

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Buah Mangga Manalagi (*Mangifera indica* L. kultivar Manalagi)

2.1.1 Definisi

Mangga Manalagi didefinisikan sebagai salah satu kultivar (varietas hasil budidaya) unggulan dari spesies mangga (*Mangifera indica* L.), famili Anacardiaceae, yang secara genetik berbeda dari kultivar mangga lainnya (Jabar *et al.*, 2024; Sari *et al.*, 2023). Manalagi merupakan varietas mangga lokal unggulan Indonesia yang dikenal secara luas, khususnya berasal dari daerah Probolinggo, Jawa Timur (Susanti *et al.*, 2024; Afiyanti, 2022). Varietas ini memiliki nilai ekonomi tinggi dan sering diperdagangkan karena kualitas buahnya (Nugroho *et al.*, 2023).



Sumber: Ardiani dan Jannah (2023)

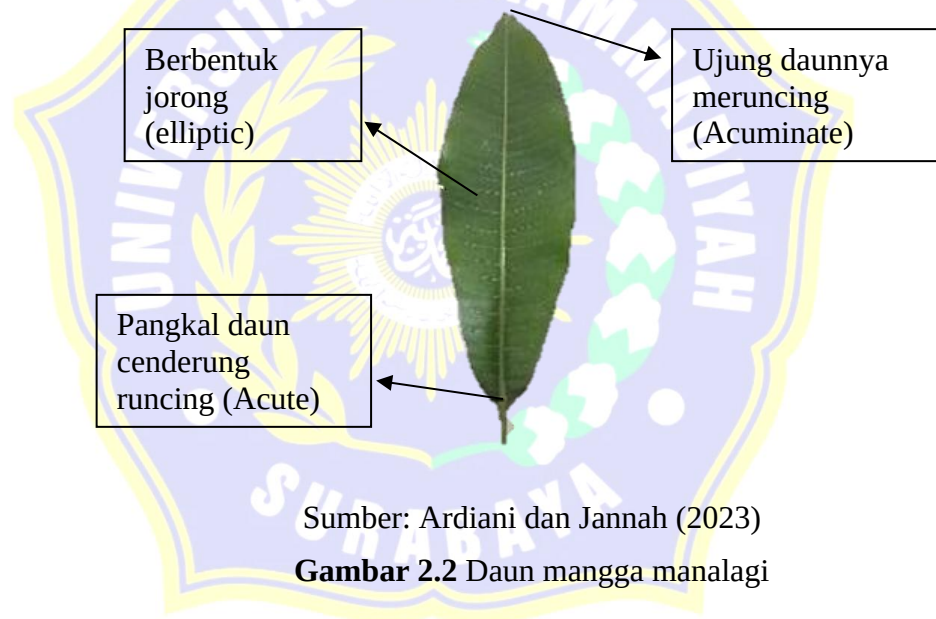
Gambar 2.1 Buah Mangga Manalagi

2.1.2 Morfologi

Morfologi kultivar Mangga Manalagi dapat dibedakan dari varietas mangga lainnya berdasarkan karakteristik daun dan buahnya (Sari *et al.*, 2023).

Morfologi daun

1. Bentuk bilah daun : Daun Mangga Manalagi umumnya berbentuk jorong (elliptic).
2. Bentuk pangkal daun : pangkal daun cenderung runcing (Acute).
3. Bentuk ujung daun : ujung daunnya meruncing (Acuminate) (Sari *et al.*, 2023).



Morfologi buah

- | | |
|----------------|---|
| 1. Bentuk buah | : Bentuk buah mangga manalagi umumnya agak bulat atau oval. |
| 2. Warna kulit | : Kulit berwarna hijau. |
| 3. Aroma | : Memiliki aroma wangi yang tajam. |
| 4. Daging buah | : Daging buahnya cenderung lebih keras |

dibandingkan arumanis, memiliki rasa manis pekat, dan kadang memiliki sedikit tekstur berserat (Setiawan dan Budiarti, 2024 ; Arifin dan Susanto, 2025).



Sumber: Ardiani dan Jannah (2023)

Gambar 2.3 Morfologi Buah mangga manalagi

2.1.3 Taksonomi

Kingdom : *Plantae*

Divisio: *Spermatophyta*

Class : *Magnoliopsida (Dicotyledonae)*

Ordo : *Sapindales*

Famili : *Anacardiaceae*,

Genus : *Mangifera*,

Spesies: *Mangifera indica L*

Kultivar atau varietas : *Manalagi (Mangifera indica L. Var. Manalagi)*(Afiyanti, 2022 ; Jabar *et al.*, 2024).

2.1.4 Manfaat

Mangga manalagi memiliki potensi yang signifikan sebagai agen antibakteri, pemanfaatan mangga manalagi khususnya pada ekstrak buahnya dapat diformulasikan menjadi sediaan antidiare (misalnya, serbuk *effervescent*) yang menawarkan alternatif pengobatan alami untuk penyakit yang disebabkan oleh *E.coli* (Farid, *et al.*, 2023). Ada juga pada penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak dari buah mangga manalagi memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan *E.coli* secara *in vitro*, yang diukur melalui terbentuknya zona hambat (Mulangsri dan Zulfa, 2020; Yuliana *et al.*, 2023).

2.1.5 Kandungan dan Mekanisme Antibakteri

Bagian kulit dan buah mangga manalagi secara umum mengandung.

1. Polifenol (Senyawa Fenolik Total)

Polifenol adalah kelompok besar senyawa kimia yang memiliki satu atau lebih gugus hidroksil (—OH) yang melekat pada cincin benzena (Aswan *et al.*, 2023; Nugroho *et al.*, 2023). Polifenol total merupakan indikator utama potensi antioksidan suatu bahan alam. Pada Mangga Manalagi, kulit buah dan biji dilaporkan memiliki kandungan polifenol yang sangat tinggi dibandingkan dengan daging buah (Nugroho *et al.*, 2023; Dewi dan Agustina, 2020). Mekanisme polifenol sebagai zat antibakteri bertindak sebagai racun di dalam protoplasma, merusak serta menembus dinding sel. Polifenol dapat mengakibatkan kerusakan pada sel bakteri, denaturasi protein, menonaktifkan enzim, dan menyebabkan kebocoran sel. Kandungan tinggi ini menjadikan limbah kulit dan biji Mangga Manalagi potensial sebagai bahan baku pangan

fungsional atau obat.

Tabel 2. 1 Mekanisme Antibakteri Polifenol

Mekanisme	Penjelasan
Gangguan Membran Sel	Polifenol bersifat toksik terhadap mikroorganisme. Mereka berinteraksi dengan membran sel bakteri, terutama fosfolipid, meningkatkan permeabilitas membran, dan menyebabkan kebocoran komponen intraseluler esensial (seperti protein danion) (Hutagaol <i>et al.</i> , 2025).
Inhibisi Enzim	Senyawa fenolik dapat menghambat kerja enzim-enzim penting yang diperlukan untuk metabolisme bakteri (misalnya, enzim pada siklus Krebs atau pembentukan ATP), sehingga mengganggu fungsi sel vital dan menyebabkan kematian (Nugroho <i>et al.</i> , 2023).

2. Flavonoid

Flavonoid adalah subkelas dari polifenol yang memiliki struktur C6—C3—C6 (dua cincin benzena dihubungkan oleh rantai karbon tiga) (Wulandari dan Hartati, 2024). Senyawa ini dikenal kuat sebagai agen antioksidan, anti-inflamasi, dan antibakteri (Setiawan dan Buadiarti, 2024). Flavonoid telah teridentifikasi pada kulit dan biji Mangga Manalagi. Mekanisme antibakterinya melibatkan kerusakan membran sitoplasma bakteri dan penghambatan sistem enzim (Febriani *et al.*, 2025).

Tabel 2. 2 Mekanisme Antibakteri Flavonoid

Mekanisme	Penjelasan
Kerusakan Sitoplasma	Flavonoid dapat merusak membran sitoplasma bakteri. Kerusakan ini mengganggu aktivitas apoenzim, menyebabkan denaturasi protein, dan menghambat produksi energi bakteri, yang berujung pada kerusakan dan lisis sel (Febriani <i>et al.</i> , 2025).
Inhibisi Sintesis Asam Nukleat	Beberapa flavonoid, terutama pada konsentrasi tinggi, dapat berinteraksi langsung atau tidak langsung dengan DNA atau RNA bakteri, menghambat proses replikasi dan transkripsi, yang

esensial untuk reproduksi bakteri (Wulandari dan Hartati, 2024).

3. Tanin

Tanin adalah polifenol dengan bobot molekul yang tinggi dan mampu mengikat protein (Susilo dan Lestari, 2020). Kehadiran tanin memberikan rasa sepat atau kelat (astringent) dan dikenal memiliki sifat antimikroba (Puspitasari dan Handayani, 2021). Biji dan kulit Mangga Manalagi mengandung tanin. Aktivitas antibakteri tanin bekerja dengan cara mengkoagulasi protoplasma sel bakteri dan menghambat pembentukan dinding sel, menyebabkan lisis dan kematian sel (Febriani *et al.*, 2025; Puspitasari dan Handayani, 2021).

Tabel 2. 3 Mekanisme Antibakteri Tanin

Mekanisme	Penjelasan
Koagulasi Protein (<i>Astringency</i>)	Tanin memiliki afinitas tinggi terhadap protein. Mereka bekerja dengan cara mengikat dan mengkoagulasi protein pada protoplasma sel bakteri. Proses ini menyebabkan protoplasma mengeras dan dinding sel mengalami lisis (pecah), yang mengakibatkan kematian sel (Febriani <i>et al.</i> , 2025; Rahmawati <i>et al.</i> , 2020).
Penghambatan Dinding Sel	Tanin juga dapat menghambat pembentukan atau perbaikan dinding sel bakteri. Kerusakan pada struktur dinding sel, terutama pada bakteri Gram positif, membuat sel rentan terhadap tekanan osmotik dan lisis (Puspitasari dan Handayani, 2021).

4. Mangiferin

Definisi dan Keberadaan: Mangiferin adalah senyawa xanthone glikosida yang merupakan salah satu polifenol spesifik utama pada genus *Mangifera*. Mangiferin telah diisolasi dan diidentifikasi sebagai senyawa

dengan aktivitas antioksidan, antivirus, antidiabetik, dan antitumor yang sangat kuat (Handayani *et al.*, 2020).

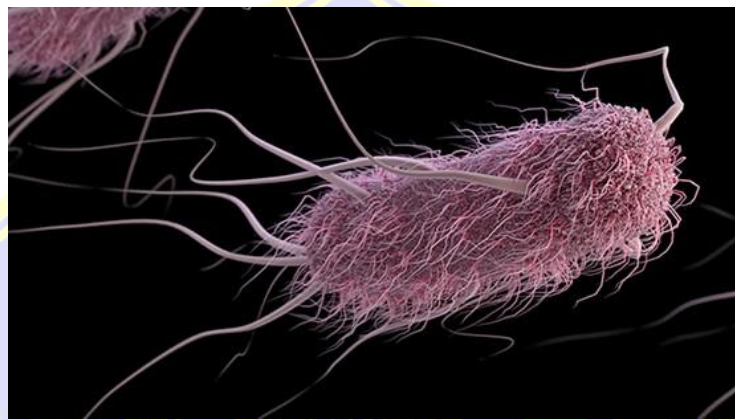
Pada Mangga Manalagi, Mangiferin utamanya ditemukan dalam konsentrasi tinggi pada daun dan kulit buah (Afiyanti, 2022; Zakiyah, 2022). Senyawa ini diduga memiliki peran langsung dalam aktivitas antibakteri dengan cara menghambat replikasi sel bakteri (Utami *et al.*, 2023).

Tabel 2. 4 Mekanisme Antibakteri Mangiferin

Mekanisme	Penjelasan
Hambatan Replikasi Sel	Mangiferin diduga kuat bekerja sebagai agen antimikroba dengan cara menghambat replikasi sel pada bakteri. Ini mengganggu pembelahan sel dan pertumbuhan populasi bakteri secara keseluruhan (Utami <i>et al.</i> , 2023).
Sinergi Antioksidan	Meskipun bukan mekanisme antibakteri langsung, Mangiferin sebagai antioksidan kuat membantu menurunkan stres oksidatif yang diciptakan oleh sel inang (tubuh). Kondisi ini secara tidak langsung mendukung sistem kekebalan tubuh inang dalam melawan infeksi bakteri (Afiyanti, 2022).

2.2 Bakteri *Escherichia coli*

Escherichia coli adalah salah satu spesies pertama yang diklasifikasikan sebagai bakteri gram negatif dan biasanya merupakan bagian dari flora normal saluran pencernaan organisme seperti manusia dan hewan. Theodor Escherich menemukan bahwa bakteri ini dapat tumbuh di tinja dan menyebabkan diare, muntah, dan gangguan kesehatan lainnya. (Sitaba *et al.*, 2022).



Sumber : CDC (2024)

Gambar 2.4 E.Coli)

2.2.1 Klasifikasi

Filum : *Proteobacteria*

Kelas : *Gamma Proteobacteria*

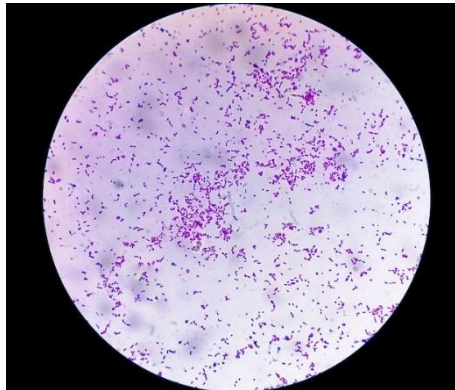
Ordo : *Enterobacteriales*

Familia: *Enterobacteriaceae*

Genus : *Escherichia*

Spesies: *Escherichia coli* (Apriansah, 2024)

2.2.2 Morfologi



Sumber: Sutiknowati (2016)

Gambar 2.5 Morfologi *E.coli* pada mikroskop pewarnaan gram

Escherichia coli adalah bakteri Gram-negatif yang paling banyak dipelajari dan sering digunakan sebagai indikator sanitasi (Rahmawati *et al.*, 2020). Morfologinya dapat dijelaskan dari karakteristik mikroskopis (sel) dan makroskopis (koloni).

1. Morfologi sel (Mikroskopis)

Tabel 2. 5 Morfologi sel (Mikroskopis)

Karakteristik	Deskripsi Detail
Bentuk sel	Batang pendek (basil) atau kokobasil (batang sangat pendek), dengan ujung membulat (Sugiarti <i>et al.</i> , 2024; Utami <i>et al.</i> , 2024).
Ukuran	Umumnya memiliki panjang sekitar 2 μm dan lebar 0,4–0,7 μm (Sugiarti <i>et al.</i> , 2024; Basavaraju dan Gunashree, 2022).
Sifat gram	Gram negatif. Hasil pewarnaan gram menunjukkan sel bakteri berwarna merah muda atau merah (Utami <i>et al.</i> , 2024; Wijayanti <i>et al.</i> , 2023).
Motilitas	Sebagian besar strain bersifat motil (bergerak) karena memiliki flagela peritrikus (flagela tersebar di seluruh permukaan sel). Beberapa strain mungkin non-motil (Basavaraju dan Gunashree, 2022).
Kapsul /pili	Memiliki struktur pelengkap seperti kapsul (pada strain tertentu) dan pili atau fibriae yang menjulur dari permukaan,

yang berperan dalam perlekatan pada sel inang (Sugiarti *et al.*, 2024; Basavaraju dan Gunashree, 2022).

2. Morfologi Koloni (Makroskopis)

Tabel 2. 6 Morfologi Koloni (Makroskopis)

Media pertumbuhan	Deskripsi koloni khas
Nutrient agar (NA)	Koloni berbentuk bulat, tebal, abu-abu keputihan, lembap, halus, dan mungkin opak atau tembus cahaya (Basavaraju dan Gunashree, 2022).
MacConkey agar (MCA)	<i>E.coli</i> adalah bakteri pemfermentasi laktosa (<i>lactose fermenter</i>). Koloni berwarna merah muda hingga merah bata karena fermentasi laktosa menghasilkan asam yang menurunkan pH, menyebabkan perubahan warna indikator media (Basavaraju dan Gunashree, 2022; Irma <i>et al.</i> , 2023).
Eosin Methylene Blue Agar (EMBA)	Koloni yang paling khas dan diagnostik. <i>E.coli</i> memfermentasikan laktosa dan sukrosa dengan kuat, menghasilkan asam yang menyebabkan koloni berwarna hijau metalik mengkilap (<i>metallic greenish sheen</i>) (Utami <i>et al.</i> , 2024; Yulisa <i>et al.</i> , 2023).

2.2.3 Patogenesis dan Patologi Bakteri *Escherichia coli*

Patogenesis dan patologi *Escherichia coli* (*E.coli*) sangat bervariasi tergantung pada patotipe yang terlibat. Setiap strain patogenik telah mengakuisisi gen virulensi unik yang menentukan mekanisme penyakitnya (Patogenesis) dan kerusakan jaringan yang ditimbulkan (Patologi). Berikut adalah penjelasan patogenesis dan patologi dalam bentuk tabel komprehensif, dibagi menjadi strain penyebab penyakit usus dan ekstraintestinal.

Tabel 2. 7 Patogenesis dan Patologi Bakteri *Escherichia coli*

Patotipe	Area Infeksi Utama	Patogenesis (Mekanisme Penyakit)	Patologi (Dampak pada jaringan)
Enterotoxigenic <i>E.coli</i> (ETEC)	Usus Halus (Toksin)	Adhesi melalui faktor kolonisasi (CFs). Pelepasan	Tidak ada kerusakan sel epitel yang signifikan. Penyakit

Tabel 2.7 Lanjutan

		Toksin LT/ST yang mengaktifkan cAMP/cGMP, menyebabkan sekresi ion yang berlebihan ke lumen usus (Toro <i>et al.</i> , 2023).	disebabkan oleh disfungsi saluran ion, menghasilkan diare cair sekretori tanpa darah atau sel radang
Enteropathogenic <i>E.coli</i> (EPEC)	Usus halus dan besar (Destruktif)	Sistem sekresi tipe III (T3SS) menyuntikkan protein (Tir). Interaksi Tir dengan adhesin intimin memicu penataan ulang aktin, membentuk lesi Attaching and Effacing (A/E) (Garmendia <i>et al.</i> , 2022).	Kerusakan dan hilangnya mikrovili (<i>effacement</i>) pada sel epitel. Menyebabkan malabsorpsi dan diare osmotik akibat gangguan fungsi penyerapan.
Shiga Toxin producing <i>E.coli</i> (STEC/EHEC)	Usus besar dan sistemik (Toksinik)	Mirip EPEC, membentuk lesi A/E. Virulensi utama Adalah Toksin Shiga (Stx), yang memasuki darah, mengikat reseptor Gb3 pada sel endotel, dan menghentikan sintesis protein (Patel <i>et al.</i> , 2023).	Kolitis hemoragik di usus. Secara sistemik, menyebabkan kerusakan endotel ginjal dan pembentukan trombi mikro (mikroangiopati), berujung pada Sindrom Uremik Hemolitik (HUS).
Enteroinvasive <i>E.coli</i> (EIEC)	Kolon (Usus Besar)	Menggunakan plasmid invasif (p	Destruksi/ulserasi mukosa kolon dan infiltrasi sel

Tabel 2.7 Lanjutan

	(Invasif)	INV) untuk mengivasi sel epitel kolon. Bakteri bereplikasi intraseluler dan menyebar lateral ke sel yang berdekatan (Sila, 2021).	radang (neutrophil) yang hebat. Secara klinis termanifestasi sebagai disentri (diare berdarah dan bernanah).
Uropathogenic <i>E.coli</i> (UPEC)	Saluran kemih (Ekstraintestinal)	Adhesi spesifik melalui fibriae (ke ginjal) dan tipe 1 fibriae (ke kandung kemih). Invasi sel epitel dan pembentukan komunitas bakteri intraseluler (IBC) sebagai reservoir (Frick-Cheng <i>et al.</i> , 2020; Nursifa <i>et al.</i> , 2025).	Peradangan akut (sistitis atau pielonefritis). IBC menyebabkan pengelupasan sel urotelium yang terinfeksi dan berkontribusi pada infeksi saluran kemih (ISK) berulang.
ExPEC (Penyebab Sepsis/Meningitis)	Sistemik (Darah, CNS)	Memiliki kapsul polisakarida untuk menghindari fagositosis. Pelepasan lipopolisakarida (LPS) (Endotoksin) saat lisis di aliran darah (Russo & Johnson, 2021).	Aktivasi respon inflamasi sistemik massif (badai sitokin). Menyebabkan disfungsi endotel yang luas, hipotensi, dan koagulasi intravascular, berujung pada syok septic dan kegagalan multiorgan.

2.2.4 Faktor Virulensi Bakteri *E.Coli*

1. Adhesi (Perlekatan dan Kolonisasi)

Adhesin merupakan bagian dari permukaan yang membantu menempel pada sel inang tertentu, yang merupakan tahap awal dalam proses infeksi.

Tabel 2. 8 Adhesi (Perlekatan dan Kolonisasi)

Faktor Virulensi	Patotipe Utama	Fungsi Spesifik
Pili Tipe 1 (Fim)	UPEC	Adhesin yang paling umum, memungkinkan perlekatan pada sel epitel kandung kemih (sistitis)
Pili P (Pap)	UPEC	Adhesin yang kuat untuk sel tubulus ginjal, terkait dengan infeksi saluran kemih bagian atas (pielonefritis) (Moblely <i>et al.</i> , 2021).
Intimin (Eae)	EPEC, EHEC	Protein membran luar yang memediasi perlekatan erat (Attaching and Effacing / A/E) pada sel epitel usus, menyebabkan kerusakan mikrovili.
Faktor Kolonisasi (CFs)	ETEC	Berbagai fimbriae (misalnya CFA/I, CFA/II) yang memungkinkan perlekatan pada usus halus.



2. Toksin

Toksin ialah zat berbahaya yang mengganggu kerja sel inang, mengakibatkan kerusakan jaringan atau pelepasan cairan yang tidak teratur.

Tabel 2. 9 Toksin

Faktor Virulensi	Patotipe Utama	Mekanisme dan Efek
Toksin Shiga (Stx)	EHEC	Toksin AB5 yang berbahaya; mengganggu pembentukan proteindalam sel inang dengan merusak rRNA 28S, mengakibatkan kematian sel endotel. Ini merupakan faktor utama yang menyebabkan diare berdarah dan Sindrom Hemolitik Uremik (HUS) (Pérez-Pascual <i>et al.</i> , 2020).
Toksin Tahan Panas (ST)	ETEC	Mengaktifkan guanilat siklase pada sel inang dan meningkatkan kadar cGMP.
Toksin Tidak Tahan Panas (LT)	ETEC	Sama seperti Toksin Kolera; mengaktifkan adenilat siklase pada sel inang, meningkatkan kadar cAMP, yang menyebabkan keluarnya cairan dalam jumlah besar (Kaper dan Nataro, 2023).
Hemolisin- α (HlyA)	UPEC, ExPEC	Toksin yang membentuk pori dan merusak sel-sel inang (seperti sel darah merah dan sel epitel pada saluran kemih) membantu dalam proses invasi serta melepaskan nutrisi.
Cytotoxic Necrotizing Factor (CNF1)	UPEC, ExPEC	Menghambat protein sinyal Rho GTPases, yang mengakibatkan perubahan struktur sitoskeletal dan kematian sel.

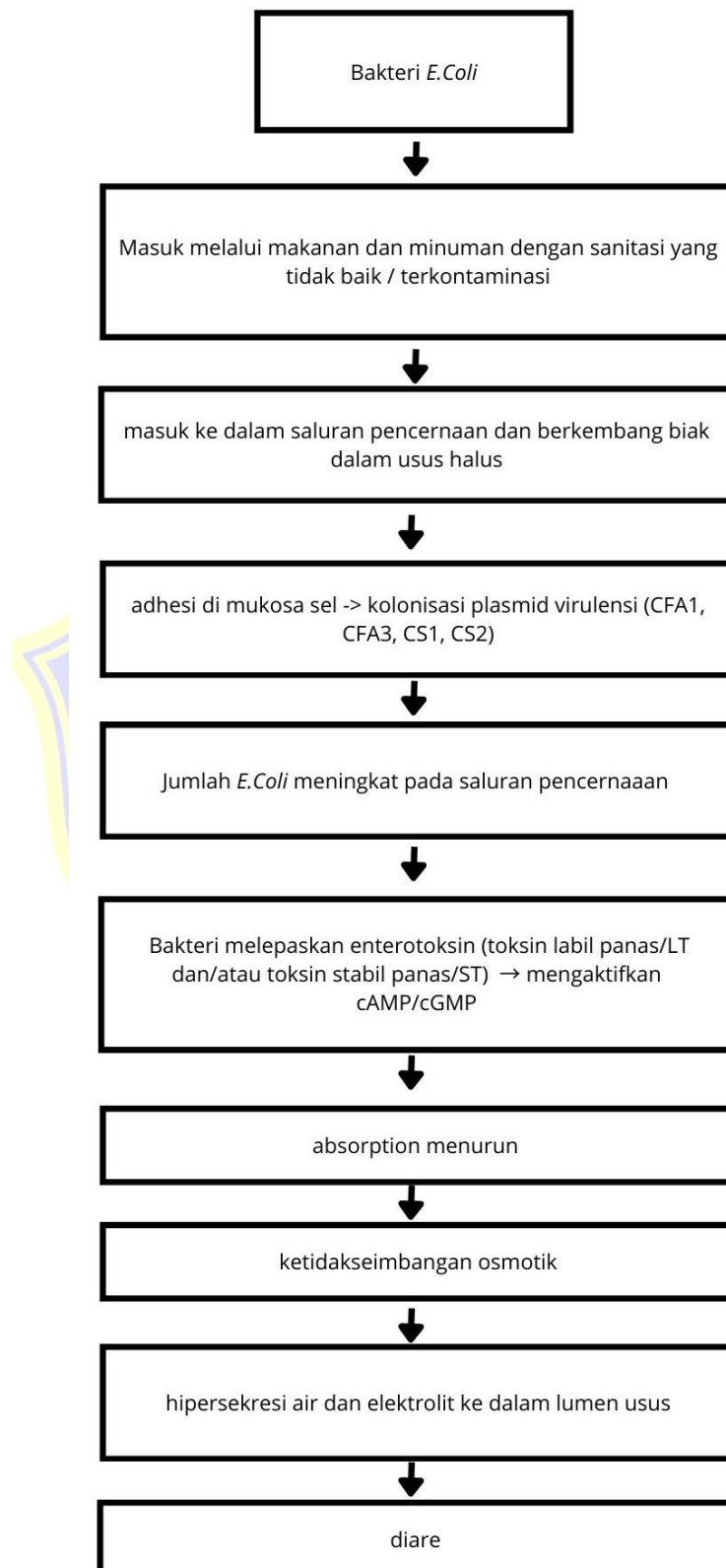
3. Faktor Invasif, Nutrisi, dan Imun

Faktor-faktor ini memungkinkan bakteri untuk masuk ke dalam sel, memperoleh nutrisi, dan melawan sistem kekebalan tubuh inang.

Tabel 2. 10 Faktor Invasif, Nutrisi, dan Imun

Faktor Virulensi	Patotipe Utama	Fungsi Spesifik
Protein (Ipa)	Invasif EIEC	Memungkinkan bakteri untuk menginduksi penyerapan oleh sel epitel usus, replikasi intraseluler, dan penyebaran lateral (Chaudhuri et al., 2022).
Siderofor (misalnya Aerobaktin, Yersiniabaktin)	UPEC, ExPEC	Memungkinkan bakteri untuk mengikat dan mengakuisisi besi (Fe), yang sangat penting untuk pertumbuhan, dari protein inang (Russo and Johnson, 2020).
Kapsul (K1)	NMEC, ExPEC	olisakarida yang menutupi bakteri, memberikan perlindungan dari fagositosis dan melindunginya dari sistem komplemen inang.

2.3 Patofisiologi *E.Coli* Menyebabkan Diare



Gambar 2. 6 Patofisiologi *E.Coli* Menyebabkan Diare

2.4 Uji Efektivitas

2.4.1 Metode Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan komponen suatu senyawa menggunakan campuran dengan tujuan mengisolasi komponen yang ada dalam sampel. Ekstrak yang digunakan didasarkan pada kemampuannya untuk melarutkan bahan aktif secara maksimal. Batasnya dibentuk oleh ekstrak yang mengandung berbagai bahan kimia. Prinsip metode ini didasarkan pada pembagian komponen campuran dengan homogenitas tertentu antara dua inovasi yang tercampur penuh. (Andrian, 2018).

Pembuatan ekstrak dapat dilakukan melalui metode maserasi, perkolasi, atau soxhletasi. Dalam metode maserasi, ekstrak dibuat dengan mengambil serbuk simplisia kering sebanyak 1 bagian, kemudian dicampurkan dengan 10 bagian pelarut dan dimasukkan ke dalam maserator. Selanjutnya, campuran tersebut direndam selama 6 jam sambil sesekali diaduk, lalu dilanjutkan dengan perendaman selama 18 jam. Setelah itu, maserat yang telah direndam dipisahkan menggunakan cara filtrasi, sentrifugasi, atau dekantasi. Proses penyaringan dapat dilakukan kembali sekurang-kurangnya satu kali dengan menggunakan pelarut yang sama dalam volume setengah dari sebelumnya. Maserat yang telah diperoleh dikumpulkan, sedangkan pelarut yang tersisa diuapkan menggunakan alat rotavapor hingga menghasilkan ekstrak berbentuk kental (Kementerian Kesehatan RI, 2017).

Ekstraksi menggunakan pelarut dapat dilakukan dengan dua metode, yaitu metode dingin dan metode panas. Pada metode dingin, biasanya digunakan teknik seperti maserasi dan perkolasi. Sementara itu, pada metode panas, ekstraksi dapat dilakukan dengan beberapa cara, seperti reflik, soxhlet, digesti, infus, dan dekok (Departemen Kesehatan RI, 2000).

a. Ekstrak Cara Dingin

Metode ini tidak menggunakan panas selama ekstraksi, sehingga campuran tidak rusak karena panas. Ada dua jenis ekstrak dingin.

1. Ekstrak Secara Maserasi

Ekstraksi dengan maserasi merupakan suatu proses penyaringan bahan alam menggunakan campuran yang telah dimaserasi beberapa kali pada suhu ruangan. Pelarut yang dipisahkan menembus dinding organ dan mendidih serta larut dalam rongga organ yang berisi organ yang terbakar. Antagonisme konsentrasi larutan zat aktif di dalam dan luar organ memungkinkan air digunakan sebagai filtrat. , etanol, metanol, pelarut. yang lain. Keuntungan metode penyaringan pelunakan adalah kemudahan pengoperasian dan alat yang digunakan. (Putri, 2018).

2. Ekstrak Secara Perkolasi

Perkolasi merupakan metode penyaringan di mana filtrat dialirkan melalui bubuk bahan alami yang dibasahi. Prinsip perkolasi adalah menempatkan bahan alam dalam wadah silinder, di mana ia dipisahkan dari bahan awal dalam bentuk berpori. Filtrat dialirkan dari atas ke bawah melalui bubuk yang digiling. Larutan penyaring melarutkan bahan aktif organ dan mengubahnya menjadi keadaan padat. Karena momentum ke bawah, hambatan energi muatan menjadi independen dan solusi di atas dibatasi oleh peregangan latar belakang, penghalusan, mosaik, gaya kapiler, dan gaya geser. (Andriani, 2018).

3. Ekstrak Cara Panas

Metode ini jelas menyangkutkan bahan dalam pembuatannya dengan

adanya cara bahan dengan secara spontan akan memperlihatkan jalannya penyaringan dipertimbangkan dengan cara sejuk. Metode refluks adalah, ekstrak dengan alat oxhltet dan infusa.

4. Ekstrak secara refluks

Teori di balik ekstraksi refluks adalah memanaskan larutan filter hingga menjadi berbusa. Filter bergerak ke atas melalui 18 simplisia bubuk dan set filter uap didinginkan oleh pendingin ulang. Embun jatuh melalui bubuk herbal, melarutkan bahan aktif dan mengembalikannya ke dalam botol. Solusi ditemukan dan proses di atas diulang.

5. Ekstraksi secara Soxhlet

Ekstraksi soxhlet merupakan proses ekstraksi campuran, biasanya dilakukan dengan hati-hati setiap kali menggunakan peralatan bertenaga, menghasilkan ekstrak reaktif kontinyu yang diperbarui secara relatif konstan dalam pendinginan lengkap.

6. Ekstraksi secara infusa

Infusa adalah ekstrak yang menggunakan air sebagai pelarut dan meresap ke dalam pemanas air dalam beberapa menit (15 hingga 20 menit) (Andriani, 2018).

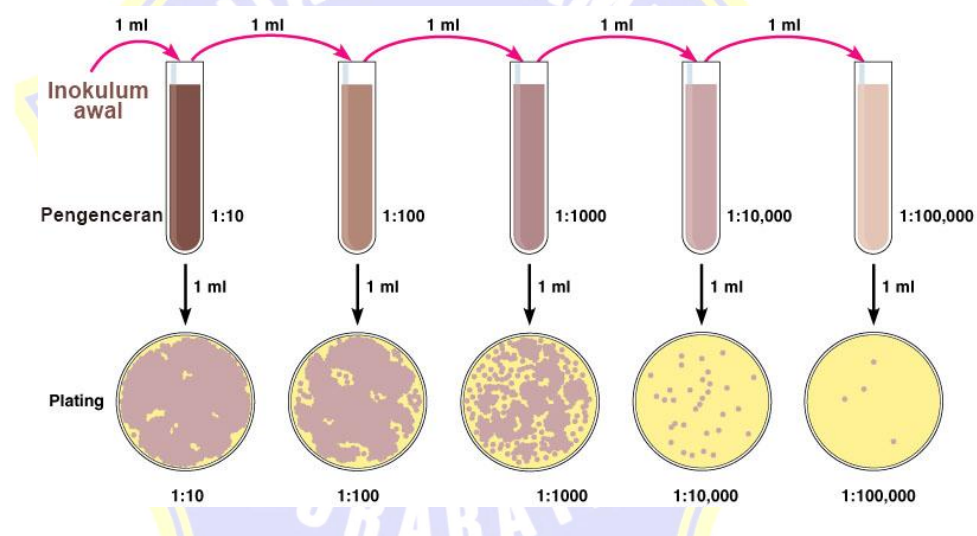
2.4.2 Uji Aktivitas Antibakteri

Penentuan tingkat respons bakteri patogen terhadap suatu senyawa antibakteri dapat dilakukan melalui salah satu dari dua metode utama, yaitu metode pengenceran dan metode difusi. Uji ini dilakukan dengan menggunakan bakteri sebagai bahan uji serta sampel antibiotik sebagai acuan untuk dibandingkan. Metode tersebut digunakan untuk mengevaluasi kemampuan suatu senyawa

sebagai antibiotik atau mengetahui tingkat kepekaan bakteri terhadap antibiotik tertentu (Riedel *et al.*, 2022; Gilmore dan Denyer, 2023).

2.4.4 Metode Pengenceran

Metode ini dilakukan dengan menambahkan sejumlah zat antimikroba ke dalam media bakteriologis yang berbentuk cair atau padat. Umumnya zat antimikroba tersebut diencerkan sebanyak dua kali lipat ($\log_2$). Setelah penambahan zat antimikroba, media tersebut diberi bakteri uji lalu dinkubasi. Titik endpoint ditentukan berdasarkan konsentrasi zat antimikroba yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri uji (Riedel *et al.*, 2022).



Sumber: Riedel *et al* (2022).

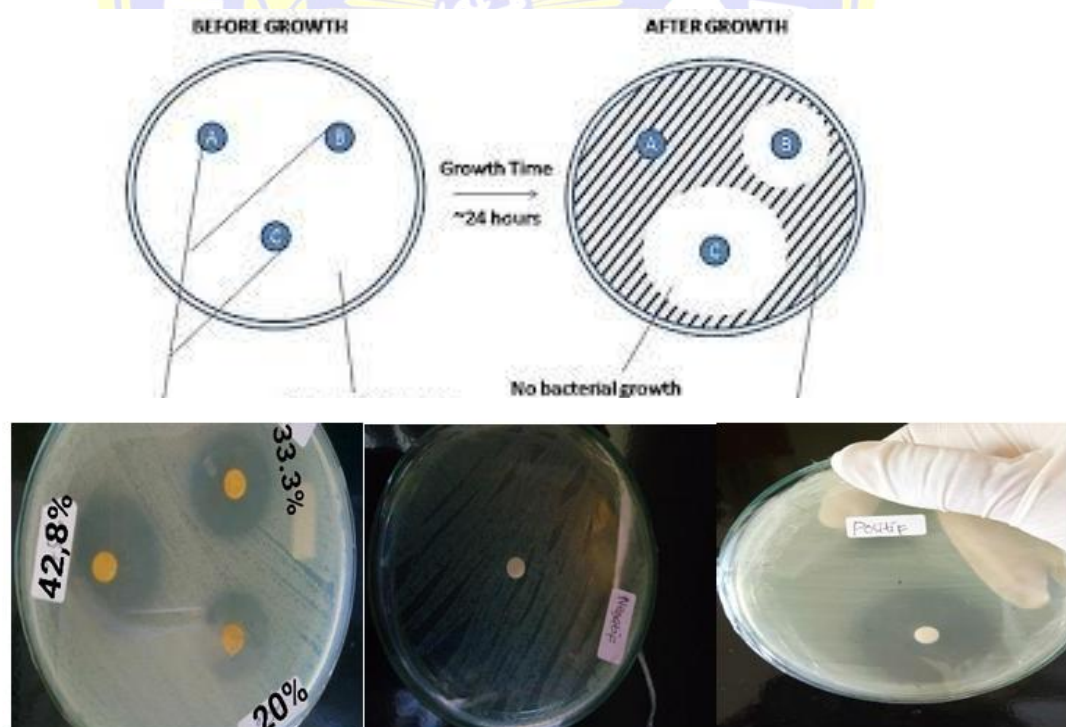
Gambar 2. 7 Metode Pengenceran

2.4.5 Metode Difusi

Metode ini dilakukan dengan cara memasukkan bakteri ke dalam media padat, kemudian ditempatkan cakram antibiotik di permukaannya. Setelah proses inkubasi selesai, akan muncul daerah yang tidak terkena pertumbuhan bakteri (zona bening) di sekitar cakram. Ukuran zona hambat ini kemudian diukur sebagai indikasi kemampuan senyawa antimikroba dalam menghambat pertumbuhan

organisme yang diuji. Metode ini dipengaruhi oleh berbagai faktor, seperti kondisi fisika dan kimia. Selain itu, juga ada pengaruh dari interaksi sederhana antara senyawa obat dan organisme, seperti sifat medium, kapasitas berdifusi, ukuran molekul, serta stabilitas senyawa tersebut. Meskipun demikian, pengaturan dan standarisasi kondisi lingkungan dapat memengaruhi tingkat kepekaan organisme (Riedel *et al.*, 2022; Gilmore dan Denyer, 2023).

Pengujian sensitivitas atau resistensi mikroorganisme terhadap suatu senyawa antibiotik dilakukan dengan membandingkan ukuran zona hambat yang terbentuk dengan standar obat yang digunakan. Saat suatu zat antibiotik ditempatkan di atas cawan agar yang telah diberi inokulum bakteri uji, zat tersebut akan menyebar ke sekitarnya dan menghambat pertumbuhan bakteri sesuai dengan tingkat efektivitasnya (Riedel *et al.*, 2022).



Sumber: Micro lab and Agro farm (2022)

Gambar 2. 8 Hasil Zona Hambat

Tabel 2. 11 Kategori Zona Hambat

Diameter	Kekuatan Daya Hambat
$\leq 5\text{ mm}$	Lemah
6-10 mm	Sedang
11-20 mm	Kuat
$\geq 21\text{ mm}$	Sangat kuat

