

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Umum Tentang Bakteri

Bakteri merupakan mikroorganisme prokariotik yang terdapat jenis bakteri patogen penyebab penyakit. Salah satu penyakit yang disebabkan oleh bakteri adalah penyakit infeksi, berbagai jenis bakteri penyebab infeksi antara lain yaitu *Proteus sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli* (Baharutan et al., 2015).

1. Definisi *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan bakteri yang hidup di usus manusia dan hewan. Merupakan bakteri gram negatif yang berbentuk batang, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora dan merupakan flora alami pada usus mamalia. Bakteri *Escherichia coli* dapat menimbulkan penyakit akibat kemampuannya beradaptasi dan bertahan pada lingkungan yang berbeda (Rahayu, 2021).

2. Klasifikasi *Escherichia coli*

Escherichia coli diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom : *Bacteria*

Divisi : *Protobacteria*

Kelas : *Gamma Proteobacteria*

Ordo : *Enterobacteriales*

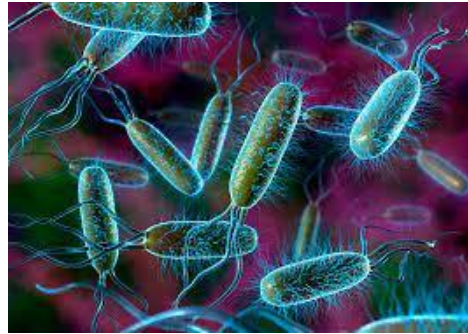
Family : *Enterobacteriaceae*

Genus : *Escherichia coli* (Darnengsih et al., 2018)

3. Morfologi Bakteri *Escherichia coli*

Escherichia coli adalah bakteri gram negatif berbentuk batang berukuran 1,0-1,5 m x 2,0-6,0 m, berflagel atau non-motil, dan dapat tumbuh dengan atau tanpa oksigen, mudah anaerobik dan mentolerir defisiensi nutrisi. Sifat biokimia lain dari *Escherichia coli* adalah kemampuan membentuk indol, fermentasi sitrat rendah, negatif dalam analisis urease. Bakteri *Escherichia coli* biasanya hidup di saluran

pencernaan manusia atau hewan. Secara fisiologis *E.coli* mampu bertahan dalam kondisi lingkungan yang keras, *Escherichia coli* tumbuh baik di air tawar, air laut atau tanah (Rahayu, Nurjanah & Komalasari, 2018).



Gambar 1. Bakteri *Escherichia coli*

(sumber : *Fine art amerika*, 2021

<https://images.app.goo.gl/LLjgT16N8eqFnu6S7>)

4. Patogenitas Bakteri

Escherichia coli adalah salah satu bakteri usus dan merupakan anggota mikrobiota usus normal. Bakteri ini biasanya tidak bersifat patogen dan berperan dalam fungsi normal dan nutrisi di usus. Bakteri menjadi patogen ketika berada di luar usus, yaitu di lokasi normalnya atau di tempat lain di mana flora normal jarang ditemukan (Lestari, Noverita & Permana, 2020). Bakteri ini menjadi patogen jika jumlahnya meningkat di saluran cerna atau jika bakteri tersebut berada di luar saluran cerna (Hutasoit, 2020).

Berdasarkan patogenisitasnya, *E. coli* dibagi menjadi enam jenis: enterotoksigenik *E. coli* (ETEC), enteropatogenik *E. coli* (EPEC), enterohemoragik *E. coli* (EHEC), enteroinvasif *E. coli* (EIEC), enteroagregatif *E. coli* (EAEC), dan difusi adheren *E. coli* (DAEC) (Rahayu, Nurjanah & Komalasari, 2018). Enterotoksigenik *Escherichia coli* (ETEC) penyebab diare perjalanan, Enteropatogenik *Escherichia coli* (EPEC) penyebab diare, yang relatif jarang terjadi pada orang dewasa dan biasanya menyerang anak di bawah usia dua tahun, dan *Enteroinvasive Escherichia coli* (EIEC) penyebab diare

dengan demam (Gitaswari & Budayanti, 2019). Enteroaggregative E. coli (EAEC) adalah strain E. coli yang berhubungan erat dengan diare akut pada anak, dan penyebab diare kedua setelah ETEC adalah difusi adhesif E. coli (DAEC) *Escherichia coli* keenam (Rahayu, Nurjanah & Komalasari, 2018).

B. Tinjauan Umum Tentang Tanaman Bandotan

1. Tanaman Bandotan

Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) adalah tumbuhan liar yang mudah di jumpai di Indonesia yang dikenal sebagai gulma atau tumbuhan pengganggu. Tanaman bandotan umum nya dapat tumbuh di berbagai kondisi tanah dan pertumbuhannya sangat cepat. Di Indonesia tanaman ini memiliki beberapa julukan diberbagai daerah local seperti bandotan, rumput belanda, wedusan, tempuyak, ki bau, jakut bau, dan banyak lagi (Silalahi, 2018).

2. Klasifikasi Tanaman Bandotan

Tanaman bandotan dapat di klasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom : *Plantae*

Divisi : *Magnoliophyta*

Sub Divisi : *Angiospermae*

Kelas : *Magnoliopsida*

Ordo : *Astreales*

Familia : *Astreaceae*

Genus : *Ageratum*

Spesies : *Ageratum conyzoides* L. (Adhi, 2020).

3. Morfologi Tanaman Bandotan

Tanaman bandotan termasuk tumbuhan terna semusim, tingginya sekitar 30-90 cm serta bercabang, tumbuh tegak , pada bagian bawahnya tumbuh datar atau berbaring. Memiliki helai daun yang berbentuk bulat telur, segitiga bulat telur atau belah ketupat bulat telur dengan warna hijau, hijau kekuningan atau kuning berbintik hijau, pada bagian pinggir daun memiliki bulu-bulu halus berwarna putih di sekelilingnya, dengan panjang daun

sekitar 1-10 cm dan lebarnya 0,5-6 cm. Tangkainya berukuran sekitar 0,5-5 cm yang tumbuh berhadapan, batangnya berbentuk bulat, cenderung lunak dan memiliki bulu halus. Banyak terdapat bunga-bunga kecil yang berkumpul dalam satu tabung, memiliki warna ungu dan warna putih (Adhi, 2020).



Gambar 2. Tanaman Bandotan

(Sumber : Dokumentasi Pribadi)

4. Kandungan dan Manfaat Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.)

Tanaman bandotan telah digunakan secara luas sejak dahulu dalam pengobatan tradisional oleh masyarakat, antara lain untuk pengobatan luka, gangguan pencernaan dan diare. Juga digunakan untuk pengobatan radang usus, radang ginjal, radang saluran kemih dan penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri salah satunya yaitu bakteri *Escherichia coli* (Sugara, 2016).

Dalam Harefa (2020), daun bandotan memiliki kemampuan untuk menyembuhkan demam karena memiliki kandungan senyawa flavonoid yang memiliki aktivitas antipiretik yaitu pereda demam. Daun bandotan juga berkhasiat dalam menyembuhkan batuk, ekstrak etanol daun bandotan memiliki aktivitas antivirus yang besar (Sarumaha, 2022).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Almira *et al.*, (2021), terbukti bahwa ekstrak Daun bandotan (*Ageratum conyzoides* L) diketahui mengandung senyawa aktif seperti flavonoid, alkaloid, terpenoid, saponin, minyak atsiri, dan tannin sehingga tanaman ini dipercaya memiliki banyak manfaat dan salah satunya adalah sebagai antibakteri (Chandra *et al.*, 2024). Secara spesifik senyawa flavonoid dapat menghambat

pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* karena bakteri *E.coli* memiliki struktur yang dikelilingi oleh membran sel dan mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan protein terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intra seluler (Fajri *et al.*, 2023).

5. Tanaman Gulma dan Perdu

Gulma merupakan tumbuhan liar yang tumbuh di area persawahan, perkebunan, maupun lahan budidaya tanaman. Keberadaan gulma umumnya tidak diharapkan disekitar tanaman budidaya karena dapat menjadi pesaing tanaman budidaya. Akan tetapi, gulma juga memiliki berbagai manfaat, salah satunya digunakan sebagai tumbuhan obat yang dimanfaatkan oleh masyarakat untuk mengobati penyakit dan menjaga kesehatan. Salah satu gulma yang dimanfaatkan oleh masyarakat yaitu tumbuhan Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) bermanfaat sebagai antibakteri (Rahmawati, 2022). Tanaman Bandotan sendiri merupakan jenis perdu yang banyak ditumbuh di area pertanian, tumbuhan perdu yakni tumbuhan berkayu yang memiliki batang bercabang dari dekat akarnya dan tingginya dapat mencapai 6 cm bahkan lebih (Irani *et al.*, 2019).

C. Tinjauan Umum Tentang Diare

1. Definisi

Menurut WHO (2018), diare yaitu apabila keluarnya tinja yang lunak atau cair dalam sehari semalam dengan frekuensi tiga kali atau lebih dengan atau tanpa darah atau lendir dalam tinja. Sedangkan menurut Depkes (2019) diare yaitu buang air besar yang lembek atau cair atau bahkan hanya air saja yang frekuensinya lebih dari tiga kali dalam sehari semalam. Adapun jenis diare dibagi menjadi tiga yaitu diare disentri, diare persisten, dan diare dengan masalah lainnya. Berdasarkan waktunya diare dibagi menjadi dua yaitu diare akut yang berlangsung kurang dari 14 hari dan diare kronis yang lebih dari 14 hari (Pertiwi, 2022).

2. Epidemiologi

Dalam Hendarwanto (2020) Diare merupakan masalah umum yang banyak terjadi di seluruh dunia. Di Amerika diare menempati peringkat ketiga dari banyaknya keluhan pasien pada ruang praktik dokter, sementara itu di beberapa rumah sakit di Indonesia data menunjukkan bahwa diare akut akibat infeksi menempati urutan pertama sampai keempat pasien dewasa yang datang berobat ke rumah sakit (Pertiwi, 2022).

Berdasarkan data World Health Organization (WHO) menyatakan setiap tahunnya sekitar 2 miliar kasus diare yang terjadi di seluruh dunia. Pertahunnya kasus diare mencapai 200 hingga 300 juta kasus. Di seluruh dunia, terjadi sekitar 2,5 juta kasus kematian akibat diare per tahun meskipun tatalaksana sudah maju (Pertiwi, 2022).

Data dari Komdat Kesmas periode Januari - November 2021, diare menyebabkan kematian pada postneonatal sebesar 14%. Data terbaru dari hasil Survei Status Gizi Indonesia tahun 2020, prevalensi diare di berada ada pada angka 9,8%. Diare sangat erat kaitannya dengan terjadinya kasus stunting. Kejadian diare berulang pada bayi dan balita dapat menyebabkan stunting. Berdasarkan data Profil Kesehatan Indonesia 2020, Penyakit infeksi khususnya diare menjadi penyumbang kematian pada kelompok anak usia 29 hari - 11 bulan. Sama seperti tahun sebelumnya, pada tahun 2020, diare masih menjadi masalah utama yang menyebabkan 14,5% kematian. Pada kelompok anak balita (12 – 59 balita), kematian akibat diare sebesar 4,55% (Kemenkes RI, 2022).

3. Etiologi

Virus atau bakteri dapat masuk kedalam tubuh bersama makanan dan minuman, kemudian sampai ke sel-sel epitel di usus halus yang menyebabkan infeksi dan dapat merusak sel-sel epitel tersebut. Sel-sel yang rusak akan tergantikan dengan sel baru yang belum matang, dimana fungsinya belum optimal sehingga mengakibatkan cairan dan makanan yang masuk tidak terserap dengan baik. Cairan dan makanan yang tidak terserap ini akan mengalami penumpukan di usus halus yang berakibat tekanan

osmotic pada usus akan meningkat. Cairan dan makanan yang tidak terserap kemudian tidak terdorong keluar dari anus dan terjadilah diare (Utami & Luthfiana, 2016).

D. Tinjauan Umum Aktifitas Antibakteri

1. Antibakteri

Antimikroba atau antibakteri adalah zat atau obat yang berperan dalam menghambat pertumbuhan dan membunuh bakteri, terutama bakteri berbahaya. Agen antimikroba harus memiliki toksisitas yang sangat selektif terhadap bakteri. Penggunaan antibiotik atau obat antibakteri yang tidak tepat dapat menyebabkan resistensi bakteri, sehingga antibiotik menjadi tidak efektif. Aktivitas antibakteri dapat dilihat dari mekanisme kerjanya dengan menghambat pertumbuhan sel dan membunuh sel bakteri dengan cara menghancurkan dinding sel, menghambat aktivitas enzim, menghambat sintesis protein dan asam nukleat serta dengan merusak membran plasma sel bakteri (Fajriana, 2019).

2. Mekanisme kerja Antibakteri

Setiap agen antibakteri memiliki mekanisme kerjanya sendiri ketika menghambat atau menghentikan pertumbuhan bakteri. Menurut Radji (2016), mekanisme kerja antibiotik diklasifikasikan sebagai berikut:

a. Penghambatan sintesis dinding sel

Bakteri memiliki lapisan luar yang disebut dinding sel. Dimana dinding sel bakteri menahan dan mempertahankan struktur dan bentuk tubuh bakteri. Jika ada zat yang merusak dinding sel bakteri, maka akan menyebabkan lisis sel, mempengaruhi struktur dan bentuk tubuh sel bakteri, sehingga menyebabkan kematian sel bakteri.

b. Fungsi membran sel terganggu

Membran sel atau membran sel memiliki peran dalam pengaturan transpor aktif metabolit dan nutrisi ke dalam dan keluar sel, sehingga mengendalikan komponen struktural sel. Selain itu, membran sel juga merupakan bagian yang berperan sebagai tempat

respirasi dan aktivitas biosintesis di dalam sel. Jika fungsi membran sel terganggu maka akan mempengaruhi pertumbuhan sel bakteri.

c. Penghambatan biosintesis asam nukleat

Asam nukleat adalah makromolekul biokimia kompleks yang mengandung informasi genetik yang diperlukan untuk kelangsungan hidup sel. Gangguan metabolisme asam nukleat sel bakteri dapat mengubah semua tahap pertumbuhan sel bakteri.

d. Penghambatan sintesis protein

Protein sangat penting untuk kelangsungan hidup bakteri, di mana sintesis protein terjadi di ribosom. Sintesis protein melibatkan transkripsi DNA menjadi mRNA dan translasi mRNA menjadi protein. Jika langkah-langkah proses terganggu, sintesis protein terhambat.

3. Antibiotik

Antibiotik adalah zat kimiawi yang dihasilkan oleh mikroorganisme yang mempunyai kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri atau membunuh mikroorganisme lainnya (Pratiwi et al., 2020). Salah satu antibiotik yang biasa digunakan yaitu *Chloramphenicol* atau yang dikenal juga dengan sebutan kloramfenikol adalah antibiotik yang dapat digunakan untuk mengobati infeksi yang disebabkan oleh bakteri. *Chloramphenicol* juga biasa digunakan sebagai kontrol positif, karena *Chloramphenicol* yaitu antibiotik yang berspektrum luas dan aktif terhadap bakteri gram positif juga bakteri gram negatif. Mekanisme kerja dari *Chloramphenicol* yaitu dengan cara menghambat sintesis protein bakteri (Zahra, 2021).

E. Tinjauan Umum Tentang Ekstraksi

1. Definisi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan suatu zat berdasarkan sifat-sifat tertentu, yaitu kelarutan dua cairan tidak larut yang berbeda. Pada umumnya ekstraksi dilakukan dengan menggunakan suatu pelarut berdasarkan kelarutan komponen-komponen dalam komponen lainnya, biasanya air dan pelarut organik lain yang digunakan harus mampu

mengekstrasi zat yang diinginkan tanpa melarutkan bahan lain (Satphaty & Mishra, 2019).

Berdasarkan caranya ekstraksi dibagi menjadi 2, yaitu :

a. Ekstraksi cair-cair

Ekstraksi cair-cair yaitu proses pemisahan cairan dari suatu larutan dengan menggunakan cairan sebagai pelarutnya. Perbedaan zat terlarut yang akan memisahkan antara larutan asal dan pelarut pengekstrak.

b. Ekstraksi padat cair

Ekstraksi padat-cair yaitu proses pemisahan cairan dan padatan dengan menggunakan cairan sebagai bahan pelarutnya, padatan yang tidak larut disebut inert. Pelarut yang digunakan dalam proses ini syarat utamanya yaitu dapat melarutkan solute yang terkandung dalam padatan inert (Mirwan & Laily, 2023).

2. Metode

a. Cara Dingin

1. Maserasi

Maserasi merupakan proses pengekstrakan dengan cara yang sederhana dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan dalam suhu ruang.

2. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu sampai sempurna (*Exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan disuhu ruang menggunakan pelarut segar, dalam metode ini dilapisi etanol 96% pada suhu kamar kemudian di ekstrak sampai ekstrak gabungannya tidak berwarna (Lisnawati & Prayoga, 2020).

b. Cara panas

1. Refluks

Refluks adalah proses ekstraksi dengan pelarut yang menggunakan pelarut pada suhu didih untuk jangka waktu

tertentu dan mengekstraksi jumlah pelarut yang relatif konstan sambil mendinginkannya kembali, ekstrak ini pada dasarnya adalah ekstrak terus menerus. Reaksi kimia dapat berlangsung pada suhu kamar.

2. Soxhlet

Soxhlet merupakan proses ekstraksi yang menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relative konstan dengan adanya perbandingan balik. Selain Refluks dan Soxhlet cara panas yang lain yaitu digesti, infus, dan dekok (Lisnawati & Prayoga,2020).

3. Jenis Jenis Pengeringan

Pengeringan merupakan proses penurunan kadar air atau pemisahan air yang terkandung dalam bahan sehingga bahan menjadi awet dan tidak mudah rusak (Handoyo & Pranoto, 2020). Terdapat beberapa jenis pengeringan yang dapat dilakukan diantaranya yaitu Pengeringan matahari yang dilakukan dengan menjemur daun dibawah sinar matahari. Pengeringan angin yang dilakukan ditempat yang tidak terkena matahari secara langsung. Pengeringan rumah kaca yaitu pengeringan dengan menggunakan alat yang menyerupai ruangan yang dapat menyimpan panas matahari. Pengeringan oven yang dilakukan pada suhu 50°C selama 150 menit (Dharma *et al.*, 2020). Jenis bahan yang dapat dikeringkan yaitu daun, dapat di keringkan dengan menggunakan berbagai pengeringan mulai dari pengeringan matahari langsung hingga oven (Handoyo & Pranoto, 2020). Buah dapat dikeringkan dengan pengeringan matahari ataupun oven (Sirait & Enriyani 2021). Ikan dapat dikeringkan dengan matahari, angin kering dan oven, daging dapat dilakukan pengeringan dengan oven.

F. Tinjauan Umum Uji Daya Hambat

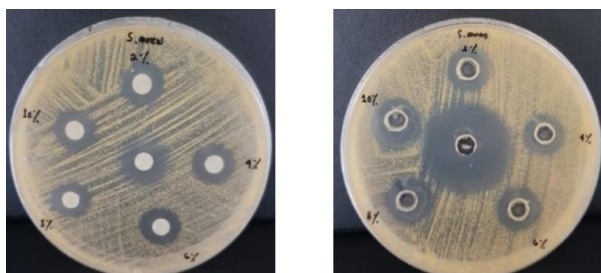
Pada uji daya hambat akan diamati dan diukur yaitu respon pertumbuhan mikroorganisme setelah diberi agen antimikroba atau antibakteri. Agen antibakteri dikatakan efektif jika dapat menghambat bakteri yang diuji. Tergantung pada media yang digunakan, metode uji kepekaan antibakteri dibagi menjadi dua yaitu metode difusi dan metode pengenceran (dilusi).

1. Metode

Uji daya hambat suatu antibakteri dapat dilakukan pengujian dengan metode dilusi dan difusi :

a. Metode Difusi

Metode difusi merupakan metode uji daya hambat dengan menggunakan media agar. Metode difusi dapat dilakukan dengan menggunakan difusi sumur/agar (*well diffusion*) dan difusi piringan/piring (*Kirby bauer*). Penentuan aktivitas antibakteri secara difusi melibatkan pengujian kemampuan agen antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji (Sari, 2021).



Gambar 3. Metode Difusi Cakram Dan Sumuran

(sumber : Nurhayati *et al.*, 2020)

1. Metode Sumuran

Metode difusi sumuran dilakukan dengan membuat lubang yang dibuat tegak lurus pada media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri uji. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang diisi dengan ampel yang akan diuji. Selanjutnya media yang sudah berisikan zat uji diinkubasi pada suhu dan waktu yang telah ditentukan. Setelah

proses inkubasi, dilakukan pengamatan terhadap pertumbuhan bakteri untuk melihat ada atau tidaknya daerah hambatan disekitar lubang (Nurhayati et al., 2020).

Metode difusi sumuran memiliki kelebihan yaitu lebih mudah untuk mengukur luas zona hambat yang terbentuk karena bakteri beraktivitas tidak hanya dipermukaan atas media tetapi juga sampai kebawah permukaan media. Sedangkan kekurangan media ini ada pada pembuatan sumuran yang memiliki beberapa kesulitan seperti terdapat sisa-sisa agar pada suatu media yang digunakan untuk membuat sumuran, selain itu juga besar kemungkinan media agar retak atau pecah disekitar lokasi sumuran sehingga dapat mengganggu proses peresapan antibiotik kedalam media yang akan mempengaruhi terbentuknya diameter zona bening saat melakukan uji (Nurhayati *et al.*, 2020).

2. Metode difusi cakram/disc (*Kirby bauer*)

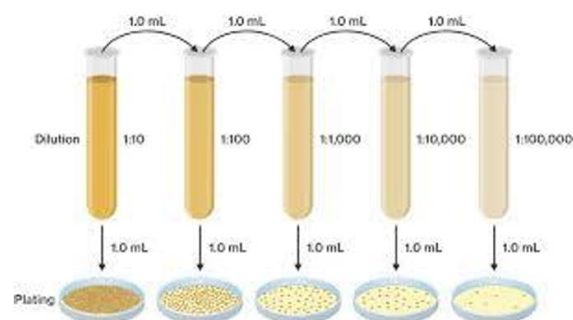
Metode difusi cakram adalah metode yang sangat umum digunakan untuk menentukan kerentanan bakteri yang diuji terhadap berbagai antibiotik. Prosedur ini dilakukan dengan memakai kertas cakram steril (*paper disc*) yang fungsinya sebagai cawan yang menampung zat antibiotik. Kertas cakram yang telah menyerap antibiotik diletakkan diatas lempeng permukaan cawan media yang telah diinokulasikan bakteri uji. Media kemudian diinkubasi dengan suhu dan waktu yang telah ditentukan sesuaidengan kondisi optimal mikroba yang diuji yaitu pada suhu 37°C selama 18- 24 jam (Wulaindi, 2022).

Hasil yang diamati dan diukur adalah ada tidaknya zona transparan/bening yang terbentuk di sekitaran kertas cakram/paper disc, dimana zona bening yang terbentuk ditetapkan sebagai zona hambat pertumbuhan bakteri. Metode difusi menggunakan cakram ini tidak dapat diterapkan pada

mikroorganisme yang tumbuh lambat atau mikroorganisme anaerob obligat (Nurhayati, 2020).

b. Metode dilusi

Metode dilusi dapat dilakukan dengan dua cara yaitu dilusi cair dan dilusi padat. Metode dilusi cair bertujuan mengukur Kadar Hambat Minimum (KHM) sedangkan metode dilusi padat merupakan metode untuk mengukur Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM). Metode dilusi cair dilakukan dengan membuat pengenceran serial agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Metode dilusi padat dengan melakukan inokulasi mikroba uji pada media agar yang mengandung agen antimikroba. Keuntungan metode dilusi yaitu satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Fitriana *et al.*, 2020).



Gambar 4. Metode dilusi

(sumber : <https://images.app.goo.gl/XvduVhMdfgxAT1QY6>)

2. Media Pertumbuhan Bakteri

Media kultur atau media pertumbuhan mikroorganisme merupakan suatu bahan yang terdiri atas campuran nutrisi yang digunakan oleh suatu mikroorganisme untuk tumbuh dan berkembang biak. Media kultur digunakan sebagai gold standard penegakan diagnosa pasti suatu penyakit infeksi. Selain itu, dapat juga dipergunakan untuk isolasi, pengujian sifat fisiologis, dan perhitungan jumlah mikroorganisme (Atmanto *et al.*, 2022).

a.) **Media *Mueller Hinton Agar* (MHA)**

Mueller Hinton Agar merupakan media kultur yang telah direkomendasikan oleh FDA dan WHO untuk uji antibakteri terutama bakteri aerob dan fakultatif anaerob untuk makanan dan materi klinis. Media agar ini juga telah terbukti memberikan hasil yang baik dan reproduibel (*reproducibility*). Media agar ini mengandung Sulfonamida, trimetoprim, dan inhibitor tetrasiklin yang rendah serta memberikan pertumbuhan pathogen yang memuaskan. *Beef Extract* dan Asam Kasein *Hydrolysate* merupakan sumber nitrogen, vitamin, karbon dan asam amino. Kandungan patinya akan menyerap zat racun yang timbul selama pertumbuhan. Konsentrasi agarnya juga membuat proses difusi yang lebih baik dibanding media yang lain (Marlina *et al.*, 2022).

3. Syarat Media pertumbuhan Bakteri

Terdapat beberapa persyaratan media kultur bakteri yaitu, mengandung sumber energi, mengandung sumber Karbon (C), mengandung sumber Nitrogen (N), mengandung garam, memiliki pH yang sesuai, memiliki oksidasi yang cukup, memiliki temperatur yang sesuai, memiliki tekanan osmose yang sesuai, dan mengandung factor pertumbuhan (Atmanto *et al.*, 2022).

4. Kriteria Zona Hambat

Berdasarkan standar *Clinical Laboratory Standart Institute* (CLSI, 2021). Kriteria zona hambat *Chloramphenicol* dikelompokan sebagai berikut :

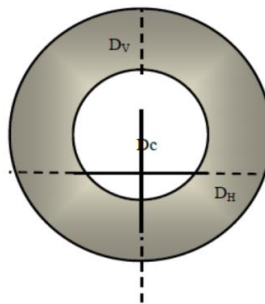
Kriteria	Diameter Zona Hambat
Resisten	≤ 12 mm
Intermediet	13-17 mm
Sensitif	≥ 18 mm

Tabel 1. Perbandingan Zona Hambat Pada Bakteri *Escherichia coli*

NO	Jenis Daun	Bakteri	Metode	Konsentrasi	Zona Hambat (mm)	Peneliti
1	Daun tapak liman (<i>Elephantopus scaber</i> L)	<i>Escherichia coli</i>	Difusi disk	25 %	10,6 mm	(Hardiana <i>et al.</i> , 2023)
				50 %	15,6 mm	
				75 %	20,3 mm	
				100 %	22,6 mm	
2	Daun cincau hijau (<i>Cyclea barbata</i> L.)	<i>Escherichia coli</i>	Difusi cakram	50%	4,3 mm	(Hidayah, 2023)
				70%	5,6 mm	
				90%	6 mm	
				100%	9,6 mm	
3	Tanaman sirsak (<i>Annona muricata</i> Linn)	<i>Escherichia coli</i>	sumuran dan Kirby Bauer	25%	2 mm	(Ionnandha & Andriana, 2023)
				50%	5,5 mm	
				75%	7 mm	
				100%	10,25 mm	
4	Tanaman daun singkong (<i>Manihoot esculenta</i>)	<i>Escherichia coli</i>	Kirby Bauer	40%	15,3 mm	(Pribadi, 2022)
				50%	16,3 mm	
				60%	18 mm	
				70%	18,6 mm	

5. Pengukuran Zona Hambat

Zat antimikroba yang membentuk zona bening atau zona transparan disekitar lubang sumuran merupakan kriteria yang menunjukkan kemampuan suatu zat antibiotik dalam menghambat pertumbuhan bakteri yang di uji. Semakin besar zona bening yang terbentuk maka semakin besar juga kemampuan daya hambat antibakterinya (Yustinasari & Yunita, 2019)



Gambar 5. Pengukuran zona hambat
(Sumber : Magvirah, Marwati, & Ardhani, 2020)

Diameter zona hambat diukur dengan rumus :

$$\frac{(D_v - D_c) + (D_h - D_c)}{2}$$

Keterangan:

D_v : Diameter vertikal

D_h : Diameter horizontal

D_c : Diameter cakram