

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Penggunaan obat antimikroba yang tidak sesuai dapat menyebabkan berkembangnya bakteri yang resisten. Perkembangan bakteri yang resisten adalah masalah beragam dapat membentuk suatu yang kompleks pada penggunaan obat antimikroba yang menggunakannya (Billater, 2016).

Obat antimikroba tidak hanya mempengaruhi individu yang mengomsumsinya tetapi juga dapat menyebar ke orang lain, baik melalui kontak langsung maupun lingkungan yang terkontaminasi. Ketika mikroorganisme menjadi resisten, obat antimikroba menjadi tidak efektif dalam memerangi infeksi yang disebabkan oleh bakteri (Billater, 2016).

Resistensi antibiotik dapat didefinisikan sebagai kemampuan bakteri, untuk bertahan hidup dan berkembang biak dalam kehadiran dosis antibiotik yang akan membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme tersebut. Dengan kata lain, resistensi antibiotik terjadi ketika bakteri yang rentan terhadap antibiotik mengalami perubahan genetik yang membuatnya tidak lagi rentan atau sensitif terhadap obat tersebut (Ayobami, 2022).

Faktor-faktor yang berkontribusi terhadap resistensi antibiotik termasuk penggunaan antibiotik yang berlebihan atau tidak tepat, tidak selesai menjalankan pengobatan antibiotik, dan penggunaan antibiotic Contoh resistensi yang didapat ialah *Pseudomonas aeruginosa* resisten terhadap *ceftazidin*, *ciprofloxacin* (Ayobami, 2022).

Pseudomonas aeruginosa merupakan salah satu bakteri yang bersifat oportunistik. Sifat oportunistik mengacu pada kemampuan bakteri, untuk menyebabkan infeksi atau penyakit pada individu yang memiliki sistem kekebalan tubuh yang lemah

atau pada kondisi yang memungkinkan untuk berkembang biak dan menyebabkan penyakit (Mayasari, 2005).

Pseudomonas aeruginosa secara alami resisten terhadap berbagai antimikroba. Kebanyakan antibiotika tidak efektif terhadap kuman ini (Weinstein, 1992). *Pseudomonas aeruginosa* meningkat secara klinik karena resisten terhadap berbagai antimikroba dan memiliki kemampuan untuk mengembangkan tingkat *Multi Drug Resistance* (MDR) yang tinggi, termasuk pada penisilin dan sefalosporin generasi pertama dan kedua, tetrasiklin, kloramfenikol, dan makrolid. Patogen dengan MDR dapat menyebabkan *morbidity*, *mortality*, dan meningkatnya biaya (Rosana, 2007). Infeksi klinis oleh *Pseudomonas aeruginosa* sebaiknya tidak diterapi dengan obat tunggal, karena biasanya sulit sembuh dan bakteri dapat dengan cepat menjadi resisten jika menggunakan obat tunggal.

Penelitian resistensi dan sensitivitas bakteri terhadap antibiotik di RSUD dr. Soedarso Pontianak Tahun 2011-2013 didapatkan 21 jenis bakteri dari seluruh sampel yang diperiksa, *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri nomor dua dengan persentase 17,1% yang terbanyak setelah *Citrobacter freundii* (18%) (Nurmala, 2015). *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri terbanyak kedua yang resisten 100% terhadap amoksisilin/asam klavulanat, sefadroksil, sefuroksim, sefaleksin, klindamisin, eritromisin, kanamisin, linkomisin, neomisin, nitrofuratoin, oksasilin, pefloksasin, pipemedic acid, tetrasiklin, tikarsilin, sefepim, furazolidon, metronidazo (Nurmala, 2015). Terdapat 14 jenis antibiotik yang diteliti kurang dari 50% resisten terhadap *Pseudomonas aeruginosa* seperti ciprofloxacin, ampisilin, eritromisin, amoksisilin, sefuroksim, seftriakson, gentamisin, tetrasiklin, sefadroksil, piperasilin, trimetroprim, tobramisin, kotrimoksazol, nalidiksida, sulfonamid kompleks (Prambudi, 2013).

Antibakteri adalah suatu agen yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri atau membunuh bakteri. Zat-zat antibakteri dapat berasal dari berbagai sumber, termasuk senyawa yang ditemukan dalam tanaman dan senyawa yang dibuat secara sintesis. Senyawa-senyawa alami yang ditemukan dalam tanaman sering memiliki sifat antibakteri. Contohnya, beberapa tumbuhan menghasilkan senyawa-senyawa seperti alkaloid, flavonoid, atau terpenoid yang telah terbukti memiliki aktivitas antibakteri. Kulit lidah buaya mengandung senyawa kompleks dan diduga mempunyai aktivitas antibakteri. Berdasarkan penelitian sebelumnya (Ariyanti, 2012) ekstrak kulit lidah buaya telah diketahui mempunyai aktivitas antibakteri. Ekstrak kulit lidah buaya efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 25922.

Aktivitas antibakteri dapat diuji dengan teknik untuk mengukur seberapa besar potensi atau konsentrasi suatu senyawa dapat memberikan efek bagi mikroorganismenya. Uji aktivitas antibakteri dilakukan untuk dapat mengetahui sejauh mana aktivitas suatu bakteri terhadap antibakteri. Salah satu metode pengujian aktivitas bakteri adalah metode difusi cakram Kirby-Bauer (Brock, 1991).

Berdasarkan uraian di atas peneliti ingin melakukan pengujian aktivitas antibakteri ekstrak kulit lidah buaya (*Aloe vera Linn*) terhadap Bakteri Multidrug Resistant *Pseudomonas aeruginosa*

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, maka rumusan masalah pada penelitian ini yaitu bagaimana aktivitas antibakteri ekstrak kulit lidah buaya (*Aloe vera Linn*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa*?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Tujuan umum dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak kulit lidah buaya (*Aloe vera Linn*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri Multidrug Resistant *Pseudomonas aeruginosa*.

1.3.2. Tujuan Khusus

Tujuan khusus yang ingin dicapai dalam penelitian ini adalah:

1. Mengukur diameter zona hambat ekstrak etanol kulit lidah buaya (*Aloe vera Linn*) dengan konsentrasi 10%, 20%, dan 30% terhadap pertumbuhan bakteri Multidrug Resistant *Pseudomonas aeruginosa*.
2. Mengetahui kandungan senyawa aktif yang terdapat didalam ekstrak etanol kulit lidah buaya (*Aloe vera Linn*) dengan uji LC-MS dan dilanjutkan *moleculer docking*.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Pengemban Ilmu

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi referensi, menambah wawasan dan ilmu pengetahuan tentang manfaat ekstrak kulit lidah buaya (*Aloe vera Linn*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa*.

1.4.2. Manfaat Aplikatif

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi informasi dan referensi tentang manfaat ekstrak kulit lidah buaya (*Aloe vera Linn*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Lidah Buaya (*Aloe vera Linn*)

2.1.1. Pengertian Lidah Buaya (*Aloe vera Linn*)

Lidah buaya (*Aloe vera Linn*) merupakan tumbuhan yang berasal dari Afrika, tanaman tersebut dapat dijumpai dimana mana, baik daerah panas atau dingin, dan didaratan tinggi maupun daratan rendah. Oleh sebab itu, tanaman ini dapat ditanam didalam pot dan disimpan diteras depan rumah sebagai tanaman hias (Noordia & Nurita, 2018). Lidah buaya mendapatkan namanya dari kata Arab "Alloeh" yang berarti "zat pahit yang bersinar" karena cairan pahit yang ditemukan di daun dan Vera yang berarti "benar" dalam bahasa Latin. Lidah buaya mampu dengan mudah tumbuh di daerah tropis dengan lahan berpasir dan memiliki sedikit air serta juga memiliki pertumbuhan yang mudah dan cepat. Lidah buaya juga mempunyai potensi untuk dikembangkan sebagai tanaman obat, serta bahan baku industri. Seiring dengan kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi, pemanfaatan tanaman lidah buaya berkembang sebagai bahan baku industri farmasi dan kosmetika, serta sebagai bahan makanan dan minuman kesehatan (Wibowo, 2016)

Terdapat beberapa jenis Aloe yang umum dibudidayakan, yaitu Aloe sorocortin yang berasal dari Zanzibar, Aloe barbadensis Miller, dan Aloe vulgaris. Namun lidah buaya yang saat ini dibudidayakan secara komersial di Indonesia adalah Aloe barbadensis Miller atau yang memiliki sinonim *Aloe vera Linn* (Suryowidodo, 1988). Tanaman ini ditemukan Phillip Miller, seorang pakar botani Inggris pada tahun 1768.

Tanaman lidah buaya termasuk semak rendah, tergolong tanaman yang bersifat sukulen dan menyukai hidup ditempat kering. Batang tanaman pendek, mempunyai daun yang bersap-

sap melingkar (roset). Panjang daun 40-90cm, lebar 6- 13cm dengan ketebalan lebih kurang 2,5cm dipangkal daun, serta bunga berbentuk lonceng. Batang ini berserat dan berkayu, pada umumnya sangat pendek dan hampir tidak terlihat karena tertutup oleh daun yang rapat dan sebagian terbenam didalam tanah. Tumbuhan ini panjang pohonnnya 3-5m (Purbaya, 2003).

2.2. **Klasifikasi Lidah Buaya (*Aloe vera Linn*)**

Klasifikasi lidah buaya (*Aloe vera Linn*) adalah sebagai berikut :

(Depkes RI, 2008 dalam Sahputri 2019)

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Angiospermae
Bangsa	: Monocotyledoneae
Family	: Liliales
Ordo	: Liliaceae
Marga	: Aloe
Spesies	: <i>Aloe vera Linn.</i>

2.2.1. **Morfologi Lidah Buaya (*Aloe vera Linn*)**

Batang lidah buaya (*Aloe vera Linn*) berukuran pendek dan tidak terlihat karena tertutup oleh daun-daun yang rapat dan sebagian terbenam juga di tanah. Lidah buaya (*Aloe vera Linn*) yang bertangkai panjang juga muncul dari batang melalui celah celah. Batang lidah buaya (*Aloe vera Linn*) juga dapat distek untuk proses pembiakan tanamaan (Arifin, 2015).

Daun tanaman lidah buaya (*Aloe vera Linn*) berbentuk pita dengan helaian yang memanjang. Bentuk daunnya menyerupai pedang dengan ujung meruncing, permukaan daun dilapisi lilin tepi

daunnya bergerigi dan memiliki tonjolan-tonjolan kecil di sepanjang tepiannya. Struktur ini membantu mengurangi penguapan air dan melindungi tanaman dari pemangsa. Panjang daun lidah buaya (*Aloe vera Linn*) dapat mencapai 50-70 cm, dengan berat 0,5 kg-1kg.

Bunga Lidah buaya (*Aloe vera Linn*) menghasilkan bunga yang tumbuh dari tangkai panjang yang muncul dari pusat roset daun. Bunga-bunga ini biasanya berwarna kuning atau oranye, dan muncul dalam kelompok di ujung tangkai. Bunga biasanya muncul bila lidah buaya (*Aloe vera Linn*) ditanam di pegunungan, sedangkan di dataran rendah, tanaman lidah buaya (*Aloe vera Linn*) jarang berbunga (Soviati, 2008 dalam Sahputri, 2019).

Akar Lidah buaya (*Aloe vera Linn*) memiliki sistem akar dangkal yang terdiri dari akar serabut. Akar ini bertanggung jawab untuk menyerap air dan nutrisi dari tanah. Panjang akar berkisar antara 50cm-100cm. karena letaknya dipermukaan tanah, pada musim kemarau, embun yang menempel dapat dihisap langsung oleh akar tanaman (Soviati, 2008 dalam Sahputri, 2019).

2.2.2. Kandungan dan Manfaat Lidah Buaya (*Aloe vera Linn*)

Lidah buaya (*Aloe vera Linn*) mengandung zat-zat yang bermanfaat untuk mengurangi kerontokan rambut seperti vitamin A, C, asam amino, Cu, Inositol, enzim, mineral yang berfungsi sebagai antioksidan yang baik untuk menjaga kesehatan kulit kepala dan rambut serta sebagai stimulan yang merangsang pertumbuhan rambut (Rusdiana dkk., 2018).

Kemampuan tanaman lidah buaya (*Aloe vera Linn*) sebagai antibakteri dikarenakan kandungan senyawa aktif. Lidah buaya (*Aloe vera Linn*) mengandung 12 jenis antrakuinon sebagai antibakteri dan antivirus yang poten (Saeed et al., 2003). Selain antrakuinon, lidah buaya mengandung kuinon, saponin, aminoglukosida, lupeol, asam salisilat, tanin, nitrogen urea, asam

sinamat, fenol, sulfur, flavonoid dan minyak atsiri yang berfungsi sebagai antimikroba (Agarry et al., 2005)

Menurut Azizah Nada Septiawan dkk., (2021) senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam lidah buaya (*Aloe vera Linn*) adalah antrakuinon, flavonoid, saponin, alkaloid, dan tannin.

2.2.2.1. Senyawa Metabolit Sekunder

1. Antrakuinon

Glikosida yang aglikonnya sekerabat dengan antrasena yang memiliki gugus karbonil pada kedua atom C yang berseberangan (atom C9 dan C10) atau hanya C9 (atron) dan C9 ada gugus hidroksil (antranol). Zat ini mempunyai khasiat sebagai laksativum. Glikosida antrakinon bersifat mudah terhidrolisis seperti glikosida yang lain, glikosida jika terhidrolisis menghasilkan aglikon di-tri-, tetrahidroksi antrakuinon bisa disebut modifikasinya. Antrakuinon bebas hanya memiliki sedikit aktivitas terapeutik. Residu gula mempunyai fasilitas untuk absorbs dan translokasi aglikon pada situs kerjanya (Redha, 2010)

Turunan antrakuinon umumnya berwarna merah orange dan dapat dilihat langsung pada bahan-bahan purgativum (laksativum dan pencahar), turunan antrakuinon berbentuk dihidroksi fenol seperti krisofanol, berbentuk trihidroksi fenol seperti amodin atau tetrahidroksi fenol seperti asam karminat (Redha, 2010).

2. Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu golongan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman yang termasuk dalam kelompok besar polifenol. Senyawa ini terdapat pada semua bagian tanaman termasuk daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, nektar, bunga, buah dan biji (Zuraida dkk., 2017). Flavonoid berperan sebagai antioksidan, karena memiliki gugus hidroksil yang terikat pada karbon cincin aromatik sehingga dapat menangkap radikal bebas yang dihasilkan dari reaksi

peroksidasi lemak. Flavonoid dalam lidah buaya memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan berbagai jenis bakteri. Flavonoid juga memiliki sifat anti-inflamasi yang dapat membantu mengurangi peradangan yang disebabkan oleh infeksi bakteri. (Dewi dkk., 2014).

3. Saponin

Saponin merupakan senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan tanaman dikotil dan berperan sebagai bagian dari sistem pertahanan tanaman dan termasuk ke dalam kelompok besar molekul pelindung tanaman yang disebut phytoanticipins atau phytoprotectans. Saponin dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan mengganggu integritas membran sel bakteri. Saponin juga dapat mengganggu proses metabolisme dalam sel bakteri, seperti sintesis protein dan sintesis asam nukleat, yang pada gilirannya dapat menghambat pertumbuhan dan reproduksi bakteri. (Lestari, 2016).

4. Alkaloid

Alkaloid Berdasarkan penelitian Vania dkk., (2019) menyebutkan alkaloid adalah salah satu jenis senyawa kimia yang ditemukan dalam berbagai tanaman, termasuk tanaman obat, dan beberapa alkaloid telah ditemukan memiliki aktivitas antibakteri.

5. Tanin

Tanin dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan berbagai mekanisme, termasuk mengganggu integritas membran sel bakteri atau menghambat aktivitas enzim yang penting untuk kelangsungan hidup bakteri. Tanin dapat mengganggu kemampuan bakteri untuk melekat pada permukaan jaringan, sehingga mencegah kolonisasi dan infeksi. Perez (2000) dalam Sadiah dkk., (2015).

2.3. *Pseudomonas aeruginosa*

Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* berbentuk basil. Pada koloni mikroskopik cenderung berbentuk menyerupai rantai pendek. Serta memiliki flagel 2-3 flagel, dan beberapa membentuk pigmen yang larut air (Jawet dkk, 2014).

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri Gram-negatif dan berada di mana-mana. Ini merupakan bakteri patogen oportunistik pada manusia dan mampu menyebabkan beraneka ragam penyakit infeksi akut dan kronis yang mengancam jiwa, terutama pada pasien dengan pertahanan daya tahan tubuh yang lemah. (Soedarto, 2015)

Kehadiran di mana-mana *Pseudomonas aeruginosa* serta prevalensi dan persistensinya di lingkungan klinis termasuk resistensi intrinsik terhadap terapi dikaitkan dengan kemampuan bertahan hidup yang luar biasa dengan merekrut gudang mekanisme responsif. Meningkatnya prevalensi infeksi *Pseudomonas aeruginosa* MDR (*Multidrug Resistant*) memiliki banyak jenis mekanisme resisten antibiotik, termasuk resisten terhadap beta-laktamase, produksi enzim *extended-spectrum beta-lactamase*, modifikasi porin yang spesifik untuk *karbepenem*, sensitivitas *Pseudomonas aeruginosa* yang paling resisten *amikasin* dan *gentamisin* yaitu golongan *aminoglikosida*. Namun *amikasin* tidak terlalu sering dipakai dikarenakan resiko pada ginjal dan harganya yang mahal (El Zowalaty et al., 2015).

2.3.1. Klasifikasi

Klasifikasi *Pseudomonas sp* di bawah ini menurut (Soedarto, 2015)

:

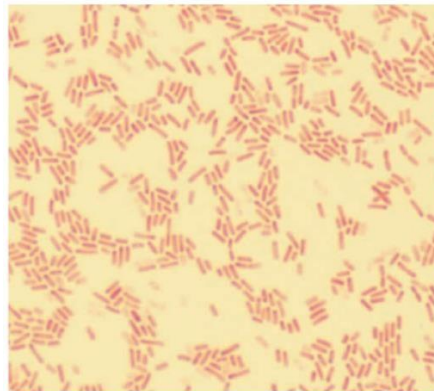
Kingdom : *Bacteria*
 Division : *Proteobacteria*
 Class : *Gamma Proteobacteria*
 Order : *Pseudomonadales*

Family : *Pseudomonadaceae*
Genus : *Pseudomonas*
Species : *Pseudomonas aeruginosa*

2.3.2. Morfologi

2.3.2.1. Ciri – ciri Organisme

Pseudomonas aeruginosa bersifat motil serta berbentuk batang, berukuran sekitar $0.6 \times 2 \mu\text{m}$, bersifat aerob serta mempunyai flagel tunggal atau 2 - 3 flagel. Bakteri ini tergolong kelompok bakteri gram negatif serta dapat muncul dalam bentuk tunggal, berpasangan atau kadang-kadang pada bentuk rantai pendek. (Brooks et al., 2013).



Gambar 2.1 Morfologi *Pseudomonas aeruginosa*
(Karen et al., 2015)

2.3.2.2. Kultur

Pseudomonas aeruginosa menghasilkan koloni besar serta halus dengan permukaan rata serta meninggi) serta koloni halus dan mukoid yang umumnya didapat dari sekresi saluran saluran kemih serta pernafasan (Todar, 2012). Bakteri ini juga seringkali membentuk pigmen piosianin, pigmen kebiru-biruan yang tidak berfluoresensi, yang berdifusi

kedalam agar. Spesies *Pseudomonas* yang lain tidak menghasilkan piosiani . Banyak strain *Pseudomonas aeruginosa* juga memproduksi pigmen pioverdin yang befluoresensi, yang memberikan warna kehijauan pada agar. Beberapa strain berwarna merah gelap atau hitam yang menghasilkan pigmen piorubin ((El-Fouly et al., 2015).

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri obligat yang bisa tumbuh dengan mudah pada aneka jenis media pembiakan, terkadang mengeluarkan bau manis atau menyerupai bau buah mirip anggur atau mirip dengan jagung. Beberapa strain menyebabkan hemolisis darah (El-Fouly et al., 2015).

2.3.2.3. Sifat Pertumbuhan

Pseudomonas aeruginosa tumbuh dengan baik di suhu 37 – 42°C pertumbuhan pada 42°C membantu membedakan berasal spesies *Pseudomonas* lain yang merupakan kelompok fluoresensi. Bakteri ini bersifat oksidase positif, tidak meragikan karbohidrat tetapi mengoksidasi glukosa. Identifikasi biasanya berdasarkan pada bentuk koloni, oksidase positifnya, adanya pigmen yang khas, dan tumbuh di suhu 42°C (Jawet dkk, 2014)

2.3.3. Daya Tahan Bakteri

Pseudomonas aeruginosa lebih tahan terhadap lingkungan fisik serta bahan kimia. Bakteri tersebut resisten terhadap beberapa jenis antiseptic, desinfektan, serta antibiotik yang dipergunakan dalam pengobatan. *Pseudomonas aeruginosa* bias hidup pada suasana lembab. Desinfektan yang efektif ialah fenol serta β -glutaraldehida. Bakteri tersebut akan mati pada pemanasan tinggi (Radji M, 2016).

Meskipun 85 persen isolat *P aeruginosa* resisten terhadap serum, penambahan leukosit polimorfonuklear mengakibatkan

pembunuhan bakteri. Pembunuhan paling efisien dengan adanya antibodi opsonisasi spesifik tipe, yang diarahkan terutama pada determinan antigenik LPS. Hal ini menunjukkan bahwa fagositosis merupakan pertahanan penting dan bahwa antibodi opsonisasi merupakan antibodi utama yang berfungsi dalam melindungi dari infeksi *P aeruginosa* ; namun, setelah infeksi *P aeruginosa* terjadi, antibodi lain, seperti antitoksin, mungkin penting dalam mencegah kematian. Menunjukkan interaksi antara *P aeruginosa* dan sistem imun seluler, pasien dengan penyakit yang ditandai dengan respons imun seluler yang terganggu (misalnya, penyakit Hodgkin) tidak memiliki peningkatan insiden infeksi *P aeruginosa* yang parah . Namun, pasien dengan respons antibodi yang berkurang yang disebabkan oleh penyakit yang mendasarinya atau terapi terkaitnya, memiliki infeksi *P aeruginosa* yang lebih serius . Hal ini menggarisbawahi pentingnya respons humoral dalam mengendalikan infeksi *P aeruginosa* .

2.3.4. Epidemiologi

Pseudomonas aeruginosa umumnya hidup di tanah, air, dan tumbuhan. Bakteri ini ditemukan di kulit beberapa orang sehat dan telah diisolasi dari tenggorokan (5 persen) dan tinja (3 persen) pasien yang tidak dirawat di rumah sakit. Angka penularan melalui gastrointestinal meningkat pada pasien yang dirawat di rumah sakit hingga 20 persen dalam waktu 72 jam setelah masuk rumah sakit. Di dalam rumah sakit, *P aeruginosa* ditemukan di banyak tempat penampungan: disinfektan, peralatan pernapasan, makanan, wastafel, keran, dan kain pel. Selain itu, bakteri ini terus-menerus masuk kembali ke lingkungan rumah sakit melalui buah-buahan, tanaman, sayuran, dan pasien yang dipindahkan dari fasilitas lain. Penyebaran terjadi dari pasien ke pasien melalui tangan petugas rumah sakit, melalui kontak langsung pasien dengan tempat penampungan yang terkontaminasi, dan melalui konsumsi makanan dan air yang terkontaminasi.

2.3.5. Faktor Virulensi

Beberapa faktor virulensi yang diduga kuat dihasilkan oleh *Pseudomonas aeruginosa* antara lain: *lipopolysaccharida* yang merupakan komponen dominan membran luar bakteri terdiri atas lipid A (endotoksin), berperan penting pada aktivasi respon imun bawaan (TLR4) dan didapat (Heine, 2001). LPS dikenali oleh TLR4- MD2-CD14 kompleks yang terdapat pada beberapa tipe sel (Poltorak *et al.*, 1998). TLR4 selanjutnya berinteraksi dengan MyD 88 yang merupakan protein adaptor sampai terjadinya fosforilasi kompleks IKK termasuk IKK β dan menyebabkan terbentuknya jalur sinyal intraseluler NF-KB dan produksi sitokin inflamatori antara lain TNFa dan IL-8 (Feghali dan Timothy, 1997). Ikatan oleh *death receptors*, seperti TNFRI meningkatkan rekrutmen dan keutuhan protein RIPK1 terhadap adaptor TRADD (Newton, 2015). Selanjutnya dapat terjadi fosforilasi RIPK1 dan RIPK3 yang menyebabkan perekrutan MLKL yang diikuti perubahan struktur membran plasma danakhirnya ruptur, diakhiri dengan kematian sel yang disebut nekroptosis. Aktifasi TLR 4 juga dapat merekrut adaptor protein sitoplasma TRIF yang dapat langsung dan mengaktifasi RIPK3 dan selanjutnya menginduksi nekroptosis (Chen *et al.*, 2018). Kearney *et al.* (2015) melaporkan bahwa LPS intraperitoneal juga meningkatkan nekroptosis melalui inhibisi *caspase* pada hewan coba tikus.

Flagella bertanggung jawab terhadap gerakan *swimming* yang terdapat pada salah satu kutub bakteri. Protein flagella (flagellin) berperan penting untuk perlekatan, invasi, pembentukan biofilm dan mediator respon peradangan (Campodonico *et al.*, 2010). Flagellin merupakan mediator terhadap respon peradangan melalui sistem imun bawaan yaitu interaksi spesifik dengan sejumlah *Pattern Recognition Receptors* (PRRs) inang (Verma *et al.*, 2005). Selama infeksi, bakteri melekat pada epitel inang melalui perlekatan antara flagellum terhadap *asialyated glycolipid asialo-GM 1* dan dapat mendatangkan NFkB melalui sinyal TLR5 (Miao *et*

al., 2008). Flagellin dikenal oleh TLR5, aktivasi TLR5 melalui adaptor protein MyD 88 membuka jalur intraseluler NF- κ B seperti pada TLR4 yang menghasilkan sitokin IL-8 dan TNF α dengan sistem autokrin diikat oleh TNFR1 sel epitel (Hayashi *et al.*, 2001). TNFR1 selanjutnya mengikat RIPK1 kemudian mengaktivasi RIPK3 dan MLKL akhirnya menginduksi nekroptosis (Wang *et al.*, 2014, Rodriguez *et al.*, 2016). *Type III Secretion System* (T3SS) melibatkan flagela yang berhubungan dengan pelepasan sitotoksin antara lain ExoS dari sitoplasma *Pseudomonas aeruginosa* langsung ke dalam sitosol sel inang. T3SS yang menginjeksi ExoS pada makrofag tak menyebabkan maturasi proteolitik yang disebabkan *Pseudomonas aeruginosa* dan mensekresi sitokin proinflamasi IL-1 (Hobden, 1997), dan pada penelitiannya menunjukkan adanya peningkatan *polymorphonuclear*, IL-1 β dan IFN- γ pada kornea tikus yang diinfeksi dengan *Pseudomonas aeruginosa*. Defisiensi ExoS juga merubah cara kematian dari apoptosis ke arah *pyroptosis* (Galle, 2012). T3SS mempunyai aktifitas mengaktivasi inflammasome NLR, memicu aktivasi *caspase-1* melalui NLRC4 (Hauser, 2009), dengan kata lain fungsi T3SS penting untuk menginduksi aktivitas *caspase-1*, sekresi IL-1 β dan kematian sel (Franchi *et al.*, 2007). Oka *et al.* (2015) meneliti *Pseudomonas aeruginosa* yang diisolasi dari lensa kontak pasien, melaporkan adanya interaksi faktor virulensi, yaitu *swarming motility*, *swimming motility*, dan *protease* ExoS. Eksotoksin A yang disekresi oleh TIIS (*Type II Secretion System*) menunjukkan keterlibatannya dalam invasi dan kerusakan jaringan. Sitotoksin ini dikode oleh gen *tox A* dan ditemukan pada sebagian besar isolat klinis *Pseudomonas aeruginosa* (Passador dan Iglewski, 1994). Pemeriksaan histopatologi hati tikus yang diinjeksi dengan eksotoksin A *Pseudomonas aeruginosa* dengan dosis lebih dari 3 dan 4 μ g/ml menunjukkan degenerasi hati dengan adanya vakuol hepatosit dan sel radang yang banyak disertai adanya sel apoptotik. Adanya sel apoptotik ini dapat dijelaskan dengan

mekanisme sensitisasi terhadap TNF, hambatan sintesis protein pada kerusakan hati (Jendrossek, 2001, Chao, 2002). Pada proses apoptosis, *caspase-3* merupakan marker penting yang meregulasi peradangan jalur sinyal, berperan pada destruksi selular seperti fragmentasi DNA atau degradasi protein sitoskeletal (Behzadi, 2015).

2.3.6. Manifestasi Klinis dan Patogenitas

Pseudomonas aeruginosa menyebabkan berbagai penyakit. Infeksi lokal setelah pembedahan atau luka bakar umumnya menyebabkan bakteremia umum dan seringkali berakibat fatal. Infeksi saluran kemih setelah masuknya *P aeruginosa* pada kateter atau dalam larutan irigasi bukanlah hal yang jarang terjadi. Lebih jauh lagi, kebanyakan pasien fibrosis kistik mengalami kolonisasi kronis dengan *P aeruginosa*. Pasien fibrosis kistik jarang mengalami bakteremia *P aeruginosa*, karena tingginya kadar antibodi *P aeruginosa* yang bersirkulasi. Akan tetapi, kebanyakan pasien fibrosis kistik akhirnya meninggal karena infeksi *P aeruginosa* lokal. *Pneumonia P aeruginosa* nekrotikans dapat terjadi pada pasien lain setelah penggunaan respirator yang terkontaminasi. *Pseudomonas aeruginosa* dapat menyebabkan infeksi kornea yang parah setelah pembedahan mata atau cedera. Bakteri ini ditemukan dalam kultur murni, khususnya pada anak-anak dengan infeksi telinga tengah. *Pseudomonas aeruginosa* dan *P. maltophilia* merupakan penyebab 80 persen infeksi oportunistik yang disebabkan oleh pseudomonad. Infeksi *Pseudomonas aeruginosa* merupakan masalah serius pada pasien yang dirawat di rumah sakit karena kanker, fibrosis kistik, dan luka bakar; tingkat kematian kasusnya adalah 50 persen. Infeksi lain yang disebabkan oleh spesies *Pseudomonas* meliputi endokarditis, pneumonia, dan infeksi saluran kemih, sistem saraf pusat, luka, mata, telinga, kulit, dan sistem muskuloskeletal.

Pseudomonas aeruginosa menjadi patogenik bila berada di daerah yang fungsi pertahannya abnormal, misalnya selaput kulit

yang rusak karena kerusakan jaringan langsung pada pemakaian kateter pembuluh darah atau saluran kencing pada neutropenia seperti khemotrapi kanker. Pada bakteri dapat menyerang atau menempel pada selaput lendir dan kulit, dapat menyebar dari tempat dan mengakibatkan penyakit sistemik. Dan pada proses tersebut dapat dipercepat oleh pili, enzim, dan toksin (Jawet dkk, 2014).

2.3.7. Mekanisme Resistensi

Pseudomonas aeruginosa memiliki berbagai mekanisme resistensi, di antaranya adalah penurunan penetrasi antibiotik ke dalam sel, perubahan target antibiotik, dan inaktivasi antibiotik oleh enzim. Berbagai mekanisme resistensi ini dapat dikelompokkan menjadi intrinsik, didapat, dan adaptif (Gellatly & Hancock, 2013).

2.2.7.1. Resistensi Intrinsik

Resistensi intrinsik adalah resistensi alami suatu organisme terhadap antibiotik tertentu. Antibiotik ini tidak dapat membunuh seluruh atau hampir seluruh spesies bakteri tersebut. *P. aeruginosa* resisten secara intrinsik terhadap ampisilin, amoksisilin-asam klavulanat, sefazolin, sefotaksim, seftriakson, ertapenem, kloramfenikol, tigesiklin, kanamisin, dan neomisin. Antibiotik-antibiotik ini tidak boleh digunakan karena akan menyebabkan kegagalan terapi (Leclercq et al., 2013). Resistensi intrinsik *P. aeruginosa* terhadap antibiotik dapat disebabkan oleh penurunan permeabilitas membran luar, sistem pompa, dan adanya enzim perusak-antimikroba.

1. Penurunan Permeabilitas Membran Luar

Membran luar sel *P. aeruginosa* merupakan lapisan yang bersifat semipermeabel. Berbagai nutrisi penting seperti gula, asam amino, fosfat, dan siderofor masuk ke dalam sel melalui

kanal-kanal yang disebut porin. Antibiotik yang bersifat hidrofilik, seperti beta-laktam, aminoglikosida, tetrasiklin, fluorokuinolon, dan karbapenem juga masuk ke dalam sel melalui kanal-kanal ini (Lister et al., 2009).

Beberapa famili porin telah berhasil diidentifikasi, di antaranya adalah OprF, OprD, OprM, dan TonB. OprF merupakan famili porin utama yang berperan dalam transport molekul-molekul yang berukuran besar namun perannya dalam resistensi *P. aeruginosa* terhadap antibiotik belum diketahui. Beberapa porin dari famili OprM merupakan bagian dari sistem pompa (*efflux pump*). Sementara itu, OprD adalah famili yang paling banyak dipelajari (Lister et al., 2009). OprD adalah porin substrat-spesifik yang memfasilitasi difusi asam amino, peptida berukuran kecil, dan karbapenem (Lister et al., 2009). Bersamaan dengan enzim AmpC beta-laktamase, hilangnya OprD dari membran luar sel akan menyebabkan *P. aeruginosa* resisten terhadap eropenem (Leclercq et al., 2013). Selain itu, strain *P. aeruginosa* yang kehilangan OprD (OprD-) juga akan mengalami penurunan kepekaan terhadap antibiotik golongan karbapenem yang lain (Lister et al., 2009; Meletis G, 2012).

2. Sistem Pompa (*Efflux Pump*)

Sistem ini bekerja dengan cara memompa antibiotik secara aktif ke luar sel. Sistem pompa ini merupakan mekanisme resistensi utama dan berperan dalam resistensi *P. aeruginosa* terhadap sebagian besar golongan antibiotik (Pang et al., 2019).

Terdapat lima famili sistem pompa yang telah diketahui. *Resistance-nodulation-division* (RND) merupakan famili yang paling banyak dipelajari (Lister et al., 2009). Struktur pompa RND terdiri dari (1) protein fusi membran periplasma (*periplasmic membrane fusion protein* [MFP]), (2) protein membran luar (*outer membrane factor* [OMF]) yang berbentuk seperti corong, dan (3) protein transporter membran sitoplasma

(RND). Struktur ini membentuk kanal yang menembus seluruh lapisan membran sel sehingga antibiotik dapat dipompa dari dalam ke luar sel (Lister *et al.*, 2009; Meletis G, 2012).

2. Enzim AmpC

Sebagian besar enzim perusak-antimikroba yang dimiliki oleh *P. aeruginosa* dikode dan disebarkan dari satu bakteri ke bakteri lainnya melalui plasmid kecuali AmpC, yaitu enzim sefalosporinase yang bersifat inducible (dapat diinduksi) dan terletak di dalam kromosom (Peter-Getzlaff *et al.*, 2011). *P. aeruginosa* strain liar (*wild type*) menghasilkan enzim AmpC dalam jumlah kecil (*low level basal*) dan tetap sensitif terhadap antibiotik antipseudomonas golongan penisilin, kombinasi penisilin inhibitor beta-laktamase, sefalosporin, dan karbapenem (Lister *et al.*, 2009). *P. aeruginosa* akan menjadi resisten terhadap seluruh antibiotik beta-laktam, kecuali sefalosporin generasi ke-4 dan karbapenem bila enzim AmpC dihasilkan dalam jumlah yang besar (*over-produced*) (Lister *et al.*, 2009).

Dihasilkannya enzim AmpC dalam jumlah besar dapat disebabkan oleh dua hal, yaitu: (1) adanya mutasi gen repressor (*ampD*). Mutasi ini akan menyebabkan enzim AmpC dihasilkan dalam jumlah besar secara terus-menerus (Lister *et al.*, 2009; Peter-Getzlaff *et al.*, 2011); (2) adanya induksi atau pajanan oleh antibiotik golongan beta-laktam dan beta-laktamase inhibitor (mis. sefoksitin, imipenem, dan klavulanat). Overproduksi enzim akibat adanya induksi bersifat reversibel dan akan berhenti bila pajanan dihilangkan. Apabila disertai mekanisme resistensi lainnya, seperti produksi sistem pompa dalam jumlah besar (*efflux pump overproduction*) dan penurunan ekspresi *OprD*, strain *P. aeruginosa* penghasil AmpC dalam jumlah besar (*AmpC-overproducing P.*

aeruginosa) akan resisten terhadap karbapenem (Grover *et al.*, 2013; Lister *et al.*, 2009).

2.2.7.2. Resistensi Didapat (*Acquired Resistance*)

Resistensi didapat akan menyebabkan *P. aeruginosa* resisten terhadap antibiotik golongan beta laktam, aminoglikosida, dan kuinolon (Gellatly & Hancock, 2013).

1. Enzim Beta-Laktamase

Kelas A : Enzim yang termasuk kelas ini adalah karbenisilinase dan *extended-spectrum beta-lactamases* (ESBL). Antibiotik yang menjadi substrat enzim karbenisilinase adalah karboksipenisilin dan ureidopenisilin (mis. piperasilin). *P. aeruginosa* penghasil enzim karbenisilinase menunjukkan kepekaan yang beragam terhadap sefepim, sefpirom, dan aztreonam dan tetap peka terhadap seftazidim dan karbapenem (Strateva & Yordanov, 2009). Berbeda dari *P. aeruginosa* penghasil enzim karbenisilinase, strain penghasil enzim ESBL tidak hanya resisten terhadap karboksipenisilin dan ureidopenisilin saja, tetapi juga terhadap sefalosporin spektrum luas (seftazidim, sefepim, sefpirom) dan aztreonam. Secara *in vitro*, enzim ini dihambat oleh asam klavulanat dan tazobactam (Strateva & Yordanov, 2009).

Kelas B (Metallo-Beta-Laktamase) : Enzim beta-laktamase kelas B disebut juga karbapenemase. Enzim ini memiliki 4 famili, yaitu IMP, VIM, SPM, dan GIM (Strateva & Yordanov, 2009). Keberadaan enzim karbapenemase tengah menjadi perhatian saat ini karena menyebabkan *P. aeruginosa* resisten terhadap seluruh antibiotik golongan penisilin, sefalosporin, dan karbapenem. Resistensi *P. aeruginosa* terhadap karbapenem juga dapat disebabkan oleh tipe *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) (Meletis & Bagkeri, 2013).

Kelas D (Oksasilinase) : Enzim oksasilinase (OXA) klasik (OXA-1, OXA-2, OXA-10) menyebabkan *P. aeruginosa* resisten terhadap karboksipenisilin dan ureidopenisilin. Sementara itu oksasilinase spektrum luas menyebabkan *P. aeruginosa* resisten terhadap sefotaksim, sefepim, sefpirom, dan aztreonam. Sebagian besar enzim oksasilinase spektrum luas terletak di dalam plasmid atau integron sehingga dapat dengan mudah menyebar ke strain *P. aeruginosa* liar (*wild type*). *P. aeruginosa* penghasil enzim oksasilinase spektrum luas saat ini telah ditemukan di seluruh daratan Eropa (Strateva & Yordanov, 2009).

2. Enzim Perusak Aminoglikosida (*Aminoglycoside-Modifying Enzymes* [AMEs])

Enzim perusak-aminoglikosida (AMES) dibawa dan disebarkan melalui berbagai genetic mobile *elements* seperti plasmid, transposon, dan integron. Enzim ini menyebabkan *P. aeruginosa* menjadi resisten terhadap hampir seluruh antibiotik golongan aminoglikosida (Pang et al., 2019). AMEs dibagi menjadi 3 kelompok enzim, yaitu *aminoglycoside phosphoryltransferase* (APHs), *aminoglycoside adenyltransferases* (AADs) atau *nucleotidyltransferases* (ANTs), dan *aminoglycoside acetyltransferases* (AACs). AMEs yang paling sering dihasilkan oleh *P. aeruginosa* adalah AAC(6')-II dan AAC(3)-II yang menyebabkan bakteri ini menjadi resisten terhadap gentamisin, tobramisin, dan netilmisin; AAC(3)-I terhadap gentamisin; dan AAC(6')-I terhadap tobramisin, netilmisin, dan amikasin (Strateva & Yordanov, 2009).

3. Modifikasi Target Antibiotik

Modifikasi 16S rRNA : Aminoglikosida bekerja dengan cara berikatan dengan 16S rRNA yang merupakan situs aktif protein ribosomal 30S penyusun rRNA (Meletis & Bagkeri, 2013). Ikatan ini mengakibatkan kesalahan translasi mRNA

oleh ribosom sehingga protein yang dihasilkan tidak fungsional. Enzim 16S rRNA metilase yang dikode oleh plasmid dapat merubah situs aktif 16S rRNA sehingga tidak dapat berikatan lagi dengan aminoglikosida (Meletis & Bagkeri, 2013; Strateva & Yordanov, 2009).

Modifikasi DNA gyrase-A : Enzim DNA gyrase-A atau topoisomerase II adalah enzim yang diperlukan oleh bakteri Gram negatif (termasuk *P. aeruginosa*) untuk proses replikasi, rekombinasi, dan perbaikan (repair) DNA. Enzim ini merupakan target primer antibiotik golongan fluorokuinolon. Mutasi gen yang mengkode ekspresi DNA gyrase-A (*gyrA*) akan mengubah korformasi enzim ini sehingga afinitasnya terhadap fluorokuinolon menjadi berkurang. Hal ini akan menyebabkan *P. aeruginosa* menjadi resisten terhadap fluorokuinolon (Strateva & Yordanov, 2009).

2.2.7.3. Resistensi Adaptif

Resistensi adaptif terjadi apabila bakteri terpajan konsentrasi antibiotik non-lethal lalu mengalami peningkatan ekspresi (*up-regulation*) gen yang menyebabkan kepekaan terhadap antibiotik tersebut menjadi berkurang. Mekanisme ini bersifat inducible dan terjadi tanpa didahului adanya mutasi gen (Gellatly & Hancock, 2013). Contoh resistensi adaptif adalah resistensi *P. aeruginosa* terhadap peptida kationik (mis. polimiksin). Paparan polimiksin akan menyebabkan berbagai sensor kinase termasuk PhoQ, PmrB, ParS, CprS, dan CbrA meningkatkan ekspresi operon *arnBCADTEF-udg* sehingga terjadi sintesis dan penambahan aminoarabinose ke molekul lipid A. Modifikasi ini menyebabkan muatan listrik negatif (*negative charge*) membran luar sel bakteri menjadi berkurang sehingga menurunkan afinitasnya terhadap peptida kationik yang bermuatan listrik positif (*positive charge*). Resistensi ini hanya bersifat transien dan akan hilang bila faktor penginduksi dihilangkan (Gellatly & Hancock, 2013).

2.3. Antibiotik

Antibiotik adalah senyawa alami yang dihasilkan oleh jamur atau mikroorganisme lain yang dapat membunuh bakteri penyebab penyakit pada manusia ataupun hewan. Beberapa antibiotika merupakan senyawa sintetis (tidak dihasilkan oleh mikroorganisme) yang juga dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri. Meski antibiotika memiliki banyak manfaat, tetapi penggunaannya telah berkontribusi terhadap terjadinya resistensi (Katzung, 2007)

Antibiotik adalah obat yang digunakan untuk mengatasi infeksi bakteri yang bersifat bakterisid (membunuh bakteri) atau bakteristatik (mencegah berkembangbiaknya bakteri) (Kemenkes, 2011).

Bahan kimia alami atau sintetis yang dapat menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroorganisme disebut sebagai bahan antimikroba. Agen yang dapat membunuh mikroorganisme disebut agen sidal (cidal agent) yang meliputi bakterisidal, fungisidal dan virisidal. Sedangkan agen yang hanya mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme disebut agen statis (static agent) yang meliputi bakteristatik, fungistatik dan viristatik. Agen antimikroba dapat berupa disinfektan, antiseptik maupun antibiotik. Antibiotik merupakan suatu agen antimikroba yang diproduksi secara alami oleh mikroorganisme dan dalam jumlah sangat sedikit dapat membunuh mikroorganisme lain. Isolasi sintetis dan penggunaan antibiotik dalam analisis penyakit akibat mikroorganisme patogen sangatlah penting karena dapat digunakan untuk mengetahui sensitivitas mikroorganisme terhadap antibiotik tertentu (Pelczar dan Chan, 1988).

Aktivitas antibakteri suatu senyawa terhadap suatu mikroba uji pada metode cakram kertas dibuktikan dengan adanya respon penghambatan pertumbuhan mikroba yang ditandai dengan halo (daerah bening disekitar kertas cakram). Aktivitas antimikroba dapat digunakan untuk menentukan nilai MBC (*Minimal Inhibitor*

Concentration) atau konsentrasi terendah suatu agen antimikroba yang diperlukan untuk membunuh perkembangan pertumbuhan mikroba secara yata pada kadar minimum setelah diinkubasi selama waktu yang dikehendaki (Pelczar dan Chan, 1988).

2.3.1. Sejarah Antibiotika

Antibiotik ditemukan pertama kalinya karena inisiasi Paul Ehrlich yang menemukan apa yang disebut magic bullet yang dirancang untuk menangani infeksi mikroba. Pada tahun 1910, Ehrlich menemukan antibiotik pertama, Salvarsan, yang digunakan untuk melawan syphilis. Penemuan Ehrlich kemudian diikuti oleh Alexander Fleming yang secara tidak sengaja menemukan penisilin pada tahun 1928. Tujuh tahun kemudian Gerhard Domagk menemukan sulfa, yang membuka jalan bagi penemuan obat anti TB, isoniazid. Tahun 1943, Selkman Waksman dan Albert Schatz menemukan anti TB pertama yaitu streptomycin. Waksman juga orang yang menciptakan istilah "antibiotik". Sejak saat itu (tahun 1940) antibiotik sudah digunakan untuk mengobati infeksi bakteri (Zhang, 2007).

2.3.2. Penggolongan Antibiotik

2.3.2.1. Golongan Penisilin

Penisilin diklasifikasikan sebagai obat β -laktam karena cincin laktam mereka yang unik. Mereka memiliki ciri-ciri kimiawi, mekanisme kerja, farmakologi, efek klinis, dan karakteristik imunologi yang mirip dengan sefalosporin, monobactam, carbapenem, dan β -laktamase inhibitor, yang juga merupakan senyawa β -laktam. Penisilin dapat terbagi menjadi beberapa golongan:

1. Penisilin natural (misalnya, penisilin G)

Golongan ini sangat poten terhadap organisme gram-positif, coccus gram negatif, dan bakteri anaerob penghasil *non- β -laktamase*. Namun, mereka memiliki potensi yang rendah terhadap batang gram negatif (Katzung, 2007). Spektrum golongan ini untuk mikroorganisme gram-positif

aerobik. Penisilin G 5-10 kali lebih aktif melawan *Neisseria spp*, dan beberapa bakteri anaerob. Cepat dihidrolisis oleh penisilinase sehingga tidak efektif terhadap kebanyakan galur *S. aureus* (Goodman & Gilman, 2010).

2. Penisilin isoksazolil (misalnya oksasilin, kloksasilin dan diklosasin)

Penisilin jenis ini resisten terhadap stafilkokus β -*laktamase*. Golongan ini aktif terhadap organisme gram positif seperti stafilkokus dan streptokokus tetapi tidak aktif terhadap enterokokus, bakteri anaerob, dan kokus gram negatif dan batang gram negatif (Katzung, 2007). Golongan ini sangat stabil dalam media asam dan diabsorpsi secara memadai setelah pemberian oral. Obat ini bukan pengganti penisilin G untuk pengobatan penyakit yang biasa diatasi oleh penisilin G (Goodman & Gilman, 2010). Sifat farmakologisnya adalah penisilin ini secara kuat menghambat pertumbuhan sebagian besar stafilkokus penghasil- penisilinase. Dikloksasin adalah penisilin yang paling aktif. Obat-obat ini kurang efektif melawan mikroorganisme yang rentan terhadap penisilin G dan tidak berguna melawan bakteri gram-negatif (Goodman & Gilman, 2010).

3. Penisilin Antipseudomonal (misalnya karboksipenisilin dan ureidopenisilin)

Karboksipenisilin, karbenisilin dan tikarsilin, aktif terhadap *P. aeruginosa* dan beberapa *Proteus spp*. Obat ini lebih lemah daripada ampisilin dan turunannya. Obat-obat tersebut tidak efektif terhadap sebagian besar galur *S. Aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella* dan *L. Monocytogenes*. *B. Fragilis* rentan terhadap kadar tinggi obat ini, tetapi penisilin G lebih aktif.

Ureidopenisilin, mezlosilinn dan piperasilin, mempunyai aktivitas yang unggul terhadap *P. Aeruginosa* dibandingkan karbesilin dan tikarsilin. Mezlosilin dan piperasilin juga berguna untuk infeksi *Klebsiella*. Karboksipenisilin dan ureidopenisilin

sensitif terhadap destruksi oleh β -laktamase (Goodman & Gilman, 2010).

4. Penisilin dengan spektrum yang diperluas (Ampisilin dan Penisilin antipseudomonas)

Golongan ini memiliki aktivitas antimikroba yang lebih luas, termasuk mikroorganisme gram-negatif tertentu, seperti *Haemophilus influenza*, *Escherichia coli* dan *Proteus mirabilis* (Goodman & Gilman, 2010). Obat ini mempertahankan spektrum antibakterial penisilin dan mengalami peningkatan aktivitas terhadap bakteri gram negatif (Katzung, 2007). Sifat farmakologis ampisilin adalah diabsorpsi baik setelah pemberian oral. Asupan makanan sebelum konsumsi ampisilin mengurangi absorpsinya. Ampisilin mengalami sirkulasi enterohepatik dan dieksresi dalam jumlah cukup besar dalam feses. Amoksisilin berhubungan erat dengan ampisilin, obat ini diabsorpsi lebih cepat dan lengkap di GI dari ampisilin. Spektrum amoksisilin sangat identik dengan ampisilin, kecuali bahwa amoksisilin kurang efektif untuk sigelosis. Sifat farmakologis amoksisilin adalah kadar puncak dalam plasma dua kali lebih besar daripada ampisilin setelah pemberian oral pada dosis yang sama. Makanan tidak mengganggu absorpsi. Mungkin karena absorpsi lebih baik, insiden diare akibat amoksisilin lebih kecil daripada ampisilin. Sebagian besar antibiotik ini dieksresi dalam bentuk aktif dalam urine. Sifat farmakologisnya adalah penisilin ini secara kuat menghambat pertumbuhan sebagian besar stafilokokus penghasil-penisilinase. Dikloksasin adalah penisilin yang paking aktif. Obat-obat ini kurang afektif melawan mikroorganisme yang rentan terhadap penisilin G dan tidak berguna melawan bakteri gram-negatif (Goodman & Gilman, 2010).

2.3.2.2. Golongan Sefalosporin dan Sefamisin

Sefalosporin mirip dengan penisilin secara kimiawi, cara kerja, dan toksisitas. Hanya saja sefalosporin lebih stabil terhadap banyak beta-laktamase bakteri sehingga memiliki spektrum yang lebih lebar. Mekanisme kerja sefalosporin dan sefamisin yaitu menghambat sintesis dinding sel bakteri dengan cara yang sama seperti penisilin. Sefalosporin tidak aktif terhadap bakteri enterokokus dan *L. monocytogenes*. Sefalosporin terbagi dalam beberapa generasi, yaitu:

a. Sefalosporin generasi pertama

Sefalosporin generasi pertama termasuk di dalamnya sefadroxil, sefazolin, sefalexin, sefalotin, sefafirin, dan sefradin. Obat - obat ini sangat aktif terhadap kokus gram positif seperti *pneumococcus*, *streptococcus viridan*, dan grup *streptokokus A hemolitikus* dan *S. aureus* rentan terhadap golongan ini. Sebagian besar anaerob mulut bersifat sensitif, tetapi kelompok *B. Fragilis* bersifat resisten (Goodman & Gilman, 2010).

b. Sefalosporin generasi kedua

Anggota dari sefalosporin generasi kedua, antara lain: sefaklor, sefamandol, sefanisid, sefuroxim, sefprozil, loracarbef, dan seforanid. Secara umum, obat-obat generasi kedua memiliki spektrum antibiotik yang sama dengan generasi pertama. Hanya saja obat generasi kedua mempunyai spektrum yang diperluas kepada bakteri gram negatif, tetapi kurang aktif daripada sefalosporin generasi-ketiga (Goodman & Gilman, 2010). Semua sefalosporin generasi kedua aktif melawan *B. Fragilis*. Golongan ini kurang aktif terhadap enterokokus atau *P aeruginosa*. (Katzung, 2007).

c. Sefalosporin generasi ketiga

Obat-obat sefalosporin generasi ketiga adalah sefoperazone, sefotaxime, seftazidime, seftizoxime,

seftriaxone, sefixime, seftibuten, moxalactam, dll. Obat generasi ketiga memiliki spektrum yang lebih diperluas kepada bakteri gram negatif dan dapat menembus susunan saraf pusat (Katzung, 2007). Obat golongan ini kurang aktif dari generasi-pertama melawan kokus gram-positif, tetapi jauh lebih aktif terhadap Enterobacteriaceae, termasuk galur penghasil β -laktamase (Goodman & Gilman, 2010).

d. Sefalosporin generasi keempat

Obat golongan ini adalah *sefepim*, memiliki spektrum aktivitas lebih luas dibandingkan dengan generasi ketiga dan tahan terhadap hidrolisis oleh β -laktamase. Golongan ini sangat berguna untuk pengobatan empiris infeksi serius pada pasien rawat inap jika mikroorganisme gram-positif, *Enterobacteriaceae*, dan *Pseudomonas* merupakan penyebab yang potensial (Goodman & Gilman, 2010).

2.3.2.3. Golongan Antibiotik β -laktam lain (Karbapenem)

Obat ini adalah golongan β -laktam yang mempunyai spektrum yang lebih luas daripada kebanyakan antibiotik β -laktam lainnya.

a. Imipenem

Obat ini memiliki aktivitas antimikroba seperti β -laktam lain, terikat pada PBP, mengganggu sintesis dinding sel bakteri, dan menyebabkan kematian pada mikroorganisme yang rentan. Imipenem sangat resisten terhadap hidrolisis oleh kebanyakan β -laktamase. Aktivitasnya sangat baik untuk berbagai macam mikroorganisme aerob dan anaerob (Goodman & Gilman, 2010).

b. Meropenem

Meropenem merupakan derivat tienamisin yang tidak membutuhkan pemberian bersama silastatin karena tidak

sensitif terhadap dipeptidase ginjal. Toksisitas dan efikasi klinisnya mirip dengan imipenem. Kecuali bahwa meropenem lebih kecil menyebabkan *seizure*.

c. Ertapenem

Berbeda dengan imipenem dan meropenem karena mempunyai $t_{1/2}$ serum yang lebih lama yang memungkinkan dosis sehari dan aktivitasnya lebih rendah terhadap *P. aeruginosa* dan *Acinetobacter* spp. Spektrum aktivitasnya terhadap organisme gram-positif (Goodman & Gilman, 2010).

d. Aztreonam

Aztreonam merupakan β -laktam monosiklik. Aztreonam resisten terhadap β laktamase yang dihasilkan oleh sebagian besar bakteri gram-negatif. Memiliki aktivitas hanya terhadap bakteri gram-negatif, tidak aktif terhadap bakteri gram-positif dan anaerob. Aktivitasnya baik terhadap *P. aeruginosa* dan sangat aktif terhadap *H. Influenzae* dan gonokokus (Goodman & Gilman, 2010).

2.3.2.4. Golongan Kloramfenikol

Kloramfenikol merupakan inhibitor yang poten terhadap sintesis protein mikroba. Kloramfenikol bersifat bakteriostatik dan memiliki spektrum luas dan aktif terhadap masing-masing bakteri gram positif dan negatif baik yang aerob maupun anaerob (Katzung, 2007).

2.3.2.5. Golongan Tetrasiklin

Golongan tetrasiklin merupakan obat pilihan utama untuk mengobati infeksi dari *M. pneumonia*, klamidia, riketsia, dan beberapa infeksi dari spirokaeta. Tetrasiklin juga digunakan untuk mengobati ulkus peptikum yang disebabkan oleh *H. pylori*. Tetrasiklin menembus plasenta dan juga diekskresi melalui ASI dan dapat menyebabkan gangguan pertumbuhan tulang dan gigi pada

anak akibat ikatan tetrasiklin dengan kalsium. Tetrasiklin diekskresi melalui urin dan cairan empedu (Katzung, 2007).

2.3.2.6. Golongan Makrolida

Golongan makrolida, antara lain: eritromisin, roksitromisin, azitromisin dan klaritromisin. Eritromisin merupakan bentuk prototipe dari obat golongan makrolida yang disintesis dari *S.erythreus*. Eritromisin efektif terhadap bakteri gram positif terutama pneumokokus, streptokokus, stafilokokus, dan korinebakterium. Aktifitas antibakterial eritromisin bersifat bakterisidal dan meningkat pada pH basa (Katzung, 2007).

2.3.2.7. Golongan Aminoglikosida

Yang termasuk golongan aminoglikosida, antara lain: streptomisin, neomisin, kanamisin, tobramisin, sisomisin, netilmisin, dan lain lain. Golongan aminoglikosida pada umumnya digunakan untuk mengobati infeksi akibat bakteri gram negatif enterik, terutama pada bakteremia dan sepsis, dalam kombinasi dengan vankomisin atau penisilin untuk mengobati endokarditis, dan pengobatan tuberkulosis (Katzung, 2007).

2.3.2.8. Golongan Sulfonamida dan Trimetoprim

Sulfonamida dan trimetoprim merupakan obat yang mekanisme kerjanya menghambat sintesis asam folat bakteri yang akhirnya berujung kepada tidak terbentuknya basa purin dan DNA pada bakteri. Kombinasi dari trimetoprim dan sulfametoxazole merupakan pengobatan yang sangat efektif terhadap pneumonia akibat *P. jiroveci*, sigellosis, infeksi salmonela sistemik, infeksi saluran kemih, prostatitis, dan beberapa infeksi mikobakterium non tuberkulosis (Katzung, 2007).

2.3.2.9. Golongan Fluorokuinolon

Golongan fluorokuinolon termasuk di dalamnya asam nalidixat, siprofloksasin, norfloksasin, ofloksasin, levofloksasin, dan lain-lain. Golongan fluorokuinolon aktif terhadap bakteri gram negatif. Golongan fluorokuinolon efektif mengobati infeksi saluran kemih yang disebabkan oleh *Pseudomonas spp.* Golongan ini juga aktif mengobati diare yang disebabkan oleh shigella, salmonella, *E. coli*, dan *Campilobacter* (Katzung, 2007)

2.3.3. Mekanisme Kerja

Terdapat beberapa cara kerja dari antibiotik. Cara yang paling penting adalah penghalangan sintesis protein, sehingga kuman musnah atau tidak dapat berkembang (Tjay, 2007). Berikut adalah klasifikasi golongan antibiotik berdasarkan mekanisme kerjanya

2.3.3.1. Kerja Antimikroba Melalui Penghambatan Sintesis Dinding Sel

1. Penghambatan pada Transpeptidasi

Tahap pertama dari kerja obat yang tergolong pada bagian ini adalah pengikatan obat terhadap reseptor sel. Reseptor tersebut adalah protein pengikat penisilin atau PBPs (*penicillin-binding proteins*) yang berjumlah 3-6 di kebanyakan bakteri. Reseptor yang berbeda (PBPs) dapat mempunyai afinitas yang berbeda untuk suatu obat, dan masing-masing dapat menghasilkan mekanisme yang berbeda. Contohnya, pelekatan penisilin ke satu PBP dapat menyebabkan abnormal sel, namun pelekatan di sel lain dapat menyebabkan dinding sel perifer rusak sehingga terjadi lisis.

Selanjutnya adalah penghambatan enzim transpeptidase yang diakibatkan struktur obat tertentu serupa dengan asil-D-alanil-D-alanin. Reaksi transpeptidase melibatkan hilangnya suatu D-alanin dari pentapeptida. Perbedaan kepekaan jenis

bakteri gram-positif dengan gram negatif adalah perbedaan struktur dinding selnya, misalnya jumlah peptidoglikan. Contoh antibiotik yang memiliki kerja menghambat proses transpeptidase adalah penisilin dan sefalosporin (Katzung, 2007).

2. Penghambatan Sintesis Prekursor Peptidoglikan

Tahap awal proses ini terjadi didalam membrane sitoplasma. Sehingga obat-obat yang memiliki cara kerja ini harus mampu menembus membrane agar efektif. Obat-obat yang memiliki aktivitas seperti ini adalah basitrasin, vankomisin, dan ristosetin. Adapula suatu analog D-alanin yaitu sikloserin bekerja menghambat kerja alanin rasemase. Alanin rasemase adalah enzim penting dalam penggabungan D-alanin dalam pentapeptida peptidoglikan. Fosfonopeptida juga menghambat enzim yang dibutuhkan dalam sintesis peptidoglikan (Katzung, 2007).

2.3.3.2. Kerja Antimikroba Melalui Penghambatan Fungsi Sel Membran

Semua sel hidup diliputi oleh membran sitoplasma yang bertindak sebagai sawar permeabilitas yang selektif, melakukan fungsi transpor aktif, dan mengontrol komposisi dalam sel. Jika fungsional membran sitoplasma rusak, makromolekul dan ion lolos dari sel, dan sel rusak atau terjadi kematian. Membran sitoplasma bakteri dan jamur tertentu dapat lebih mudah dirusak oleh agen tertentu daripada membran sel binatang. Akibatnya, aktivitas kemoterapeutik selektif dapat terjadi. Contoh mekanisme adalah kerja polimiksin pada bakteri gram negatif (polimiksin secara selektif bekerja pada membran yang kaya fosfatidil etanolamin dan bekerja seperti detergen kationik) dan antibiotika polien bekerja pada jamur (Katzung, 2007)

2.3.3.3. Kerja Antimikroba Melalui Penghambatan Sintesis Protein

Kerja antimikroba dengan mekanisme menghambat sintesis protein merupakan cara kerja yang dimiliki sebagian besar golongan antibiotik. Golongan tersebut adalah aminoglikosida, tetrasiklin, makrolida, kloramfenikol, dan linkomisin. Berikut diuraikan mekanisme kerja antimikroba dari masing-masing golongan tersebut menurut Katzung (2007):

1. Aminoglikosida

Tahap pertama mekanisme kerja antimikroba dari aminoglikosida adalah pelekatan aminoglikosida ke protein reseptor spesifik pada subunit 30S dan ribosom 70S mikroba. Selanjutnya aminoglikosida menghambat aktivitas normal permulaan pembentukan kompleks peptide yaitu mRNA dengan formil metionin dan tRNA. Lalu pesan mRNA salah dibaca pada daerah pengenalan ribosom, dan sebagai hasilnya, asam amino yang salah dimasukkan dalam peptide ini menghasilkan protein yang tidak fungsional. Terakhir adalah pelekatan aminoglikosida yang berakibat polisom (beberapa ribosom yang memanjang sepanjang pita mRNA untuk membaca pesan mRNA secara bersamaan) dan pecahannya menjadi monosom yang tidak dapat mensintesis protein. Keseluruhan proses ini mengakibatkan pembunuhan sel tersebut.

2. Tetrasiklin

Tetrasiklin menghambat sintesis protein dengan menghambat pelekatan aminoasil-tRNA yang bermuatan. Sehingga mencegah muatan asam amino baru ke dalam rantai peptide yang baru. Mekanisme kerja seperti ini bersifat bakteristatik dan reversibel bila pemberian obat dihentikan. Resistensi terhadap tetrasiklin akibat oleh perubahan permeabilitas selubung sel mikroba. Pada sel peka, akan dikonsentrasikan dari lingkungan oleh suatu proses transport

aktif bergantung pada energi dan tidak segera meninggalkan sel. Pada sel yang resisten, obat ini tidak ditransfer aktif ke dalam sel atau meninggalkan sel dengan cepat sehingga konsentrasi penghambatan tidak dapat dipertahankan.

3. Kloramfenikol

Kloramfenikol menghambat dengan mengganggu pengikatan asam amino baru pada rantai peptide yang mulai timbul, sebagian besar karena kloramfenikol menghambat peptidil transferase. Mekanisme kerja kloramfenikol bersifat bakteristatik. Mikroorganisme akan tumbuh lagi bila pemberian obat kloramfenikol dihentikan. Mikroorganisme yang resisten terhadap kloramfenikol membentuk enzim kloramfenikol asetiltransferase, yang merusak aktivitas obat.

4. Makrolida

Obat golongan makrolid berkompetisi dengan linkomisin pada tempat pengikatan (suatu RNA). Mekanisme kerja makrolida penghambatan sintesis protein adalah eritromisin. Golongan makrolida dapat mengganggu pembentukan kompleks pemula untuk sintesis rantai peptida atau mengganggu reaksi translokasi aminoasil. Beberapa bakteri yang resistensi terhadap makrolida tidak mempunyai reseptor yang tepat pada ribosom yaitu melalui metilasi bagian reseptor.

5. Klindamisin (Linkomisin)

Aktivitas antibakteri golongan klindamisin sama seperti golongan makrolida dalam tempat pengikatan, aktivitas antibakteri, dan cara kerjanya. Diantara kedua obat ini terdapat sifat mempengaruhi yang disebabkan keduanya memiliki reseptor yang sama.

2.3.3.4. Kerja Antimikroba Melalui Penghambatan Sintesis Asam Nukleat

1. Rifampin (antimycobakterial)

Rifampin menghambat pertumbuhan bakteri dengan mengikat kuat pada RNA polymerase yang bergantung pada DNA bakteri. Sehingga bisa dikatakan bahwa rifampisin menghambat sintesis RNA bakteri. Resistensi rifampisin berkembang sebagai mutasi kromosom sangat cepat yang menyebabkan perubahan dalam RNA polimerase (Katzung, 2007).

2. Kuinolon dan Fluorokuinolon

Proses menghambat kuinolon dan fluorokuinolon adalah dengan menghambat kerja DNA girase (topoisomerase II) yang merupakan enzim untuk membuka dan menutup lilitan DNA. Kebanyakan mikroorganisme, asam p-aminobenzoat (PABA) merupakan metabolit paling penting yang digunakan oleh mikroorganisme sebagai suatu prekursor dalam sintesis asam folat dalam jalur yang digunakan pada sintesis asam nukleat. Cara kerja PABA bergantung pada adenosin trifosfat (ATP) untuk menghasilkan asam dehidropteroat, yang kemudian diubah menjadi asam folat (Katzung, 2007). Penggunaan terapeutik pada kuinolon adalah infeksi saluran kemih, prostatitis, penyakit yang ditularkan secara seksual, infeksi gastrointestinal dan abdominal, infeksi saluran nafas, infeksi tulang, sendi dan jaringan lunak, dan infeksi lainnya (Goodman & Gilman, 2010).

3. Sulfonamid

Sulfonamid masuk ke dalam reaksi sebagai pengganti PABA pada bakteri yang rentan dan berkompetisi untuk pusat aktif enzim. Akibatnya terbentuk asam folat yang tidak fungsional dan mencegah pertumbuhan sel bakteri lebih lanjut. Aktivitas hambatan sulfonamid pada pertumbuhan bakteri dapat dilawan dengan PABA yang berlebihan dalam

lingkungan. Tempat reseptor PABA berbeda untuk jenis organisme yang berbeda (Katzung, 2007). Sifat farmakologis sulfonamida diklasifikasikan berdasarkan kecepatan absorpsi dan eksresinya yaitu obat yang diabsorpsi dan diekskresi dengan cepat, seperti sulfisoksazol dan sulfadiazin, obat yang diabsorpsi dengan buruk bila diberikan secara oral sehingga aktif di lumen usus, seperti sulfasalazin, obat yang digunakan terutama secara topikal, seperti sulfasetamida, mafenid, perak sulfadiazin, dan sulfonamida kerja panjang seperti sulfadoksin, yang diabsorpsi dengan cepat, tetapi diekskresi secara lambat. Terapi sulfonamida antara lain untuk infeksi saluran kemih, nakardiosis, toksoplasmosis, penggunaan sulfonamida untuk profilaksis (Goodman & Gilman, 2010).

4. Trimetropim (turunan sulfonamid)

Trimetropim menghambat asam dihidrofolat reduktase pada bakteri dengan efisiensi 50.000 kali lebih besar disbanding enzim yang sama pada sel mamalia. Enzim tersebut mereduksi asam dihidrofolat menjadi asam tetrahidrofolat, yaitu suatu tahap dalam sintesis purin dan akhirnya menjadi DNA. Kombinasi antara sulfonamide dan trimetoprim menghasilkan penghambatan sekuensial pada jalur ini, yang berakibat peningkatan aktivitas yang sinergis (Katzung, 2007). Penggunaan terapeutik trimetoprim pada infeksi saluran kemih, infeksi bakteri pada saluran nafas., infeksi gastrointestinal, infeksi oleh *Pneumocystis jiroveci*, profilaksis pada pasien neutropenik, dan infeksi lainnya (Goodman & Gilman, 2010).

5. Pirimetamin

Pirimetamin menghambat protozoal dihidrofolat reduktase, tetapi lebih aktif terhadap enzim sel mamalia dan oleh karena itu lebih toksik daripada trimetropim. Kombinasi antara pirimetamin dan sulfonamid adalah pilihan pengobatan untuk

toksoplasmosis dan beberapa infeksi protozoa (Katzung, 1997).

2.4. ***Multidrug Resistant Pseudomonas aeruginosa (MDR)***

Resistensi didefinisikan sebagai tidak terhambatnya pertumbuhan bakteri dengan pemberian antibiotik secara sistemik dengan dosis normal yang seharusnya atau kadar hambat minimalnya (Tripathi, 2003). Daya kebal terhadap antimikroba terjadi ketika mikroorganisme seperti bakteri, virus, jamur dan parasit berubah dalam satu atau lain hal yang menyebabkan turun atau hilangnya efektivitas obat, senyawa kimia atau bahan lainnya yang digunakan untuk mencegah atau mengobati infeksi. Bakteri yang mampu bertahan hidup dan berkembang biak, menimbulkan lebih banyak bahaya (WHO, Antimicrobial Resistance, 2013).

Secara literal, MDR berarti tahan terhadap lebih dari satu agen antimikroba, tetapi tidak ada definisi standar untuk MDR telah disetujui oleh komunitas medis. Banyak definisi digunakan untuk mengkarakterisasi pola resistensi multidrug di Gram-positif dan Gram-negatif organisme (Falagas ME et al, 2006; Cohen AL et al, 2008; Hidron AI et al, 2007; MacGowan, 2008; Paterson DL, 2006) .

Pseudomonas aeruginosa adalah penyebab utama infeksi nosokomial dan bertanggung jawab atas 10% dari semua infeksi yang ada di rumah sakit. Tempat isolasi MDR *Pseudomonas aeruginosa* yang paling umum adalah luka (39%), diikuti oleh saluran pernapasan (22%) dan saluran kemih (18%) (Aloush Valerie, 2006).

Metode lain yang digunakan untuk mengkarakterisasi bakteri sebagai MDR adalah ketika mereka resisten terhadap satu agen antimikroba utama (Hidron AI et al, 2007; Siegel JD et al, 2007). Isolat bakteri ini mungkin memiliki kesehatan masyarakat penting karena resistensi hanya terhadap satu antimikroba utama

agen, tetapi mereka sering menunjukkan perlawanan silang atau kebersamaan terhadap beberapa kelas antimikroba, yang menjadikannya MDR. Membuat akronim bakteri berdasarkan ketahanannya terhadap agen antimikroba utama.

Pseudomonas aeruginosa resistant terhadap hampir semua antibiotik termasuk karbapanem. 2-3% *P. aeruginosa* yang resistant terhadap *karbapanem* membawa elemen genetik yang dapat bergerak yang membuat enzim *karbapenemase*, enzim ini membuat antibiotik *karbapanem* tidak efektif sehingga elemen genetik saluler dengan mudah terbagi di antara bakteri dan dengan cepat menyebarkan resistensi (CDC's, 2019).

2.5. LC-MS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*)

LC-MS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*) merupakan sebuah teknik analisis yang menggabungkan dari kemampuan fisik dari kromatografi cair dengan spesifisitas deteksi spektrofotometri massa. Data dari sebuah LC-MS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*) digunakan untuk memberikan informasi seperti struktur, berat molekul kuantitas dan identitas komponen dari sampel tertentu, dan senyawa dipisahkan atas dasar interaksi relatif dengan lapisan kimia partikel isebut fase diam, elusi pelarut melalui kolom disebut fase gerak (Himawan, 2010).

Penggabungan MS dengan LC (LC-MS) merupakan perluasan yang jelas tetapi kemajuan di bidang ini terbatas selama bertahun-tahun karena ketidakcocokan relatif dari sumber ion MS yang ada dengan aliran cairan yang kontinyu. Beberapa antarmuka dikembangkan tetapi rumit untuk digunakan dan tidak dapat diandalkan, sehingga penyerapan oleh laboratorium klinis sangat terbatas. Situasi ini berubah dengan perkembangan sumber ion elektropray oleh Fenn pada tahun 1980-an.1 Produsen dengan cepat mengembangkan instrumen yang dilengkapi dengan sumber semprotan listrik, yang berdampak besar pada biokimia protein dan

peptida. Fenn dianugerahi Hadiah Nobel pada 2002 bersama Koichi Tanaka yang mengembangkan ionisasi laser desorpsi berbantuan matriks, teknik ionisasi MS lain yang sangat berguna untuk analisis molekul biologis. Pada pertengahan 1990-an, harga dan kinerja instrumen LCMS telah meningkat sejauh laboratorium biokimia klinis dapat memanfaatkan teknologi baru (Pitt, 2009).

Cara umum, kromatografi cair (LC) memisahkan komponen sampel berdasarkan perbedaan afinitas (atau kekuatan retensi) untuk fase stasioner atau fase gerak, kemudian mendeteksi komponen yang terpisah menggunakan UV, fluoresensi, atau konduktivitas listrik berdasarkan sifat-sifatnya. Detektor-detektor tersebut terutama memenuhi syarat zat berdasarkan waktu retensi dan waktu substansi berdasarkan intensitas puncak dan daerah puncak. Kromatografi menawarkan resolusi yang bagus, tetapi zat yang mengkuantifikasi dan mengidentifikasi secara akurat dapat menjadi sulit jika beberapa komponen mengelusi kurang lebih pada saat yang sama. Sebaliknya, spektrometri massa (MS) menawarkan teknik mendeteksi yang sangat sensitive mengionisasi komponen sampel menggunakan berbagai metode, kemudian memisahkan ion yang dihasilkan dalam ruang hampa berdasarkan rasio massa ke muatan dan mengukur intensitas masing-masing ion. Karena spektrum massa yang disediakan oleh MS dapat menunjukkan tingkat konsentrasi ion yang memiliki masa tertentu. Itu karena massa adalah informasi khusus untuk molekul tertentu dan MS memungkinkan memperoleh informasi itu secara langsung. Oleh karena itu, system LC-MS menggabungkan resolusi pemisahan kromatografi cair yang luar biasa dengan kemampuan kualitatif spektrometri massa yang luar biasa. Spektrum massa yang diperoleh dari pengukuran pemindaian ini memberikan informasi massa molekul dan structural untuk komponen eluted, yang melengkapi informasi kualitatif berdasarkan waktu retensi yang diperoleh dengan menggunakan detektor LC lain. Selain itu pengukuran SIM (Selected Ion Monitoring) mendeteksi substansi

berdasarkan massa, yang merupakan parameter yang sangat selektif (Heriyanto, 2017)

Prinsip dari LC-MS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*) yaitu pemisahan analit-analit berdasarkan kepolaran, alat terdiri dari kolom untuk fase diam, larutan tertentu untuk fase gerak. Campuran analit nanti terpisah sesuai dengan kepolaran dan kecepatan untuk sampai di detektor atau waktu retensinya akan berbeda, dan teramati di spektrum puncak-puncak terpisah (Himawan, 2010).

Fase gerak cair diberi bantuan pompa yang dialirkan melalui kolom ke detektor. Cuplikan dimasukkan dengan cara penyuntikan ke aliran fase gerak. Dalam kolom tersebut terjadi pemisahan komponen campuran dikarenakan terdapat perbedaan kekuatan interaksi dari fase diam dengan larutan. Larutan dengan dengan fase diam dengan interaksi kurang kuat itu keluar terlebih dahulu dari kolom. Larutan yang berinteraksi dengan fase diam itu keluar kolom, lalu dideteksi oleh detektor, direkam bentuknya yaitu kromatogram (Isnawati, 2013). Keuntungan dari LC-MS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*) ini adalah dapat menganalisis lebih luas berbagai komponen, seperti polaritas tinggi, senyawa termal labil, bermassa molekul tinggi, protein (Himawan, 2010).

Keuntungan dari LC-MS yaitu dapat menganalisis lebih luas berbagai komponen, seperti senyawa termallabil, polaritas tinggi atau bermassa molekul tinggi, bahkan juga protein. Komponen elusi dari kolom kromatografi kemudian diteruskan ke spectrometer massa melalui antar muka khusus Prinsipnya adalah pemisahan analit-analit berdasarkan kepolarannya, alatnya terdiri atas kolom (sebagai fasa diam) dan larutan tertentu sebagai fasa geraknya tekanan tinggi digunakan untuk mendorong fasa gerak. Campuran analit akan terpisah berdasarkan kepolarannya dan kecepatannya untuk sampai ke detektor (waktu retensinya) akan berbeda, hal ini akan teramati pada spektrum yang puncak-

puncaknya terpisah bantuan pompa fasa gerak cair dialirkan melalui kolom kedetektor. Cuplikan dimasukkan kedalam aliran fasa gerak dengan cara penyuntikan. Di dalam kolom terjadi pemisahan komponen-komponen campuran, karena perbedaan kekuatan interaksi antara larutan terhadap fasa diam. Larutan yang kurang kuat interaksinya dengan fasa diam akan keluar dari kolom lebih dulu. Sebaliknya, larutan yang kuat berinteraksi dengan fasa diam maka larutan tersebut akan keluar kolom, kemudian dideteksi oleh detektor dan direkam dalam bentuk kromatogram (Sahidin, 2019).

Ada berbagai keunggulan LC-MS dibandingkan metode kromatografialainnya, di antaranya adalah sebagai berikut (Kumar, 2016);

1. Selektivitas: puncak co-eluting dapat diisolasi dengan selektivitas massa dan tidak dibatasi oleh resolusi kromatografi.
2. Penugasan puncak: sidik jari moleculer untuk senyawa yang diteliti dihasilkan, memastikan penetapan puncak yang benar dengan adanya matriks kompleks.
3. Informasi berat molekul: konfirmasi dan identifikasi senyawa yang dikenal dan tidak diketahui.
4. Informasi struktural: fragmentasi terkontrol memungkinkan penjelasan structural bahan kimia.
5. Pengembangan metode cepat menyediakan identifikasi analit yang dielusidengan mudah tanpa validasi waktu retensi.
6. Kemampuan beradaptasi matriks sampel: Mengurangi waktu persiapan sampel dan karenanya menghemat waktu.
7. Kuantitasi: data kuantitatif dan kualitatif dapat diperoleh dengan mudah dengan pengoptimalan instrument terbatas

2.6. Penentuan Aktivitas Antimikroba

Potensi dari suatu antimikroba diperkirakan dengan membandingkan zona hambat pertumbuhan terhadap

mikroorganisme yang sensitif dari hasil penghambatan suatu konsentrasi larutan uji dibandingkan dengan antibiotik (Fauziah, 2015).

Menurut pratiwi (dalam Prima, 2012) Penentuan aktivitas antimikroba dapat dilakukan dengan dua metode, yaitu metode difusi dan metode dilusi. Pada metode difusi termasuk didalamnya metode *disk diffusion* (tes Kirby & Baur), *E-test*, *ditch-plate technique*, *cup plate technique*. Pada metode dilusi termasuk didalamnya metode dilusi cair dan dilusi padat.

2.6.1. Metode Difusi

- 2.6.1.1. Metode *disk diffusion* (tes Kirby & Baur) menggunakan piringan yang berisi agen antimikroba, kemudian diletakkan pada media agar yang sebelumnya telah ditanami mikroorganisme sehingga agen antimikroba dapat berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media agar (Saraswati, 2015).
- 2.6.1.2. Metode *E-test* digunakan untuk menghitung MIC (*minimum inhibitory konsentrasi*), yaitu konsentrasi minimal suatu agen antimikroba untuk dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Pada metode ini digunakan strip plastik yang mengandung agen antimikroba dari kadar terendah sampai tertinggi dan diletakkan pada permukaan media agar yang telah ditanami mikroorganisme sebelumnya. Pengamatan dilakukan pada area jernih yang ditimbulkan yang menunjukkan kadar agen antimikroba yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada media agar (Sariadji, 2019)
- 2.6.1.3. *Ditch-plate technique*. Pada metode ini sampel uji berupa agen antimikroba yang diletakkan pada parit yang dibuat dengan cara memotong media agar dalam cawan petri pada bagian tengah secara membujur dan mikroba uji

(maksimum 6 macam) digoreskan ke arah parit yang berisi agen antimikroba tersebut (Syarifah & Siti, 2015).

2.6.1.4. *Cup-plate technique*. Metode ini serupa dengan *disk diffusion*, dimana dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antimikroba yang akan diuji (Prima, 2012).

2.6.2. Metode Dilusi (Pengenceran)

Metode dilusi merupakan metode penentuan aktivitas antibakteri dengan kadar antibakteri menurun secara bertahap, menggunakan media cair atau media padat. Metode dilusi ini prosesnya membutuhkan waktu yang lama dan penggunaannya dibatasi pada keadaan tertentu saja. Dasar penentuan antimikroba secara *in vitro* adalah nilai MIC (*Minimum Inhibition Concentration*) dan MBC (*Minimum Bactericidal Concentration*). MIC merupakan konsentrasi terendah bakteri yang dapat menghambat bakteri dengan melihat hasil yang ditunjukkan adanya koloni yang tumbuh pada agar atau kekeruhan pada media cair. Sedangkan nilai MBC adalah konsentrasi terendah antimikroba yang dapat membunuh 99,9% mikroba pada biakan selama waktu yang ditentukan (Yolla Arinda Nur Fitriana, 2019).

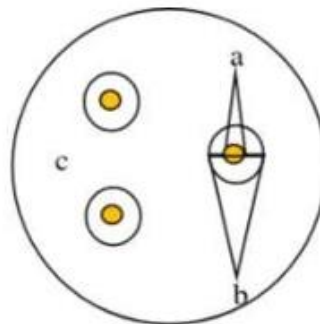
Metode yang digunakan dalam uji aktivitas antibakteri adalah dilusi. Prinsip metode dilusi adalah substansi antimikroba dalam kadar bertingkat dicampurkan ke dalam medium bakteriologis solid atau cair. Metode dilusi dapat digunakan untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) yang ditentukan dengan cara melihat kekeruhan pada tabung uji. Keuntungan metode dilusi adalah bahan uji metode dilusi cair lebih mudah berinteraksi dengan bakteri karena suspensi bakteri tersebar merata sehingga metode ini lebih peka. (Jawetz., et al, 2008).

MIC dapat digunakan untuk menentukan tingkat resistensi dan sebagai petunjuk penggunaan antimikroba. (Yolla Arinda Nur Fitriana, 2019). Sedangkan penentuan konsentrasi minimum

antibiotik yang dapat membunuh bakteri (MBC) dilakukan dengan cara menginokulasi bakteri pada pembenihan cair yang digunakan untuk MIC ke dalam agar kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. MBC ditandai dengan apabila sudah tidak terjadi pertumbuhan mikroba lagi pada agar (Yolla Arinda Nur Fitriana, 2019).

2.7. Pengukuran Zona Hambat

Aktivitas antibakteri dinyatakan positif apabila terbentuk zona hambat berupa zona bening disekeliling kertas cakram. Bagian yang dihitung dengan jangka sorong adalah diameter dari zona hambat yang terbentuk Saraswati (2015) Diameter zona hambat dideskripsikan dengan gambar dibawah ini :



Gambar 2.2 Diameter zona hambat

Keterangan:

a = Diameter kertas cakram (6 mm)

b = Diameter zona hambat yang terbentuk (mm)

c = Daerah yang ditumbuhi bakteri

Menurut Suryawiria (dalam Pradana, 2014), berdasarkan zona hambat yang terbentuk maka aktivitas antibakteri dapat digolongkan menjadi beberapa golongan yaitu antibakteri yang tergolong lemah (zona hambat < 5 mm), sedang (zona hambat

antara 5-10 mm), kuat (zona hambat antara 10-20 mm), dan tergolong sangat kuat (zona hambat > 20 mm).

2.8. Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses menggunakan pelarut yang sesuai untuk memisahkan zat dari campuran. Ketika konsentrasi pelarut dan konsentrasi dalam sel tumbuhan mencapai kesetimbangan, proses ekstraksi dihentikan, dan pelarut dipisahkan dari sampel menggunakan peralatan yang disediakan melalui proses filtrasi (Mukhrhani, 2016).

2.8.1. Tujuan Ekstraksi

Ekstraksi bertujuan untuk mengekstrak semua komponen kimia yang terkandung dalam Simplisia. Dasar dari ekstraksi ini adalah perpindahan massa komponen padat ke pelarut. Di sini, migrasi mulai terjadi pada lapisan antarmuka dan kemudian berdifusi ke dalam pelarut.

2.8.2. Metode Ekstraksi

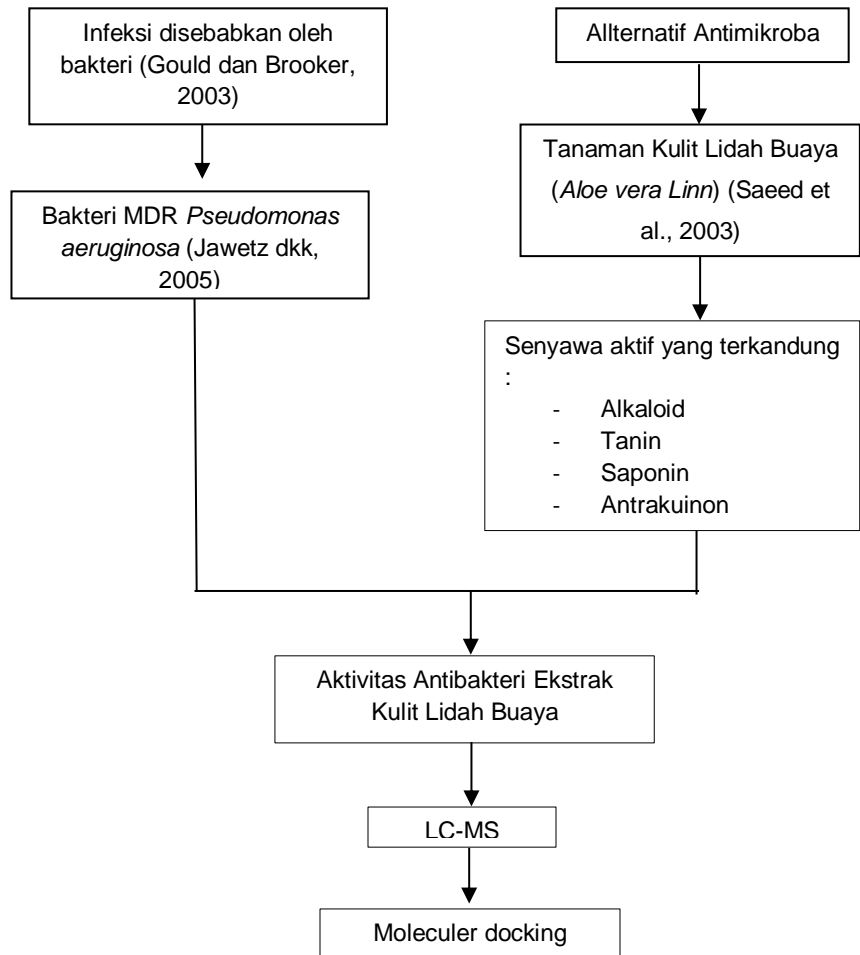
2.5.2.1. Ekstraksi secara dingin

- a. Metode maserasi. Maserasi adalah metode ekstraksi sederhana di mana serbuk Simplicia direndam dalam cairan pada suhu kamar selama beberapa hari untuk melindunginya dari cahaya.
- b. Metode soxhletasi. Soxhletasi merupakan penyarian simplisia secara berkesinambungan, cairan penyari dipanaskan sehingga menguap, uap cairan penyari terkondensasi menjadi molekul-molekul air oleh pendingin balik dan turun menyari simplisia dalam klongsong dan selanjutnya masuk kembali ke dalam labu alas bulat setelah melewati pipa sifon
- c. Metode perkolasi. Perkolasi adalah cara penyarian dengan mengalirkan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi.

2.5.2.2. Ekstraksi secara panas

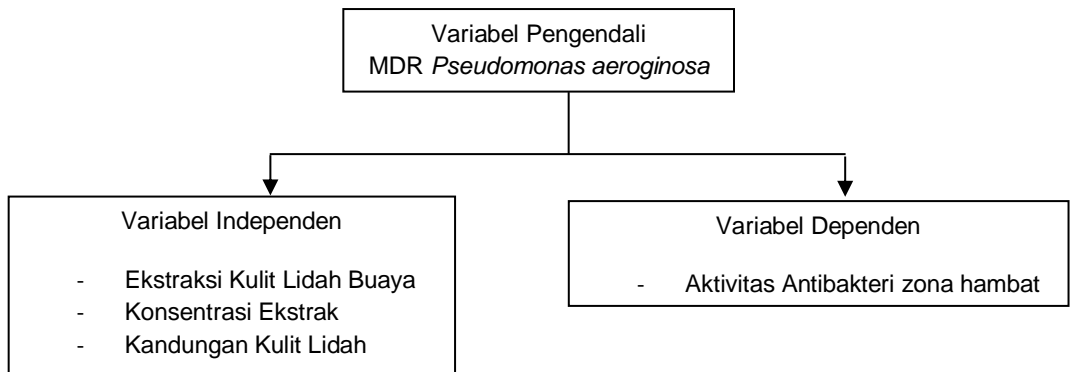
- a. Metode refluks. Ini digunakan untuk mengekstrak sampel yang memiliki tekstur kasar dan tahan terhadap pemanasan langsung.
- b. Proses destilasi uap. Distilasi uap adalah metode umum untuk memulihkan minyak atsiri (esensial) dari sampel tanaman.

2.9. Kerangka Teori



Gambar 2.3. Kerangka Teori

2.10. Kerangka Konsep



Gambar 2.4. Kerangka Konsep

2.11. Hipotesis

$H_0 =$

1. Ekstrak etanol kulit lidah buaya tidak memiliki kandungan senyawa kimia yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*
2. Ekstrak etanol kulit lidah buaya tidak memiliki aktivitas dalam menghambat pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

$H_1 =$

1. Ekstrak etanol kulit lidah buaya memiliki kandungan senyawa kimia yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*
2. Ekstrak etanol kulit lidah buaya memiliki aktivitas dalam menghambat pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*