

II. TINJAUAN PUSTAKA

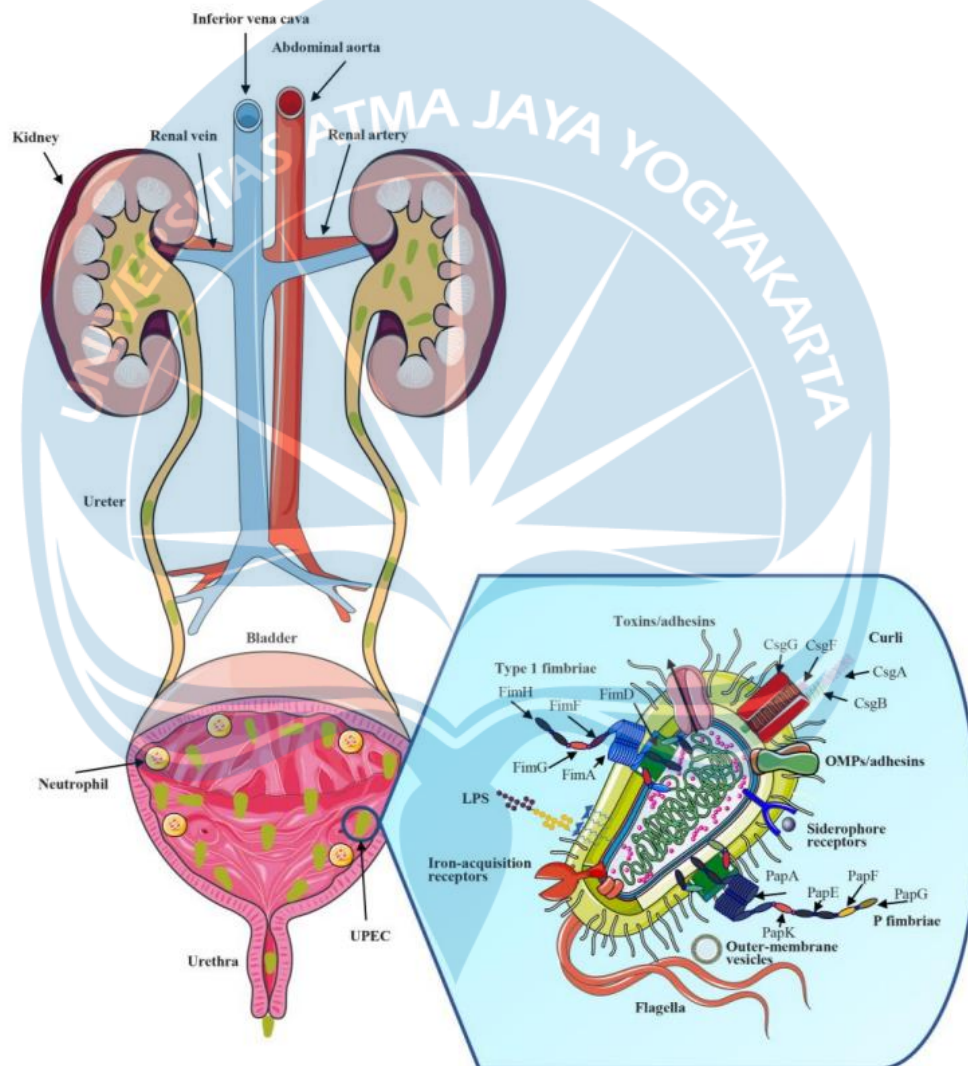
A. Infeksi Saluran Kemih

Infeksi Saluran Kemih (ISK) merupakan salah satu penyakit yang sering dijumpai terutama pada perempuan. Menurut data *Global Burden of Disease* pada tahun 2021, sebanyak 357.189.691 perempuan dan 91.912.538 laki-laki terjangkit ISK (He dkk, 2025). ISK dapat disebabkan oleh jamur dan bakteri Gram negatif atau Gram positif ketika jumlah bakteri lebih dari 10^5 sel/mL dalam urin. Menurut epidemiologi ISK, *E. coli* uropatogen (UPEC) adalah faktor utama ISK yang menyebabkan kasus ISK *uncomplicated* (75%) dan ISK *complicated* (65%) (Zhou dkk., 2023).

ISK *uncomplicated* adalah kondisi ISK tanpa adanya kelainan struktural atau neurologis pada saluran kemih. ISK *complicated* adalah kondisi kelainan saluran kemih yang rentan dengan kelainan fungsional atau anatomi, seperti uropati obstruktif, retensi urin, kandung kemih neurogenik, dan gagal ginjal (Mancuso dkk., 2023). Uretra memiliki mukosa dan sel epitel yang mampu menahan bakteri patogen sebagai mekanisme pertahanan untuk mencegah infeksi saluran kemih. Keseimbangan dan fungsi pertahanan akan terganggu dan terjadi inflamasi ketika tubuh mengalami kerusakan eksternal atau patogenitas bakteri yang kuat (Zhou dkk., 2023).

UPEC mampu memanipulasi sel epitel pada vagina sebagai pertahanan pertama karena menggunakan mekanisme *zipper-like*. Mekanisme *zipper-like* adalah mekanisme ketika UPEC memanipulasi sinyal reseptor sel epitel (tirosin kinase, fosfoinositida 3-kinase (PI3K), dan histon deasetilase). UPEC

memanipulasi dengan cara mengatur ulang aktin, mikrotubulus dan penyerapan patogen dalam proses endositosis sehingga UPEC bisa masuk ke dalam sel epitel UPEC dan menginvasi (Brannon dkk., 2020). Gambar patogenesis infeksi saluran kemih terdapat pada Gambar 1



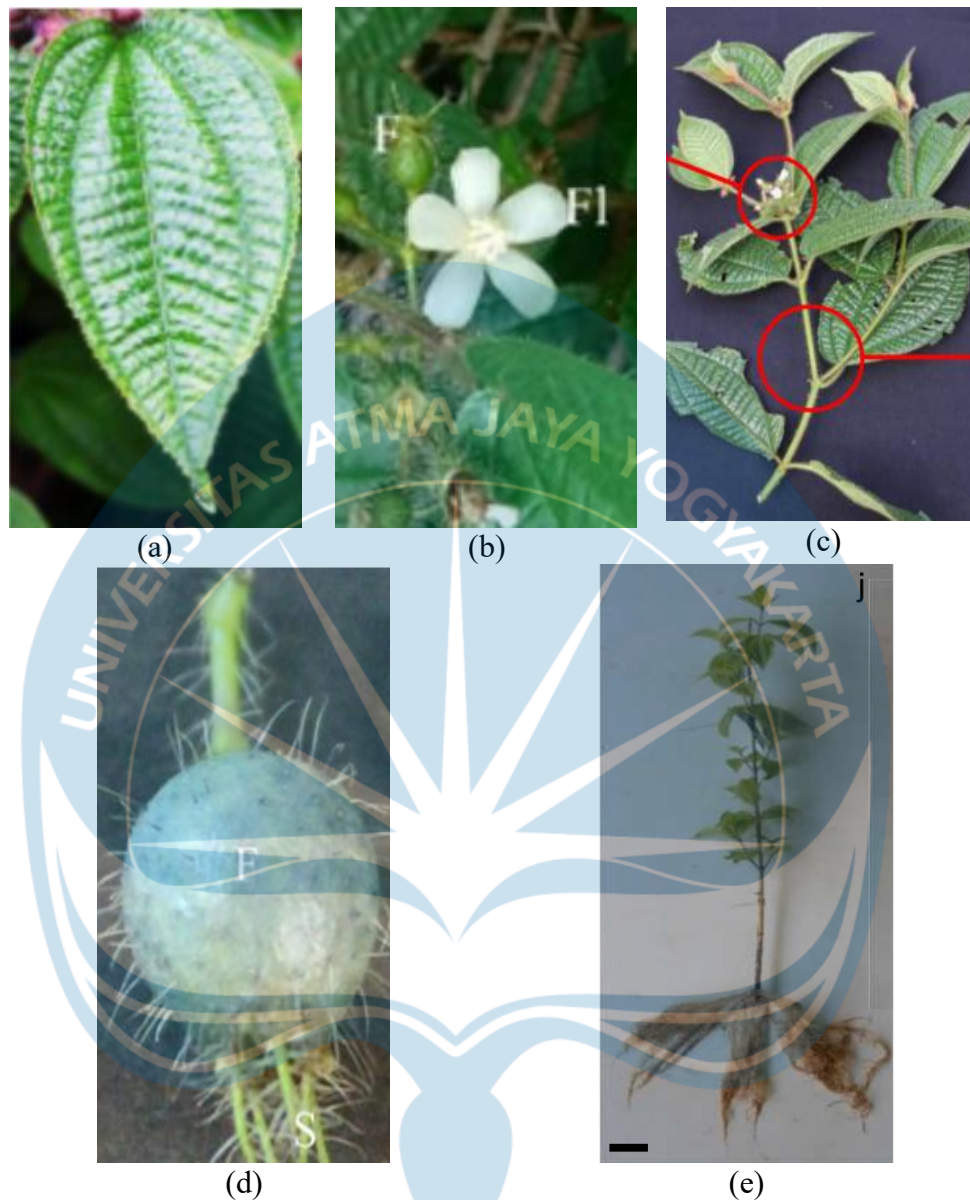
Gambar 1. Patogenesis infeksi saluran kemih dan *E. coli* uropatogen (Sumber: Zhou dkk., 2023)

Tahapan pertama infeksi dimulai dengan adanya pelekatan (adhesi) dan kolonisasi UPEC pada periuretra. Tahapan kedua, yaitu *E. coli* akan bergerak naik dari uretra (saluran kemih bagian bawah) ke lumen kandung kemih dan

berkembang biak. Tahapan ketiga, yaitu *E. coli* membentuk *biofilm* dan berinteraksi dengan sistem pertahanan kandung kemih. Tahapan keempat, yaitu invasi dan replikasi dengan membentuk *Intracellular Bacterial Communities* (IBCs) atau komunitas untuk menghindari sistem kekebalan inang hingga 10^5 bakteri/sel yang terinfeksi. Tahapan kelima adalah kolonisasi UPEC pada ginjal dengan menghancurkan jaringan dan melakukan pelepasan racun yang menyebabkan bakteremia, sepsis, urosepsis, dan bahkan kematian (Zhou dkk., 2023).

B. Morfologi dan Klasifikasi Harendong Bulu

Harendong bulu termasuk kelompok perdu yang hanya mampu hidup ketika memiliki pencahayaan yang cukup namun dapat tumbuh di tempat yang terbuka dengan sedikit naungan. Harendong bulu mampu berbunga sepanjang tahun dan memproduksi banyak buah, serta tanamannya tidak mudah terbakar. Tanaman ini termasuk tanaman invasif yang mampu menginvasi habitat spesies asli dengan mengubah kondisi habitat. Invasi harendong bulu tercatat mengubah regenerasi hutan melalui perubahan habitat di banyak hutan hujan di seluruh dunia. Pertumbuhan dan distribusi habitat harendong bulu lebih besar di daerah invasi daripada di daerah asli karena difasilitasi oleh kurangnya patogen dan predator yang efektif (Samarasinghe dkk., 2022).



Gambar 2. Morfologi tanaman harendong bulu bagian (a) daun, (b) bunga, (c) tangkai, (d) buah, dan (e) akar (Sumber: Pratami dkk., 2021; Silva dkk., 2021; Mira dkk., 2023)

Harendong bulu secara morfologi memiliki kenampakan dengan tinggi hingga 55 cm. Daunnya saling berhadapan, bertipe tunggal dan pangkalnya runcing, berukuran panjang 8 cm dan lebar 5 cm, berwarna hijau, serta memiliki bulu halus pada permukaannya. Batangnya berwarna coklat, tumbuh ke atas, termasuk tipe berkayu dengan bentuk bulat, terdapat bulu yang rapat,

dan bersisik. Akarnya bertipe tunggang dengan permukaan runcing dan berwarna coklat (Pelu dan Djarami, 2022). Klasifikasi tanaman harendong bulu menurut Tanasale dkk. (2023) adalah sebagai berikut:

Kerajaan : Plantae
 Divisi : Magnoliophyta
 Kelas : Magnoliopsida
 Bangsa : Myrtales
 Famili : Melastomataceae
 Marga : *Clidemia*
 Spesies : *Clidemia hirta* (L.)
 Nama lokal : Harendong bulu

C. Khasiat dan Senyawa Metabolit Sekunder Daun Harendong Bulu

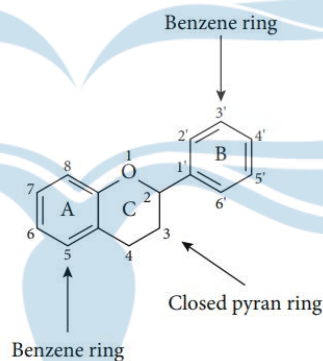
Bagian daun tanaman harendong bulu banyak digunakan sebagai obat tradisional untuk mengobati iritasi, infeksi bakteri, diare, demam, infeksi kulit, *heartburn* dan *stomachburn* (Roonjho dkk., 2021). Masyarakat biasa memanfaatkan daunnya untuk mengobati luka dengan cara diremas dan diberikan pada bagian tubuh yang terluka (Tuginah dkk., 2020). Daunnya juga bisa digunakan sebagai obat malaria atau mengurangi sakit gigi dengan cara diseduh, kemudian digunakan untuk berkumur (Syafitri dkk., 2014).

Penelitian Rahmawati dan Hasanuddin (2023) menunjukkan bahwa daun harendong bulu memiliki senyawa aktif berupa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, fenol dan steroid. Hasil penelitian Prima dkk. (2023) menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% daun harendong bulu menghasilkan flavonoid total sebesar 35,56 mgQE/g dengan persentase 3,5%. Kandungan tanin sebanyak 2,651 mg TAE/g dengan persentase 0,26%, polifenol sebanyak 4,5 mg GAE/g

dengan persentase 0,45% dan alkaloid sebanyak 0,305 mg AE/g dengan persentase 0,03% (Prima dkk., 2023).

D. Senyawa Flavonoid sebagai Antibakteri

Flavonoid adalah tipe polifenol turunan dari anti aromatik flavan atau 2-fenilbenzopira dengan rantai karbon yang terdiri atas gugus C₆ (cincin benzena tersubstitusi), kemudian tersambung dengan rantai alifatik C₃ (Illing dkk., 2017). Flavonoid dibagi menjadi beberapa subkelas tergantung dari status oksidatif dan substituenya. Gambar struktur kimia flavonoid terdapat pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur kimia flavonoid (Sumber: Roy dkk., 2022)

Mekanisme aksi diartikan sebagai proses molekul yang memberikan efek farmakologis melalui interaksi dengan target molekuler. Flavonoid bekerja dengan berbagai mekanisme, seperti menekan pembentukan asam nukleat, mengganggu integritas membran sitoplasma, mengganggu jalur energi metabolisme, menekan perlekatan bakteri dari pembentukan biofilm,

menghambat fungsi porin pada membran sel, serta melemahkan patogenisitas bakteri (Herlina dkk., 2025). Flavonoid dalam menghambat pembentukan asam nukleat dengan melibatkan cincin A dan B yang berperan dalam pengikatan hidrogen yang menghambat pembentukan DNA. Penumpukan asam basa nukleat menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel pada bakteri (Mona dan Chairatul, 2020).

Flavonoid dalam mengganggu pembentukan asam nukleat tentu akan mengganggu proses dalam replikasi dan transkripsi DNA-RNA bakteri yang menyebabkan penghambatan pertumbuhan dan proliferasi bakteri. Senyawa 3,9-dihydroxy-10- γ,γ -dimethylallyl-6a,11a-dehydropterocarpin yang termasuk dalam kelompok pterocarpin prenilasi (turunan isoflavonoid) menunjukkan aktivitas antibakteri dan bersifat bakterisidal yang kuat. Mekanisme kerjanya dengan menghambat penggabungan timidin, uridin, dan leusin sehingga mengganggu sintesis DNA, RNA, protein, serta menurunkan penyerapan glukosa oleh sel bakteri. Hal lain juga ditunjukkan dengan senyawa genistein (isoflavonoid) yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif, *Vibrio harveyi*. Hal ini diketahui melalui pengamatan morfologi *Vibrio harveyi* menjadi lebih panjang dan pembelahan sel, serta replikasi kromosom yang terganggu (Herlina dkk., 2025).

Flavonoid memiliki aktivitas antibakteri yang signifikan terhadap *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli*, dan *S. infatis* melalui penggambaran *Transmission Electron Microscope* (TEM). Membran sel terlihat penyok dan bercekung sebagai tanda terganggunya integritas membran sel. Flavonoid dapat

mengganggu integritas membran sel karena sifatnya lipofilik sehingga dapat terintegrasi ke dalam lapisan lipid membran bakteri yang menyebabkan perubahan struktur dan fungsi membran (Herlina dkk., 2025). Flavonoid juga mampu menghambat metabolisme energi dengan cara menghambat sitokrom C reduktase sehingga proses metabolisme dan biosintesis makromolekul akan terhambat. Flavonoid sebagai antibakteri juga mampu mensintesis senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler sehingga membran sel rusak dan bagian intraseluler keluar (Mona dan Chairatul, 2020).

Senyawa flavonoid memiliki warna berbeda, seperti putih atau tidak berwarna (flavanon), oranye (*aurone*, *chalcones*), merah, *crimson*, dan biru (antosianin). Flavonoid menunjukkan serapan yang kuat pada pengujian menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan flavonoid yang termasuk flavon ($\lambda_{\max}$ 250-270 nm dan 330-350 nm), flavonol ($\lambda_{\max}$ 250-270 nm dan 350-390 nm), isoflavon ($\lambda_{\max}$ 255-265 nm), dan flavanon ($\lambda_{\max}$ 275-290 nm) (Turatbekova dkk., 2023).

E. Simplisia dan Standarisasi Simplisia

Simplisia merupakan suatu bahan dari alam yang dikeringkan untuk mempertahankan kualitasnya namun belum diproses atau diolah (Kementrian Kesehatan RI, 2017; Sembiring dkk., 2022). Simplisia dibedakan menjadi tiga jenis, yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia mineral. Simplisia nabati adalah simplisia yang berasal dari bagian utuh atau bagian tertentu tumbuhan atau ekstrudat tanaman. Simplisia hewani adalah simplisia dari

hewan utuh atau zat-zat dari hewan yang berguna dan belum diubah menjadi bahan kimia murni, seperti minyak ikan dan madu. Simplisia mineral berasal dari mineral yang mengalami pengolahan sederhana namun belum berupa bahan kimia murni, contohnya serbuk seng (Evifania dkk., 2020).

Proses pembuatan simplisia diawali dengan pengumpulan bahan baku, sortasi basah, pencucian, pemotongan, pengeringan, sortasi kering, dan pengepakan. Kadar senyawa aktif pada tanaman bergantung pada umur tanaman, waktu panen, dan lingkungan budidaya. Sortasi basah adalah pemisahan bahan baku dari zat pengotor, seperti tanah, batu, kerikil, dan tanaman yang tidak diinginkan. Pencucian untuk membersihkan bahan baku dari pengotor yang menempel dengan cara dialiri air bersih. Pemotongan bahan baku dilakukan untuk mengecilkan ukuran bahan agar proses pengeringan lebih mudah (Mulyani, 2021).

Proses pengeringan dapat dilakukan dengan penjemuran di bawah sinar matahari langsung, ditutupi kain hitam, dikeringanginkan, atau dengan bantuan *oven*. Sortasi kering dilakukan setelah didapatkan simplisia kering untuk memastikan tidak adanya kontaminan saat proses pengeringan dan pemisahan simplisia. Wadah penyimpanan simplisia perlu diperhatikan untuk melindungi simplisia dari kerusakan, seperti oksidasi udara, hewan pengerat, atau serangga. Wadah simplisia harus bersifat *inert* dan tidak toksik, serta jika disimpan di gudang harus dengan suhu kamar dan sirkulasi udara yang baik. Wadah simplisia sebaiknya tidak diletakkan dan bersinggungan langsung dengan tanah atau lantai untuk menjaga kelembaban udara (Mulyani 2021).

Karakteristik simplisia daun harendong bulu adalah daun tunggal yang berbentuk bulat dengan bagian ujungnya yang runcing namun bagian pangkalnya berbentuk bundar. Tepian daunnya rata dengan bagian permukaannya berambut. Daun harendong bulu yang telah menjadi serbuk memiliki karakter halus dengan aroma yang khas dan memiliki rasa sedikit pahit. Daun harendong bulu yang mengalami pengeringan secara *oven* memiliki warna hijau tua (Nursiam dkk., 2022).

Standarisasi simplisia yaitu standar simplisia yang akan digunakan sebagai bahan baku dengan memegang trilogi mutu-aman-manfaat (Kementrian Kesehatan RI, 2017). Simplisia sebagai bahan baku ekstrak harus lebih dahulu memenuhi persyaratan monografinya. Standarisasi tanaman obat bertujuan untuk memastikan identitas, kualitas, dan kemurniannya (Jayani dan Handojo, 2018). Syarat mutu simplisia herba terdapat pada Tabel 1.

Tabel 1. Syarat Mutu Simplisia Herba

Parameter	Persyaratan Farmakope Herbal Indonesia Edisi II (Kementrian Kesehatan RI, 2017)
Susut pengeringan	$\leq 10\%$
Kadar abu total	$\leq 7,2\%$
Kadar abu tidak larut asam	$\leq 1,2\%$
Sari larut air	$\geq 20,3\%$
Sari larut etanol	$\geq 10,5\%$
Kadar air	$\leq 10\%$

Parameter spesifik berupa identitas simplisia, uji mikroskopik, uji makroskopik, pemeriksaan organoleptik, pola kromatogram, kandungan kimia simplisia, dan kadar sari larut air atau etanol. Parameter non spesifik berupa

penetapan bobot jenis, susut pengeringan, abu total, dan abu tidak larut asam (Utami dkk., 2017). Kadar air merupakan residu air setelah pengeringan. Kadar air yang terlalu tinggi akan menurunkan stabilitas simplisia dan menyebabkan pertumbuhan mikrobial atau jamur (Febrianti dkk., 2019).

Susut pengeringan merupakan persentase senyawa yang hilang selama pengeringan, tidak hanya kandungan air namun senyawa lainnya yang ikut hilang. Susut pengeringan menjadi batasan besarnya senyawa yang hilang selama proses pengeringan (Febrianti dkk., 2019). Penetapan kadar abu untuk mengontrol jumlah cemaran benda anorganik yang terbawa pada sediaan nabati seperti tanah (Handayani dkk., 2017). Pengujian kadar abu tidak larut asam akan menunjukkan mineral atau logam dari tanah, pasir, atau timbal dan merkuri yang tidak dapat larut dengan asam (Utami dkk., 2017). Penentuan kadar sari larut etanol untuk mengukur kemampuan simplisia tersari dalam pelarut organik, sementara kadar sari larut air untuk mengukur kemampuan simplisia tersari dalam pelarut air sehingga dapat diketahui pelarut yang sesuai dengan kepolarannya.

F. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan metode yang dilakukan untuk memisahkan suatu bahan dengan campurannya menggunakan pelarut tertentu. Ekstraksi bertujuan untuk memperoleh metabolit sekunder dari bahan alam. Proses ekstraksi

dipengaruhi oleh bahan baku, pengeringan bahan baku, jenis pelarut, ukuran partikel, rasio bahan dengan pelarut, dan suhu.

Kandungan senyawa aktif bahan baku bergantung pada bagian tanaman yang digunakan, usia, musim, dan tempat tumbuh. Proses pengeringan bahan baku perlu mempertimbangkan sifat senyawa aktif yang ada agar tidak rusak selama proses pengeringan. Pengeringan bahan baku dapat dilakukan di ruang terbuka atau penggunaan suhu $<60^{\circ}\text{C}$ (Lavilla dan Bendicho, 2018).

Pelarut merupakan cairan yang digunakan untuk memisahkan bahan dari senyawa aktifnya dan salah satu pelarut yang aman digunakan untuk ekstraksi adalah etanol (Hidayah, 2016). Jenis pelarut yang dipilih disesuaikan dengan kepolaran pada senyawa metabolit sekunder yang ingin disari. Pemilihan pelarut disesuaikan dengan prinsip *like dissolve like*, yaitu pelarut polar akan melarutkan senyawa polar dan pelarut non polar akan melarutkan senyawa non polar (Ningrum dkk., 2019). Etanol termasuk dalam kategori *Generally Recognized as Safe* (GRAS) sebagai pelarut dalam pengolahan makanan oleh *Food and Drug Administration* (FDA) (Ahmad dkk., 2019). Etanol 70% banyak digunakan sebagai pelarut yang optimal dalam proses ekstraksi, terutama dalam mengekstraksi senyawa flavonoid (Turatbekova dkk., 2023).

Ukuran simplisia memengaruhi luas bidang kontak pelarut dalam menyari senyawa aktif. Ukuran simplisia yang besar akan menyulitkan proses ekstraksi karena bidang penyerapan yang sempit. Ukuran simplisia yang terlalu kecil juga akan menyebabkan senyawa atau debris yang tidak diinginkan ikut tersari dan mempengaruhi hasil ekstraksi (Departemen Kesehatan RI, 1995).

Rasio pelarut dengan bahan yang semakin besar akan meningkatkan tekanan pada sel tanaman untuk terjadi plasmolisis sehingga akan semakin banyak pula senyawa yang akan tersari (Handayani dkk., 2016). Pemilihan suhu untuk ekstraksi juga menjadi pertimbangan karena terdapat senyawa yang bersifat termolabil sehingga dapat terdegradasi ketika terkena suhu tinggi. Hal ini juga menjadi pertimbangan dalam memilih metode ekstraksi yang akan dilakukan (Ningrum dkk., 2019).

G. Maserasi

Metode maserasi merupakan metode ekstraksi paling sederhana karena hanya melakukan perendaman bahan pada pelarut tanpa adanya pemanasan. Metode ini aman untuk senyawa aktif pada tanaman yang bersifat termolabil sehingga mampu meminimalisir faktor kerusakan senyawa aktif. Ekstraksi maserasi lebih menekankan pada waktu kontak yang cukup antara bahan dengan pelarut (Wiraningtyas dan Ruslan, 2020). Proses kontak antara bahan dan pelarut akan lebih maksimal dengan dilakukan penggojokkan (Latifah dkk., 2022). Prinsip dari maserasi adalah pelarut akan memasuki rongga sel tanaman yang akan diekstraksi seiring dengan waktu kontak yang terjadi sehingga senyawa aktif akan terlarut (Wiraningtyas dan Ruslan, 2020). Kekurangan dari metode ini adalah memerlukan pelarut dengan jumlah yang banyak, waktu ekstraksi yang lama, hasil rendemen yang lebih rendah (untuk waktu ekstraksi yang singkat), dan jumlah simplisia yang digunakan lebih banyak (Jovanovic dkk., 2017).

H. Sonikasi

Metode sonikasi merupakan ekstraksi yang dilakukan dengan bantuan gelombang ultrasonik untuk memecah dinding sel sampel sehingga senyawa kimia yang di dalamnya keluar dari sel. Prinsip sonikasi adalah ekstraksi dengan frekuensi gelombang *ultrasonic* $>20\text{kHz}$ untuk bisa merusak dinding sel tanaman sehingga pelarut dapat menarik senyawa aktif di dalamnya. Penggunaan sonikasi berguna untuk mengeluarkan senyawa aktif dengan mempercepat pemecahan dinding sel melalui bantuan gelombang ultrasonik (Purwanti dkk., 2023)

Kelebihan dari metode ini adalah waktu ekstraksi yang singkat, penggunaan pelarut yang lebih sedikit, konsumsi energi yang lebih rendah, dan tingkat ekstraksi serta kualitas yang lebih baik. Sifat fisik gelombang ultrasonik secara efektif mengganggu jaringan sel tanaman yang menyebabkan deformasi hingga pecahnya dinding sel. Hal ini memfasilitasi ekstraksi yang lebih menyeluruh dari komponen yang diinginkan sehingga menghasilkan tingkat ekstraksi yang jauh lebih tinggi dibandingkan dengan metode konvensional, seperti maserasi (Shen dkk., 2023).

Suhu yang digunakan dalam metode sonikasi juga relatif rendah sebagai pendekatan dalam penghematan energi. Metode ini juga tidak terbatas oleh polaritas komponen sehingga cocok untuk mengekstraksi berbagai jenis tanaman dan berbagai komponen. Alat sonikator mudah digunakan dan perawatannya mudah sehingga dianggap sebagai teknologi yang ramah lingkungan (Shen dkk., 2023).

Kekurangan dalam proses ekstraksi ini adalah munculnya kebisingan sekitar 65 dB dari alat ultrasonik selama pengoperasian. Masalah yang lain adalah perlunya optimasi beberapa variabel yang akan mempengaruhi hasil ekstraksi sehingga perlunya *trial and error* agar diperoleh hasil ekstraksi yang optimal. Proses ekstraksi dari berbagai bahan yang sama dapat memiliki pengaturan parameter yang berbeda-beda tergantung dari komponen bioaktif yang akan diekstraksi (Shen dkk., 2023).

Metode ekstraksi sonikasi skala laboratorium yang umum digunakan adalah *bath (ultrasonic cleaner)* dan *probe (ultrasonic horns or sonotrodes)*. Sistem *probe* terdiri dari generator (sumber frekuensi listrik, biasanya 20kHz), transduser dan *horn (detachable)*. Pengoperasian sistem ini adalah dengan merendam *horn* dalam bejana berisikan bahan dan pelarut ekstraksi. Diameter dan ukuran *horn* harus disesuaikan dengan volume yang akan disonikasi untuk memaksimalkan transmisi energi yang diberikan. Kelemahan dari metode ini adalah sebagian besar energi yang ditransmisikan ke media hanya yang berada di sekitar ujung *horn* saja sehingga efektifitas dalam mengekstraksi senyawa bioaktif akan berkurang (Lavilla dan Bendicho, 2018).

Waktu ekstraksi menjadi faktor penting untuk sonikasi karena waktu yang singkat dapat menghasilkan ekstraksi yang kurang maksimal. Ekstraksi yang terlalu lama akan menghasilkan reaksi yang tidak diinginkan, seperti degradasi atau perubahan struktur senyawa dan ekstraksi yang kurang selektif. Pengaturan bentuk (dimensi) dan ukuran wadah ekstraksi harus diperhitungkan untuk menyesuaikan dengan ketinggian ujung transduser. Penggunaan suhu

sesungguhnya membantu dalam hal kelarutan namun perlunya kontrol terutama pada senyawa yang bersifat termolabil. Ekstraksi sonikasi dengan *probe* biasanya dibantu dengan penyediaan bak air atau dengan es di sekitar wadah ekstraksi dengan tujuan menjaga suhu tetap stabil (Lavilla dan Bendicho, 2018).

I. Antibakteri

Antibiotik merupakan obat yang dihasilkan oleh organisme hidup untuk menghentikan dan membunuh bakteri yang berkembang biak dalam tubuh. Mekanisme kerja antibiotik dikelompokkan menjadi lima, yaitu mengganggu fungsi dinding sel bakteri (golongan beta-laktam), menghalangi sintesis protein (rifampisin, kloramfenikol, tetrasiklin, streptogram, aminoglikosida), mengganggu jalur metabolisme penyerapan nutrisi, mengganggu sintesis DNA atau replikasi DNA (metronidazol, sulfa, dan kuinolon), dan memproduksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) (Anggita dkk., 2022; Bencina dkk., 2021). Antibiotik yang direkomendasikan untuk ISK, salah satunya adalah golongan florokuinolon, seperti siprofloksasin (Syukur dan Permana, 2022). Antibiotik golongan florokuinolon mencegah sintesis DNA bakteri dengan menghambat DNA *gyrase* dan *topoisomerase IV* (berperan pada replikasi). Replikasi DNA yang terhambat akan membuat bakteri tidak dapat berproliferasi, pertumbuhannya terhenti dan akhirnya mati (Whelan dkk., 2023).

Resistensi bakteri terhadap antibiotik florokuinolon dapat terjadi karena bakteri memiliki kemampuan untuk menghempas antibiotik sebelum antibiotik

bekerja atau yang disebut dengan mekanisme efluks. Bakteri dengan gen pompa efluks yang kuat akan mampu bertahan hidup. Bakteri yang sering terpapar oleh antibiotik akan mengalami seleksi alam. Hal inilah yang menyebabkan terjadinya resistensi (Whelan dkk., 2023). *E. coli* dianggap memiliki resistensi terhadap antibiotik siprofloksasin apabila memiliki diameter zona hambat yang kurang dari 15 mm dan dianggap masih sensitif apabila memiliki diameter zona hambat lebih dari 21 mm (Syukur dan Permana, 2022).

Pemilihan tanaman sebagai antibakteri karena senyawa pada tanaman memiliki kemampuan untuk menyerang beberapa jalur metabolisme sekaligus pada bakteri, seperti mengganggu sintesis dinding sel bakteri, meningkatkan permeabilitas membran dan mengganggu berbagai proses fisiologis dalam bakteri. Hal ini menyebabkan bakteri lebih sulit dalam mengembangkan mekanisme resistensi meskipun risiko munculnya resistensi tetap bisa terjadi (Alsheikh dkk., 2020). Antibakteri adalah senyawa yang berfungsi untuk menghentikan atau mengendalikan pertumbuhan mikroorganisme yang menyebabkan penyebaran penyakit dan infeksi, membasmi mikroorganisme pada inang yang terinfeksi dan mencegah mikroorganisme merusak suatu bahan. Senyawa antibakteri berdasarkan toksisitasnya bekerja secara bakteriostatik, bakteriosidal dan bakteriolitik (Widya dkk., 2024).

Bakteriostatik hanya menghambat pertumbuhan dengan menghambat sintesis protein atau mengikat ribosom sehingga jumlah sel hidup adalah tetap. Bakteriosidal menyebabkan kematian pada bakteri namun tidak menyebabkan

sel lisis. Hal ini menyebabkan jumlah sel totalnya tetap namun menyebabkan jumlah sel hidup menurun. Bakteriolitik menyebabkan sel pecah sehingga adanya pengurangan jumlah sel dan kekeruhan pada mediumnya. Senyawa antibakteri dengan efek bakteriolitik bekerja dengan cara menghambat pembentukan dinding sel bakteri, merusak dinding sel bakteri, menghambat pembentukan protein dan asam nukleat, serta membuat kerusakan asam nukleat bakteri (Widya dkk., 2024).

J. *E. coli* sebagai Bakteri Uji

E. coli adalah bakteri Gram negatif yang memiliki bentuk lurus, batang dengan ukuran $1-3\mu\text{m} \times 0,4-0,7\mu\text{m}$. Bakteri ini tidak membentuk spora, tidak tahan asam, bersifat motil karena memiliki flagela peritrikus (tersebar di hampir seluruh permukaan sel). *E. coli* mampu tumbuh mulai dari suhu $10-40^{\circ}\text{C}$ namun optimal pada suhu 37°C . Beberapa *strain* mampu hidup dalam kondisi suhu 49°C . *E. coli* hanya memerlukan waktu sekitar 20 menit untuk bereproduksi ketika berada di lingkungan yang mendukung (Zagaglia dkk., 2022). Klasifikasi *E. coli* menurut Basavaraju dkk. (2023) adalah sebagai berikut:

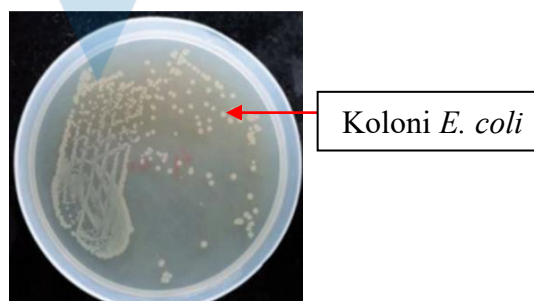
Domain	: Bacteria
Kerajaan	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gamma proteobacteria
Ordo	: Enterobacterales
Famili	: Enterobacteriaceae
Marga	: Escherichia
Spesies	: <i>E. coli</i>

Strain yang diisolasi dari ISK memiliki struktur adesif (flagela, *outer-membrane vesicles*, pili, dan kapsul polisakarida), protein membran luar, lipopolisakarida dan toksin (Zagaglia dkk., 2022). Beberapa *strain* yang diisolasi dari infeksi ekstraintestinal memiliki kapsul polisakarida setelah melalui prosedur pewarnaan Gram yang ditandai dengan adanya lingkaran cahaya terang. *E. coli* memiliki dinding sel yang tipis dan satu atau dua lapisan peptidoglikan (Basavaraju dan Gunashree, 2023). Karakter *E. coli* yang dikulturkan pada medium *Nutrient Agar* dapat dilihat pada Tabel 2 dan pertumbuhan *E. coli* pada medium *Nutrient Agar* terdapat pada Gambar 4.

Tabel 2. Karakter *E. coli* pada medium *Nutrient Agar*

Kategori	Karakter <i>E. coli</i>
Bentuk	Batang
Ukuran	1-3 μm
Kebutuhan oksigen	Aerob, anaerob fakultatif
Elevasi	Cembung
Permukaan	Halus (isolasi awal); Kasar (subkultur); Berlendir (terkapsulasi)
Warna	Putih keabuan
Struktur	Tembus cahaya/tidak tembus cahaya
Hemolisis	-

Sumber: Basavaraju dan Gunashree (2023)



Gambar 4. Pertumbuhan *E. coli* pada medium *Nutrient Agar* (Sumber: Basavaraju dan Gunashree, 2023)

E. coli mampu ditumbuhkan pada kondisi laboratorium dengan media padat atau cair yang mengandung glukosa (sumber energi atau karbon), garam amonium (sumber nitrogen) dan kandungan mineral lainnya. Kebutuhan nutrisi yang sederhana ini membuat *E. coli* mampu dengan mudah dibiakkan. Media yang umum digunakan untuk mengkulturkan adalah *Nutrient Agar*, *Mac Conkey* dan *EMB Agar*. *E. coli* mampu tahan pada pH 4,5-9,5 namun pertumbuhan optimum ada pada pH 7,0 (Basavaraju dan Gunashree, 2023). Karakter *E. coli* yang dikulturkan pada medium *Nutrient Agar* dapat dilihat pada Tabel 2 dan pertumbuhan *E. coli* pada medium *Nutrient Agar* terdapat pada Gambar 4.

K. Parameter Aktivitas Antibakteri

1. Diameter zona hambat

Zona hambat merupakan daerah bening yang terbentuk di sekitar sumuran atau *paper disc* pada medium tumbuh bakteri uji karena tidak adanya pertumbuhan bakteri. Metode analisis yang dapat digunakan adalah metode difusi dengan sumuran dan *paper disc* (cakram). Prinsip dari metode difusi adalah senyawa antibakteri akan terdifusi pada medium padat tempat bakteri diinokulasikan. Metode ini biasa digunakan untuk melihat potensi suatu senyawa menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri patogen. Diameter zona hambat yang terbentuk akan sebanding dengan konsentrasi bahan uji yang ditambahkan (Asali dkk., 2023).

Metode sumuran dilakukan dengan cara pembuatan lubang tegak lurus dengan perforator pada medium padat yang telah diinokulasikan bakteri uji, kemudian sampel uji dimasukkan pada lubang sumuran. Metode *paper disc* prinsipnya adalah dilakukan penjenuhan kertas cakram dengan bahan uji, kemudian ditanamkan pada medium yang telah diinokulasikan bakteri. Hasil dari kedua metode ini adalah terbentuknya daerah bening di sekitar *paper disc* atau sumuran yang menunjukkan adanya daerah hambat pertumbuhan (Asali dkk., 2023).

2. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Konsentrasi Hambat Minimum merupakan konsentrasi terendah suatu bahan yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Pengujian ini dilakukan untuk meminimalisir terjadinya resistensi bakteri terhadap antibiotik atau antibakteri karena penggunaan dalam dosis yang besar. Pengujian yang dilakukan adalah menggunakan serial dilusi atau pengenceran bertingkat untuk melihat konsentrasi bahan uji minimal dalam membunuh bakteri (Munira dan Nasir, 2023).

L. Hipotesis

1. Kadar flavonoid total tertinggi ekstrak daun harendong bulu melalui metode maserasi diperoleh pada waktu ekstraksi 24 jam dan metode sonikasi diperoleh pada waktu ekstraksi 10 menit.

2. Ekstrak etanol 70% daun harendong bulu memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dengan diameter zona hambat kategori sedang (5-10 mm) dan KHM berkisar 12,5-25%.

