakteri anaerob fakultatif, yaitu mampu tumbuh di lingkungan aerobik dan anaerobik. Untuk melakukan hal tersebut, sel harus mampu beradaptasi terhadap perubahan (Von Wulffen et al., 2016)

Di dalam saluran pencernaan mamalia, *Escherichia coli*, bakteri batang gram negatif, dapat menjadi patogen saat meningkat atau berada di luar saluran pencernaan. *e coli* menghasilkan enterotoksin, yang dapat menyebabkan diare atau infeksi saluran kemih Menurut (V Niranjan, 2014).

4. *Escherichia coli* Isolate Klinis

Bakteri batang gram negatif *Escherichia coli* ditemukan di saluran pencernaan mamalia. Apabila jumlah flora normal meningkat atau berada di luar saluran pencernaan, mereka dapat menjadi patogen. *e.coli* menghasilkan enterotoksin, yang dapat menyebabkan diare atau infeksi saluran kemih. Bakteri isolat klinik, yang berasal dari sampel urine pasien Ini dapat dicapai dengan menumbuhkannya dalam media padat, di mana sel-sel mikroba akan membentuk koloni sel yang tetap (V Niranjan, 2014).

a. Gen 16S RrNA

Proses untuk mengidentifikasi bakteri menggunakan metode 16S rRNA mencakup ekstraksi DNA, amplifikasi wilayah 16S menggunakan PCR, visualisasi gen melalui elektroforesis, sekuensing, dan pemrosesan data sekuens menggunakan bioinformatika. Penggunaan penanda gen 16S rRNA adalah salah satu pendekatan yang paling umum digunakan untuk mengidentifikasi bakteri. Urutan gen ini memiliki panjang sekitar 1.550 bp dan terdiri dari wilayah yang dilestarikan (conserved). Salah satu keunggulan identifikasi menggunakan 16S rRNA adalah bahwa itu dapat mengidentifikasi bakteri yang tidak dikultur dengan cepat, sangat akurat, dan dalam waktu yang relatif singkat. Meskipun metode 16S rRNA memiliki banyak kelebihan, ada juga kelemahan. Salah satu kelemahan metode ini adalah bahwa itu tidak dapat digunakan untuk spesies tertentu (Noer, 2021).

Keunggulan gen 16S rRNA adalah memungkinkan untuk mengidentifikasi jenis bakteri. Metode ini menemukan 99% kemiripan antar spesies. Kesamaan yang

ditemukan juga dibagi menjadi dua kelompok: sangat tinggi kesamaan dan sangat luas kesamaan. Dengan menggunakan metode gen 16S rRNA, genus dianggap mirip dengan jika kemiripannya sebesar 97%, dan suatu spesies dianggap jika kemiripannya sebesar 99%. Karena akurasi yang tinggi dan waktu identifikasi yang singkat, gen 16S rRNA sangat cocok untuk digunakan dalam penelitian (Akihary and Kolondam, 2020).

b. Isolasi DNA

Proses mengekstrak DNA dari bakteri adalah inti dari isolasi DNA. Isolasi DNA terdiri dari beberapa langkah: isolasi sel, pelarutan dinding sel dan membran sel, ekstraksi dalam larutan, pembersihan, dan elusi. Setelah itu, ekstrak sel dimurnikan untuk menghasilkan pelet sel yang mengandung semua DNA. Dalam proses identifikasi gen 16S rRNA, dua proses pemisahan DNA digunakan: sentrifugasi dan presipitasi (Faatih, 2009). Fungsi utama sentrifugasi adalah membedakan zat berdasarkan kepadatan molekulnya. Isolasi DNA adalah tahap pertama yang harus dilakukan sebelum melanjutkan ke tahap berikutnya dalam proses. Dengan hasil elektroforesis yang baik, DNA kromosom dapat diperoleh dengan kemurnian yang cukup tinggi jika prosedur dilakukan dengan benar. Kemurnian DNA plasmid ditentukan oleh ketelitian dan keakuratan penelitian (Faatih, 2009).

Isolasi DNA adalah salah satu metode dasar biologi molekuler yang dapat dilanjutkan menjadi studi mendalam tentang informasi genetik organisme. DNA disimpan dalam bentuk basa nukleotida, yang terdiri dari adenin (A), guanin (G), sitosin (C), dan timin (T). Setiap urutan nukleotida mengandung informasi genetik yang bertanggung jawab atas perkembangan dan pengaturan organisme hidup (Widyastuti, 2011). Metode isolasi DNA terdiri dari tiga fase utama: penghancuran jaringan atau sel. Tahap pertama bertujuan untuk menghilangkan isi sel. Penggilingan dapat dilakukan secara fisik, seperti pembekuan, pencairan, homogenisasi dalam ball mill, atau penggilingan dalam nitrogen cair. Selain itu, sel dapat dilisis secara kimiawi atau melalui proses enzimatik. Biasanya, achromopeptidase, pronase E, proteinase K, dan lisozim digunakan dalam lisis enzimatik (Widyastuti, 2011).

Ekskresi DNA adalah proses yang dimaksudkan untuk membedakan asam nukleat dari bagian lain yang membentuk sel. Reagen yang mengandung deterjen (seperti SDS atau Sarkosyl), larutan yang mengandung natrium klorida, dan berbagai jenis buffer (biasanya dengan pH 7 atau 8) dapat digunakan untuk mengekstraksi. Pada fase ini, berbagai perubahan umum dilakukan. Ini termasuk inkubasi pada suhu tinggi, penambahan fenol atau kloroform, dan penggunaan bahan pengkelat seperti EDTA, yang dapat menghentikan enzim nuklease. Pengendapan DNA: Proses ini dilakukan dengan tujuan untuk membedakan DNA dari campuran yang digunakan untuk ekstraksi. Menggunakan etanol dingin bersama dengan natrium klorida yang masih ada dalam ekstrak dapat mengendapkan DNA. Untai DNA berwarna putih dihasilkan dari presipitasi DNA (Widyastuti, 2011).

Identifikasi mikroorganisme sangat penting dalam bidang mikrobiologi. Ini berkaitan dengan pengobatan yang tepat, pencegahan penularan, mencegah resistensi antimikroba, dan eksplorasi senyawa aktif. Secara tradisional, metode kultur digunakan untuk menemukan mikroorganisme penyebab penyakit menular. Kemudian, sifat fisiologis dan biokimianya diperiksa. Metode ini tidak membutuhkan banyak waktu. Selain itu, beberapa mikroorganisme, seperti mikobakteri dan virus tertentu, tidak mudah dibudidayakan. Saat ini, metode identifikasi berbasis molekuler yang lebih cepat sedang dikembangkan yang memiliki tingkat sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi. Gen pengkode RNA ribosom (rRNA) adalah gen yang paling terkonservasi atau dilestarikan, menurut analisis sekuens gen 16S rRNA (Rinanda, 2011). Untuk mengidentifikasi spesies bakteri, daerah gen RNA ribosom (rRNA) yang hipervariabel membantu. Wilayah hipervariabel gen 16S rRNA berukuran 500 basa dan panjangnya sekitar 1.550 pasangan basa. Organisasi dapat membedakan satu sama lain dalam hal ini. Untuk amplifikasi sekuens, primer mengidentifikasi area yang dilestarikan dan memperkuat area hipervariabel. Ini menghasilkan sekuens yang khusus untuk organisme (Akihary and Kolondam, 2020). Dua keunggulan analisis 16S rRNA dibandingkan dengan metode konvensional adalah waktu identifikasi yang singkat dan tingkat akurasi yang tinggi. Selain itu, ukurannya yang besar (1.500

pb) dianggap menguntungkan untuk aplikasi informatika, menurut Janda & Abbott (2007). Gen 16S rRNA memiliki kemampuan untuk mengidentifikasi kesamaan spesies bakteri. Hubungan filogenetik antar spesies bakteri dapat diidentifikasi karena setiap spesies memiliki gen 16S rRNA. Hasil dari rangkaian digunakan untuk memeriksa dan membedakan urutan dalam berbagai database. Metode yang paling populer adalah Alat Pencarian Penyelarasan Lokal Dasar (BLAST). Pusat Informasi Bioteknologi Nasional (NCBI) telah menggabungkan ribuan rangkaian dari berbagai isolat lingkungan dan klinis ke dalam database yang dapat diakses melalui server sumber data tambahan yang dapat digunakan: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. DNA, juga dikenal sebagai asam nukleat deoksiribosa, adalah sekumpulan molekul asam nukleotida yang menentukan bentuk dan karakteristik semua makhluk hidup. Ini biasanya berbentuk heliks ganda dan bertanggung jawab atas perkembangan biologis semua bentuk kehidupan seluler melalui instruksi genetic yang menentukan.

c. 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.

Menurut Handoyo & Rudiretna (2002), proses PCR terdiri dari beberapa tahap, yaitu (1) pra-denaturasi DNA templat; (2) denaturasi DNA templat; (3) penempelan primer pada templat (annealing); (4) pemanjangan primer (ekspansi) dan (5) pemantapan (post-ekspansi). Pada tahap kedua dan keempat terjadi tahap berulang, atau siklus, di mana jumlah DNA yang sama diduplikasi pada setiap siklus. Komponen-komponen yang disebutkan di bawah diperlukan untuk melakukan proses PCR. Di bagian

2.3 Antibakteri

Antibakteri adalah senyawa yang digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri yang bersifat merugikan. Pengendalian pertumbuhan mikroorganisme bertujuan untuk mencegah penyebaran penyakit dan infeksi, membasmi mikroorganisme pada inang yang terinfeksi (Sulistyo, 2017).

1. Golongan Antibiotik

Berdasarkan mekanisme kerjanya terhadap bakteri, antibiotik dikelompokkan sebagai berikut:

a. Inhibitor Sintesis Dinding Sel Bakteri

Memiliki efek bakterisidal dengan cara memecah enzim dinding sel dan menghambat enzim dalam sintesis dinding sel. Contohnya antara lain golongan β -Laktam seperti penisilin, sefalosporin, karbapenem, monobaktam, dan inhibitor sintesis dinding sel lainnya seperti vancomycin, basitrasin, fosfomycin, dan daptomycin.

b. Inhibitor sintesis protein bakteri

Memiliki efek bakterisidal atau bakteriostatik dengan cara mengganggu sintesis protein tanpa mengganggu sel-sel normal dan menghambat tahap-tahap sintesis protein. Obat-obat yang aktivitasnya menghambat sintesis protein bakteri seperti aminoglikosida, makrolida, tetrasiklin, streptogamin, klindamisin, oksazolidinon.

c. Mengubah Permeabilitas Membran Sel

Memiliki efek bakteriostatik dengan menghilangkan permeabilitas membran dan oleh karena hilangnya substansi seluler menyebabkan sel menjadi lisis. Obat-obat yang memiliki aktivitas ini antara lain polimiksin, amfoterisin B, gramisidin, nistatin, kolistin.

d. Menghambat Sintesa Folat

Mekanisme kerja ini terdapat pada obat-obat seperti sulfonamida dan trimetoprim. Bakteri tidak dapat mengabsorpsi asam folat, tetapi harus membuat asam folat dari PABA (asam paraaminobenzoat), pteridin, dan glutamat. Sedangkan pada manusia, asam folat merupakan vitamin dan kita tidak dapat menyintesis asam folat. Hal ini menjadi suatu target yang baik dan selektif untuk senyawa-senyawa antimikroba.

e. Mengganggu Sintesis DNA

Mekanisme kerja ini terdapat pada obat-obat seperti metronidazol, kuinolon, novobiosin. Obat-obat ini menghambat Asam Deoksiribonukleat (DNA) girase sehingga menghambat sintesis DNA. DNA girase adalah enzim yang terdapat pada bakteri yang menyebabkan terbukanya dan terbentuknya superheliks pada DNA sehingga menghambat replikasi DNA (Kemenkes RI, 2011).

2.4 Tinjauan Jamur Kuping Hitam (*Auricularia nigricans*)

Jamur kuping hitam (*Auricularia nigricans*) adalah salah satu jenis jamur yang banyak dikonsumsi sebagai makanan karena mengandung banyak serat. Jamur jelly hitam juga banyak ditemukan di wilayah tropis, termasuk Indonesia (Liana et al., 2015).



Gambar 1.1 Jamur kuping hitam (*Auricularia nigricans*)

1. Klasifikasi Jamur Kuping Hitam (*Auricularia nigricans*)

Klasifikasi jamur kuping hitam sebagai berikut (Stamets et al., 2015).

Kingdom : Fungi

Divisi : Basidiomycotina

Class : Heterobasidiomycetes

Ordo : Auriculariales

Familia : Auriculariaceae

Spesies : *Auricularia nigricans* (Sw.) Birkebak, looney & Sanchez-Garcia

2. Morfologi Jamur Kuping Hitam (*Auricularia nigricans*)

Jamur kuping hitam adalah salah satu jenis jamur kuping yang sering menempel pada kayu yang telah lapuk atau pokok kayu yang cukup basah. Jamur kuping hitam (*Auricularia nigricans*) memiliki kuping tubuh bertangkai pendek dan tekstur lunak.

seperti jelly. Mereka tumbuh menempel pada substrat dengan membuat lubang di permukaannya. Selama musim hujan, kulit jamur kuping hitam seperti beludru berlendir, dan pada musim kemarau, kulitnya tampak mengkerut. Jamur kuping hitam (*Auricularia nigricans*) berdiameter 6-10 cm dan tebal 0,1-0,2 cm. Tubuhnya basah, bersifar gelatinous (kenyal), licin, lentur, dan berubah melengkung agak kaku ketika kering. Jamur kuping hitam yang telah kering akan mengecil dari ukuran aslinya, tetapi Ketika kontak dengan air akan akan menyerap (rehidrat) dan membesar kembali (Liana et al., 2015).

3. Penggunaan Secara Empiris Jamur Kuping Hitam

Kekayaan alam Indonesia sangat melimpah, dan ada banyak tanaman yang dapat digunakan untuk pengobatan berbagai penyakit. Jamur adalah tumbuhan heterotop yang tingkatnya rendah. Jamur kuping hitam (*Auricularia nigricans*) adalah salah satu jenis jamur yang banyak dimakan karena mengandung banyak serat. Jamur ini sangat populer di wilayah tropis, termasuk Indonesia (Irawati, 2012).

Berdasarkan beberapa penelitian menunjukkan bahwa jamur kuping hitam mengandung beberapa bahan kimia yang dapat mencegah dan mengobati penyakit serta berbagai nutrisi yang diperlukan tubuh. Jamur kuping hitam memiliki banyak efek farmakologi. Ini termasuk menekan agregasi platelet (anti agregasi platelet), memodulasi fungsi sistem kekebalan (imunomodulator), memiliki efek antioksidatif, dan memiliki aktivitas antitumor (Mengyao, 2009).

4. Kandungan Kimia Jamur Kuping Hitam

Jamur kuping memiliki kandungan gizi seperti protein, lemak, karbohidrat, riboflavin, niacin, Ca, K, P, Na, dan Fe. Namun, secara organoleptik (rasa, aroma, dan penampilan) jamur tersebut kurang menarik saat dimasak. Namun, jamur kuping sudah dikenal sebagai penetral racun dan pengental makanan. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Liana et al. (2015), lendir jamur kuping dianggap memiliki kemampuan untuk menetralkan senyawa berbahaya (racun) yang ada dalam makanan. Simplisia dan ekstrak etanol jamur kuping mengandung senyawa aktif seperti flavonoid alkaloid, fenolik/hidrokuinon, monoterpen, dan kuitenpen.

5. Efek Farmakologi Jamur Kuping Hitam

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Liana et al. (2015), ekstrak etanol dan simplisia jamur kuping hitam mengandung flavonoid. Flavonoid diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang terkait dengan kemampuan mereka untuk menurunkan kadar glukosa darah. Selain itu, flavonoid diyakini dapat melindungi sel beta pankreas sebagai penghasil insulin dari kerusakan serta dapat meningkatkan sensitivitas insulin (Sasmita dkk., 2017).

2.5 Metode Uji Aktivitas Antibakteri

Metode difusi dan pengenceran dapat digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri. Diantaranya sebagai berikut:

1. Metode Difusi Agar

a. Metode Cakram Kertas

Metode difusi cakram digunakan untuk mengukur aktivitas antimikroba diukur dengan metode difusi cakram. Kertas cakram direndam dalam larutan ekstrak selama lima belas menit untuk memastikan ekstrak menyerap sepenuhnya ke dalam kertas cakram. Setelah itu, kertas cakram diletakkan pada media yang telah ditanami oleh bakteri. Test daya hambat bakteri ditunjukkan dengan timbulnya zona bening pada permukaan media (Fitri Sri Rizki, 2020).

b. Metode Lubang (Perforasi)

Perforasi sumur adalah teknik pembuatan lubang pada formasi dengan menggunakan bor untuk membuat jalur penghubung untuk aliran fluida dari lubang bor menuju formasi. Setelah proses perforasi selesai, evaluasi dilakukan untuk mengetahui hasil dari perforasi, baik atau kurang maksimal dari perforasi, dari produktivitas sumur. Untuk produktivitas sumur yang efektif, hasil dari lubang yang dibor harus lebih baik (Li, B., Sun, D.Gladkikh, M & Wu, 2012).

2. Metode Dilusi

a. Metode Dilusi Cair/*Broth Dilution Test (Serial Dilution)*

Metode ini menggunakan pengukuran MIC atau KHM, serta MBC (konsentrasi bakteri minimum) atau KBM (kadar bunuh minimum). Prosesnya dimulai dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair sebelum mikroba uji ditambahkan. Larutan uji agen antimikroba pada kadar terkecil yang terlihat

jernih tanpa pertumbuhan mikroba uji disebut sebagai KHM. Larutan ini selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa menambah mikroba uji atau agen antimikroba, dan kemudian diinkubasi selama 18 hingga 24 jam (Pratiwi, 2008).

b. Metode Dilusi Padat/*Solid Dilution Test*

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

3. Metode Mikrodilusi

a. Pengenceran Tabung

Merupakan metode dimana zat yang diuji, disuspensikan dalam media yang cocok dengan menggunakan tabung steril. Ke dalam tabung dimasukkan pembenihan cair, dalam tabung pertama ditambahkan suspensi zat uji, kemudian dikocok dan dipindahkan sebanyak 1 mL ke dalam tabung kedua dan seterusnya sampai tabung terakhir. Ke dalam tiap tabung ditambahkan 0,1 mL suspensi mikroba uji yang telah di inkubasi sebelumnya. Satu tabung untuk kontrol pembenihan dan satu tabung untuk mikroba uji, kemudian inkubasi pada suhu kamar 25°C selama 24-72 jam untuk jamur dan inkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam untuk bakteri (CLSI, 2018)

b. Pengenceran agar

Merupakan metode dimana zat yang akan diuji dicampurkan dengan agar steril yang masih mencair pada suhu 45-50°C sampai homogen dalam cawan petri steril dan dibiarkan memadat. Mikroba dioleskan pada permukaan agar dengan ose secara merata. Konsentrasi hambat minimum ditandai dengan tidak tumbuhnya bakteri pada permukaan agar konsentrasi tertentu hasil pengenceran (CLSI, 2018)

c. Mikrodilusi

Merupakan metode dengan menggunakan sejumlah volume kecil broth pada mikropate yang memiliki well berbentuk bulat atau kerucut. Setiap well dapat diisi sebanyak 0,1 mL broth. Pengujian dilakukan dengan menyiapkan larutan uji yang telah dilakukan pengenceran dan mikroba uji. Pengenceran larutan uji dan suspensi mikroba dicampur dan di inkubasi pada suhu kamar 25°C selama 24-72 jam untuk jamur dan pada suhu 37°C selama 12-24 jam untuk bakteri (CLSI, 2018)