

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Tinjauan Teori**

##### **1. Definisi Daun Katuk (*Sauropolis androgynus (L) Merr*)**

Daun katuk (*Sauropolis androgynus L. Merr*) merupakan tumbuhan semak tropis yang ditanam digunakan untuk sayuran. Termasuk dalam keluarga dari *Euphorbiaceae*. Di Malaysia dikenal sebagai cekor manis atau katuk (Hock Eng Khoo, 2015).

Katuk sering digunakan sebagai sayuran di sebagian besar Indonesia. Terutama daerah Jawa katuk dibudidayakan dengan tujuan diperjual belikan, sedangkan pada daerah lainnya ditanam sebagai tumbuhan pagar atau tumbuhan sela. Daun katuk merupakan salah satu sayuran yang memiliki banyak kandungan zat gizi dan zat metabolik sekunder, sehingga katuk dapat digunakan sebagai sayur dan obat herbal (Santoso, 2016).

**Gambar 2.1 Tanaman Katuk (Santoso, 2016)**



Tanaman daun katuk memiliki tinggi 3 meter. Mempunyai akar berbentuk akar tunggang, batang yang muda berwarna hijau dan batang yang tua berwarna coklat. Katuk mempunyai buah dengan bentuk bulat, berukuran kecil seperti kancing, berwarna putih dan berbiji 3 buah. Daun

katuk memiliki susunan selang-seling pada satu tangkai, bentuk helaian daun lonjong sampai bundar. Daun katuk pada pangkal cabang mempunyai bentuk bulat telur berukuran lebar 1,5 - 2,5 cm, dengan panjang 2,5 - 4,5 cm. Sedangkan pada daun tengah dan ujung berbentuk jorong berukuran lebar 2,2 - 3,1 cm, dengan panjang 4,3 - 8,5 cm. Bunga tanaman katuk yaitu tunggal atau berkelompok dengan perbungaan 1 atau 2 bunga, ada bunga jantan dan bunga betina untuk pergugus. Bunga jantan memiliki ciri berwarna merah kecokelatan, kelopak dan mahkotanya serupa, tebal dan berdaging sedangkan bunga betina berwarna merah kecokelatan, kelopak dan mahkotanya serupa, tipis berlepasan, tidak mudah luruh dan tetap menempel pada buah (Santoso, 2016).

#### **a. Klasifikasi Daun Katuk**

Berikut klasifikasi pada tanaman daun katuk (*Sauropus androgynus L. Merr*) menurut Santoso (2016) diantaranya:

Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Anak Divisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Dicotyledoneae</i>
Bangsa	: <i>Granales</i>
Suku	: <i>Euphorbiaceae</i>
Anak Suku	: <i>Phyllanthoideae</i>
Marga	: <i>Sauropus</i>
Jenis	: <i>Sauropus androgynus L. Merr</i>

#### **b. Nama Lain**

Katuk mempunyai beberapa nama daerah yaitu: daerah Melayu disebut dengan mamata, di Minangkabau dikenal dengan simani, daerah Sunda dikenal dengan sebutan katuk, pada daerah Jawa dikenal dengan sebutan babing, katukan, katu, di Madura mempunyai nama daerah yaitu kerakur, daerah Bengkulu dikenal dengan katuk, di Malaysia dengan istilah cekur manis, di Bali dikenal dengan tanaman kayu manis, di

negara Filipina/Tagalog dengan sebutan binahian dan yang terakhir negara Kamboja dikenal dengan tanaman ngub (Santoso, 2016).

### **c. Kandungan Senyawa Kimia**

Daun katuk mempunyai banyak kandungan seperti alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, glikosida, fenol, kadar provitamin A, B dan C, serta protein dan mineral. Pada daun katuk juga terdapat kandungan isoflavonoid yang dapat memperlambat berkurangnya masa tulang (Andini, 2014). Zat senyawa aktif pada daun katuk yang berfungsi sebagai antibakteri yaitu flavonoid, tanin, saponin dan alkaloid. Berikut adalah mekanisme kerja zat senyawa tersebut sebagai antibakteri (Masjid dkk, 2018):

#### **1) Flavonoid**

Flavonoid termasuk dalam senyawa polar sebab memiliki sejumlah gugus hidroksil sehingga dapat larut pada pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, air. Sebaliknya, aglikon flavonoid yang kurang polar seperti isoflavon, flavanon dan flavon serta flavonol yang termetoksilasi cenderung lebih mudah larut dalam pelarut seperti eter dan kloroform. Tanaman yang mengandung flavonoid memiliki aktivitas sebagai antioksidan, antibakteri dan antipiretik.

Flavonoid memiliki mekanisme sebagai antibakteri dengan merusak sel bakteri, memanfaatkan perbedaan kepolaran antara lipiid penyusun sel bakteri dengan gugus alkohol pada senyawa aflavonoid. Membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler merupakan mekanisme senyawa flavonoid sebagai antibakteri.

#### **2) Alkaloid**

Alkaloid mengandung satu inti kerangka piridin, quinolin, dan isoquinolin atau tropan serta bertanggung jawab pada efek

fisiologis manusia dan hewan. Rantai samping alkaloid dibentuk atau merupakan turunan dari terpna atau asetat. Alkaloid bersifat basa serta bertindak sebagai senyawa basa dalam suatu reaksi. Campuran alkaloid pada asam dapat membentuk garam kristalin tanpa membentuk air. Pada umumnya alkaloid berbentuk padatan kristal seperti pada senyawa atropine. Beberapa alkaloid seperti lobeline atau nikotin berbentuk cairan. Antidiare, antidiabetes, antibakteri dan antimalaria merupakan manfaat dari kandungan senyawa aktif alkaloid.

Mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan akan menyebabkan kematian sel tersebut merupakan mekanisme senyawa aktif alkaloid sebagai antibakteri.

### 3) Saponin

Suatu glikosida mempunyai aglikon berupa sapogenin disebut dengan saponin. Senyawa tersebut mampu menurunkan tegangan permukaan air dapat mengakibatkan terbentuknya buih pada permukaan air setelah dikocok. Sifat ini memiliki kesamaan pada surfaktan. Penurunan tegangan permukaan sebab adanya senyawa sabun yang mampu merusak ikatan hidrogen pada air. Senyawa sabun ini memiliki dua bagian yang tidak sama sifat kepolarnya. Saponin mempunyai aktivitas luas sebagai antibakteri, antifungi, menurunkan kolesterol dalam darah dan menghambat pertumbuhan sel tumor

Menurunkan tegangan permukaan menyebabkan naiknya permeabilitas serta menyebabkan senyawa intraseluler keluar. Saponin berdifusi melewati membran luar serta dinding sel yang rentan dan mengikat membran sitoplasma dan mengganggu serta mengurangi kestabilan. Hal ini akan mengakibatkan sitoplasma

bocor keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel merupakan mekanisme dari senyawa aktif saponin sebagai antibakteri.

#### 4) Tanin

Mempunyai gugus phenol serta bersifat koloid yaitu senyawa tanin. Pada air bersifat koloid dan asam lemah. Semua golongan tanin bisa larut dalam air. Kelarutannya besar, akan bertambah besar jika dilarutkan pada air panas. Tanin dapat larut dalam pelarut organik seperti metanol, etanol, aseton dan pelarut organik lainnya. Tanin memiliki berat molekul tinggi dan cenderung mudah dioksidasi menjadi suatu polimer, sebagian besar tanin bentuknya amorf dan tidak memiliki titik leleh. Senyawa aktif tanin juga memiliki khasiat sebagai astringen, anti diare, anti bakteri dan antioksidan

Menghambat kerja enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase, sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk. Tanin mempunyai aktivitas antibakteri berhubungan pada kemampuannya untuk menginaktifkan adhesin dan menginaktifkan emzim, dan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel. Tanin memiliki target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel kurang sempurna. Hal tersebut menyebabkan sel bakteri menjadi pecah sebab adanya tekanan osmotik dan fisik sehingga sel bakteri akan mati.

## 2. Simplisia

Menurut penjelasan pada buku Materia Medika Indonesia simplisia merupakan bahan alam yang telah melalui proses pengeringan yang dimanfaatkan sebagai pengobatan serta belum mengalami pengolahan, kecuali dinyatakan lain dalam suhu pengeringan simplisia tidak lebih dari 60°C (Lully, 2016).

**a. Syarat**

Simplisia dikatakan aman serta berkhasiat adalah simplisia yang tidak mengandung senyawa bahaya kimia, mikrobiologis, dan bahaya fisik, serta terdapat kandungan senyawa zat aktif yang berkhasiat. Ciri dari simplisia yang baik adalah dalam kondisi yang kering (kadar air <10%), jika diremas simplisia daun bergemerisik dan dapat menjadi serpihan, simplisia bunga jika diremas bergemerisik serta berubah menjadi serpihan atau mudah untuk dipatahkan dan simplisia buah dan rimpang (irisian) jika diremas dapat dengan mudah dipatahkan. Ciri yang lainnya simplisia tidak berjamur serta berbau khas menyerupai dengan bahan segarnya (Lully, 2016).

**b. Tahap Pembuatan****1) Pengumpulan Bahan Baku**

Pada awal pembuatan simplisia dilakukan dengan tahapan pengumpulan bahan baku atau pemanenan tanaman yang akan dibuat simplisia.

**2) Sortasi Basah**

Memisahkan kotoran atau bahan asing dan bagian tanaman lain yang tidak diinginkan dari bahan simplisia merupakan tahapan dari sortasi basah.

**3) Pencucian**

Setelah tahap sortasi basah melakukan pencucian terhadap bahan simplisia tahapan ini digunakan untuk menghilangkan tanah atau kotoran yang lain yang melekat pada bahan simplisia. Pencucian ini dilakukan dengan air bersih.

**4) Perajangan**

Dalam mempermudah pada proses pengeringan, pengepakan serta penggilingan melakukan perajangan pada bahan simplisia.

5) Pengeringan

Pengeringan pada bahan simplisia memiliki tujuan agar simplisia tidak mudah rusak dan dapat di simpan dalam waktu yang cukup lama.

6) Sortasi Kering

Sortasi kering merupakan proses memisahkan benda asing setelah pengeringan. Pemisahan yang dilakukan yaitu seperti bagian tanaman yang tidak diinginkan ataupun pengotor lain yang masih tertinggal.

7) Pengemasan dan Penyimpanan

Tahapan pengemasan dan penyimpanan merupakan tahapan akhir pada pembuatan simplisia. Untuk pengemasan simplisia memilih wadah yang tidak dapat menyebabkan reaksi pada bahan simplisia yang akan melakukan pengemasan. Simplisia dapat disimpan dengan suhu kamar yaitu 15-30°C dengan simplisia yang tidak tahan akan panas dikemas pada wadah yang melindungi dari cahaya seperti alumunium foil, plastik atau botol berwarna gelap (Lully, 2016).

**c. Serbuk Simplisia**

Derajat kehalusan pada simplisia adalah salah satu faktor dalam memperoleh ekstrak yang optimal. Untuk ukuran pengayak yang sering dipakai diantaranya 40 mesh, 60 mesh dan 80 mesh. Hasil penelitian menunjukkan bahwa serbuk simplisia dengan ukuran 60 mesh dapat menghasilkan rendemen ekstrak tertinggi, sehingga dapat disimpulkan bahwa semakin kecil ukuran dari serbuk simplisia maka semakin besar rendemen ekstrak yang didapatkan (Fitriana dkk, 2016).

**3. Ekstraksi**

Sediaan kental atau pekat yang didapatkan dengan cara mengekstraksi zat aktif atau zat senyawa berkhasiat pada simplisia dengan menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian serbuk yang tersisa dilakukan

sedemikian dan diuapkan hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan pengertian ekstrak (Farmakope Edisi VI). Menarik senyawa pada simplisia adalah proses ekstraksi. Dalam mengekstraksi metabolit sekunder yang belum diketahui strukturnya dan tujuan skrining pelarut yang sering digunakan yaitu metanol, etanol 70%, dan etanol 96%. Dalam mengisolasi dan memurnikan senyawa dapat memakai pelarut organik lain, seperti butanol, etil setat, kloroform, dan n-heksana (Saifuddin, 2014).

Dalam ekstraksi terdapat 2 cara yaitu dengan cara panas ataupun dingin. Ekstraksi panas biasanya relatif lebih cepat dikarenakan memperbesar kelarutan dalam suatu senyawa tetapi terkadang akan membentuk suatu senyawa baru sebab terjadinya peningkatan suhu. Oleh sebab itu ekstraksi dilakukan dengan cara dingin lebih disarankan untuk senyawa yang tidak stabil jika dilakukan dengan pemanasan (Emelda, 2019).

Metode ekstraksi yang akan digunakan tergantung pada wujud dan kandungan zat dari bahan yang akan di ekstraksi. Metode yang sering digunakan yaitu maserasi atau perkolasii. Beberapa metode ekstraksi dengan cara dingin yang biasa digunakan antara lain:

**a. Maserasi**

Merasasi merupakan salah satu metode ekstraksi padat-cair yang paling sederhana. Cara ekstraksi dengan metode maserasi dengan merendam sampel atau simplisia pada suhu kamar dengan menggunakan pelarut yang sesuai sehingga mampu melarutkan senyawa-senyawa dalam sampel. Sampel dengan metode maserasi biasa direndam selama 3-5 hari sambil diaduk sesekali agar dapat mempercepat proses pelarutan. Ekstraksi dengan maserasi dapat dilakukan berulang kali sehingga terekstraksi secara sempurna. (Leba, 2017).

Ekstraksi dengan maserasi dapat dilakukan dengan perbandingan bahan pelarut yaitu 1:5 selama 5x24 jam atau 5 hari dan dilakukan

pengocokan setiap 24 jam. Pada penyarian dengan maserasi perlu dilakukan pengadukan untuk meratakan konsentrasi larutan diluar butir serbuk simplisia sehingga dengan dilakukannya pengadukan tersebut tetap terjaga adanya derajat perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan larutan di luar sel (Zukhri dkk, 2018).

### **b. Perkolasi**

Metode ekstraksi perkolası dengan cara berkesinambungan di mana antara serbuk sampel dibasahi dengan perlahan di dalam sebuah perkolator (wadah silinder yang dilengkapi dan kran pada bagian bawahnya). Pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel kemudian dibiarkan menetes dengan perlahan pada bagian bawah (Nugroho, 2017).

Ada beberapa metode ekstraksi dengan cara panas yang biasa dilakukan antara lain:

#### **a. Reflux**

Reflux adalah metode ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya dengan waktu tertentu dengan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Pada ekstraksi metode reflux biasa dilakukan pengulangan proses pada residu pertama dengan pengulangan 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna (Lisnawati dkk, 2020).

#### **b. Soxhlet**

Soxhlet merupakan metode ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru yang biasanya dilakukan menggunakan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin yang baik (Lisnawati dkk, 2020).

#### **c. Infus**

Infus merupakan metode ekstraksi menggunakan pelarut air dengan temperatur pada penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 96-98°C ) selama waktu

tertentu sekitar (15- 20 menit). Sedangkan dekok merupakan infus dengan waktu yang lebih lama yaitu  $\geq 30$  dan temperatur sampai titik didih air (Lisnawati dkk, 2020).

#### **4. Pelarut**

Dalam pembuatan ekstrak memerlukan pelarut yang baik (optimal) untuk senyawa kandungan berkhasiat atau yang aktif, demikian senyawa tersebut mampu terpisahkan dari bahan atau dari senyawa kandungan yang lainnya dan ekstrak hanya terkandung sebagian besar senyawa kandungan yang diinginkan (Nugroho, 2017).

Pada prinsipnya cairan pelarut harus memenuhi syarat kefarmasian atau dalam perdagangan dikenal dengan aturan kelompok spesifikasi “*Pharmaceutical Grade*”. Sampai saat ini berlaku aturan bahwa pelarut yang diperbolehkan adalah air dan alkohol (etanol) serta campurannya (Saiffudin, 2014). Terdapat beberapa jenis pelarut yang sering digunakan diantaranya:

##### **a. Etanol**

Pelarut dalam golongan alkohol paling banyak digunakan pada proses isolasi senyawa organik bahan alam dikarenakan mampu melarutkan seluruh senyawa metabolit sekunder karena memiliki gugus hidroksil bersifat polar dan gugus alkil bersifat non polar adalah etanol.

Etanol dipertimbangkan sebagai pelarut karena etanol lebih selektif, tidak mudah ditumbuhi kapang dan jamur serta tidak beracun, netral dan absorbansinya baik. Etanol mampu bercampur pada segala perbandingan dan panas yang diperlukan untuk perekatan yang lebih sedikit (Hikmawati dkk, 2019).

##### **b. Air**

Pelarut yang lebih murah, mudah diperoleh, tidak mudah menguap, serta tidak beracun adalah air. Tetapi kerugian dalam pemakaian pelarut air tidak mampu melarutkan semua zat senyawa aktif yang dikehendaki, ekstrak bisa ditumbuhi kapang sehingga cepat rusak dan waktu

pengeringan ekstrak memerlukan jangka waktu yang lama. Air juga mampu melarutkan garam alkaloid, glikosida, tanin, gom, pati, protein, dan asam organik (Marsihana, 2020).

#### **c. Metanol**

Salah satu bentuk dari alkohol yang paling sederhana adalah metanol. Berbentuk cairan ringan tidak berwarna, bersifat mudah menguap, mudah terbakar, bersifat racun memiliki aroma khas serta larut sempurna pada air, alkohol, serta eter. Metanol adalah pelarut bersifat universal sehingga bisa melarutkan senyawa yang bersifat polar dan nonpolar. Metanol dapat menarik alkaloid, steroid, saponin, dan flavonoid dari tanaman (Marsihana, 2020).

#### **d. Etil Asetat**

Berbentuk cairan jernih, tidak berwarna, bau khas seperti buah yaitu pelarut etil asetat. Dapat larut pada 15 bagian air, tercampur dengan eter, etanol, dan kloroform. Termasuk pelarut semi polar, mudah terbakar dan menguap, penyimpanannya pada wadah tertutup rapat dan terhindar dari panas. Senyawa yang larut yaitu flavonoid, alkaloid, senyawa-senyawa fenolik seperti fenol-fenol, asam fenolat, fenil propanoid, antrakinon dan xanton (Marsihana, 2020)

#### **e. Kloroform**

Kloroform merupakan triklorometana terdapat kandungan etanol 1% v/v-2% v/v untuk zat penstabil. Pemerian cairan yang mudah menguap, tidak berwarna, bau khas, rasa manis dan membakar. Jarak didih tidak lebih 5% v/v tersuling dengan suhu dibawah 60°C. Sisa tersuling dengan suhu antara 60°C dan 62°C. Kloroform digunakan sebagai pelarut untuk lemak, antrakuinon, alkaloid, flavonoid, dan resin (Aryani dkk, 2015).

#### **f. Petroleum Eter**

Termasuk pelarut non polar campuran hidrokarbon cair memiliki sifat mudah menguap yaitu petroleum eter. Petroleum eter melarutkan

senyawa yang bersifat non polar pada selubung sel dan dinding sel seperti lemak-lemak, terpenoid, klorofil dan steroid (Marsihana, 2020).

**g. *n*-Heksana**

Penyulingan minyak tanah yang telah bersih, terdiri dari campuran hidrokarbon, pucat, transparan, memiliki sifat volatil, mudah terbakar serta bau karakteristik *n*-heksana. Tidak dapat larut pada air, dapat larut dalam alkohol, benzene, kloroform, eter. Uap dapat mudah meledak jika berkaitan dengan udara, *n*-heksana sebaiknya disimpan di tempat yang dingin. Termasuk pelarut non polar yang mampu melarutkan senyawa-senyawa minyak lemak dan asam lemak tinggi, steroid, tritopenoid, serta karetenoid (Anggraeni dkk, 2014).

**5. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)**

Metode kromatografi paling sederhana dan banyak digunakan merupakan kromatografi lapis tipis. Peralatan dan bahan untuk melaksanakan pemisahan dan analisis sampel pada metode KLT cukup sederhana diantaranya bejana tertutup (chamber) yang berisi pelarut dan lempeng KLT. Dengan optimasi metode dan menggunakan instrumen komersial yang tersedia, pemisahan yang efisien dan kuantifikasi yang akurat dapat dicapai. Beberapa faktor yang mempengaruhi gerakan noda dalam kromatografi lapisan tipis dan mempengaruhi harga *Rf* (Retention/Retardation Factor) merupakan sistem pelarut, adsorben, ketebalan adsorben, jumlah material. Semakin besar sebuah *Rf* pada senyawa maka semakin besar jarak perjalanan senyawa pada plat KLT (Sopianti dkk, 2018).

**a. Fase Diam**

Penjerap memiliki ukuran kecil pada diameter partikel antara 10-30  $\mu\text{m}$ . Semakin kecil ukuran rata-rata fase diam dan juga semakin sempit ukuran fase diam, semakin baik kinerja KLT pada hal efisisensi dan resolusinya. Bahan yang biasa digunakan sebagai fase diam pada uji KLT yaitu dengan silika gel, alumina, oksida mineral lainnya, silika

kimia-berikat gel, selulosa, poliamida, pertukaran ion polimer, diresapi silika gel, dan fase kiral.

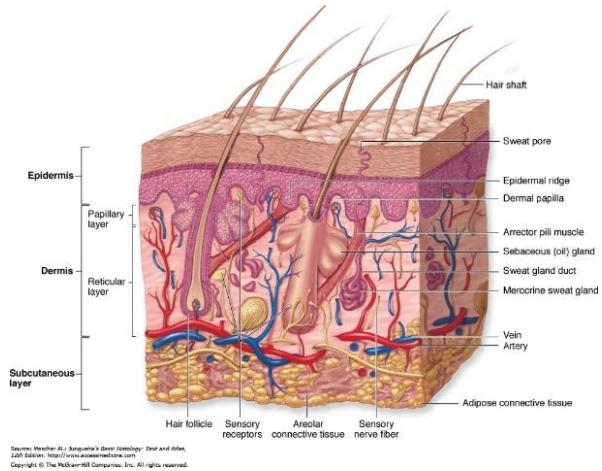
b. Fase Gerak

Pelarut yang digunakan sebagai fase gerak hanyalah pelarut bertingkat mutu analitik dan bila diperlukan sistem pelarut multikomponen ini harus berupa suatu campuran yang sesederhana mungkin yang terdiri atas maksimum 3 komponen. Eluen atau fase gerak yang digunakan dalam KLT dikelompokkan ke dalam dua kelompok, yaitu untuk pemisahan senyawa hidrofil dan lipofil. Eluen untuk pemisahan senyawa hidrofil meliputi air, metanol, asam asetat, etanol, isopropanol, aseton, n-propanol, tert-butanol, fenol, dan n-butanol sedangkan untuk pemisahan senyawa lipofil meliputi etil asetat, eter, kloroform, benzena, toluena, sikloheksana, dan petroleum eter.

## 6. Kulit

Organ bagian terluar dari tubuh yang melapisi tubuh manusia adalah kulit. Kulit memiliki 15% dari berat badan keseluruhan. Permukaan luar bagian kulit memiliki pori-pori (rongga) untuk tempat keluarnya keringat. Kulit mempunyai banyak fungsi yaitu untuk pelindung tubuh, alat indra peraba atau alat komunikasi serta alat pengatur suhu. Pada umumnya terdapat lima jenis kulit wajah yaitu kulit normal, kulit berminyak, kulit kering, kulit kombinasi, dan kulit sensitif (Kalangi, 2013). Berikut adalah penjelasan mengenai lapisan kulit:

**Gambar 2.2 Anatomi Kulit (Kalangi, 2013)**



**a. Lapisan Epidermis**

Lapisan kulit yang terluar nampak oleh mata yaitu epidermis. Ketebalan epidermis 0,4 – 1,5 mm. Memiliki sel 80% dari keseluruhan sel pada epidermis adalah keratinosit. 5 lapisan epidermis diantaranya dari dalam ke luar, stratum basal, stratum spinosum, stratum granulosum, stratum lusidum dan stratum korneum. Empat jenis sel lapisan epidermis diantaranya, keratinosit, melanosit, sel langerhans dan sel merkel.

**b. Lapisan Dermis**

Sistem integrasi pada jaringan konektif fibrosa, filamentosa dan difus merupakan lokasi yang mempunyai pembuluh darah dan saraf di kulit lapisan dermis. Komponen paling banyak terdapat pada dermis yaitu serabut kolagen. Terdapat adneksa kulit berasal dari epidermis, fibroblas, makrofag dan sel mast pada dermis.

Terdapat 2 regio diantaranya papilla dermis dan retikuler dermis. Kedua regio tersebut bisa terlihat secara histologi. Papilla dermis berbatasan pada epidermis, mengikuti kontur epidermis, dan pada umumnya ketebalan tidak lebih dari 2 kali tebal epidermis. Sedangkan pada retikuler dermis membentuk sebagian besar lapisan dermal.

Serabut kolagen dengan diameter besar adalah penyusun utama lapisan tersebut.

**c. Lapisan Subkutis**

Lapisan subkutan di bawah retikularis dermis disebut juga dengan hipodermis, jaringan ikat lebih longgar dengan serat kolagen halus terorientasi terutama sejajar pada permukaan kulit dengan beberapa di antaranya menyatu dengan yang berasal dari dermis. Kumpulan sel-sel adiposit kemudian tersusun menjadi lobulus-lobulus yang dibatasi oleh septum dari jaringan ikat fibrosa penyusun pada hipodermis.

**7. Bakteri**

Mikroorganisme bersel tunggal tidak terlihat oleh mata, tetapi dapat dilihat dengan bantuan mikroskop adalah bakteri. Memiliki panjang  $0,5-10 \mu$  dan lebar  $0,5-2,5 \mu$  tergantung jenisnya ( $\mu = 1$  mikron =  $0,001$  mm) (Hidayah, 2016). Ada beberapa jenis bentuk sel bakteri diantaranya:

- a. Bentuk bulat atau *cocci* (tunggal = *coccus*)
- b. Bentuk batang atau *bacilli* (tunggal = *bacillus*)
- c. Bentuk spiral atau *spirilli* (tunggal = *spirillum*)
- d. Bentuk koma atau *vibrios* (tunggal = *vibrio*)

Bakteri diklasifikasikan menjadi 2 yaitu bakteri gram negatif dan positif berdasarkan dari perbedaan respons terhadap prosedur pewarnaan gram dan struktur dinding bakteri.

**a. Gram Positif**

Dinding sel mengandung peptidoglikan tebal dan diikuti dengan ikatan benang-benang *teichoic acid* dan *teichoronic acid*, biasa berbentuk bulat (*coccus*), pewarnaan gram bakteri ini berikatan dengan zat warna utama yaitu *Gentian Violet* serta tidak luntur pada saat dicelupkan di dalam larutan alkohol dan pada bawah mikroskop tampak berwarna ungu. Salah satu contoh yaitu bakteri *Propionibacterium acne*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*.

### **b. Gram Negatif**

Sedikit ikatan peptidoglikan dan tidak memiliki ikatan benang-benang *teichoic acid* dan *teichoronic acid*, biasa berbentuk batang (*basil*), pewarnaan gram bakteri negatif tidak dapat berikatan pada zat warna utama yaitu *Gentian Violet* serta luntur jika dicelupkan di dalam larutan alkohol dan dibawah mikroskop terlihat berwarna merah jika di berikan zat warna safranin contoh dari bakteri gram negatif yaitu, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Klebsiella pneumoniae*(Hidayah, 2016).

## **8. Jerawat**

Salah satu penyakit kulit yang mendapat perhatian adalah jerawat. Jerawat sendiri memiliki pengertian yaitu suatu keadaan pori-pori kulit tersumbat dapat menyebabkan timbul beruntus-beruntus dan kantong nanah meradang dan terinfeksi pada kulit. Jerawat biasanya terjadi pada daerah kulit wajah, leher dan punggung manusia, baik laki-laki ataupun perempuan (Madelina dkk, 2018).

Berkembangnya komedo menjadi inflamasi jika terinfeksi oleh *Propionibacterium acnes* dapat menimbulkan jerawat, sumber nutrisi pada bakteri tersebut gliserol dalam sebum. Kemudian asam lemak bebas dari sebum yang dapat menyebabkan sel-sel neutrofil memberikan respons untuk mengeluarkan enzim dan dapat merusak dinding folikel rambut dan terjadinya inflamasi. Reaksi ini terjadi jika penumpukan kotoran serta sel kulit mati pada saluran kandung rambut dan terpapar oleh bakteri *Propionibacterium acnes* (Fissy dkk, 2014).

Penyebab terjadinya jerawat sangat banyak diantaranya: genetik, endoktrin, faktor makanan, keaktifan, dari kelenjar sebasea sendiri, faktor psikis, iklim, infeksi bakteri, dan kosmetika (Madelina dkk, 2018). Bakteri dapat menyababkan terjadinya jerawat diantaranya, *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Staphylococcus aureus* (Fissy dkk, 2014).

**a. Bakteri *Propionibacterium acnes***

Bakteri gram positif berbentuk batang memiliki panjang bervariasi antara 1-1,5  $\mu\text{m}$ , tidak berspora yaitu *Propionibacterium acnes*. Bakteri tersebut tumbuh sebagai *anaerob obligat* dan *aerotoleran*. Bakteri *Propionibacterium acnes* menghasilkan asam propionat, seperti pada nama bakterinya (Hidayah, 2016).

Salah satu penyebab jerawat yaitu bakteri *Propionibacterium acnes* sebab menghasilkan lipase mengubah asam lemak tak jenuh menjadi asam lemak jenuh menyebabkan sebum menjadi padat. Bila produksi sebum bertambah maka bakteri tersebut bertambah banyak dan keluar dari kelenjar *sebasea*, bakteri tersebut pemakan lemak (Hafsari dkk, 2015). Berikut adalah klasifikasi pada *Propionibacterium acne* adalah sebagai berikut:

Divisi : *Actinobacteria*  
 Kelas : *Actinobacteridae*  
 Bangsa : *Actinomycetales*  
 Marga : *Propionibacteriaceae*  
 Genus : *Propionibacterium*  
 Spesies : *Propionibacterium acne*

**b. Bakteri *Staphylococcus epidermidis***

Termasuk bakteri gram positif, berbentuk bola berdiameter 0,5-1,5  $\mu\text{m}$ , terdapat dalam tunggal serta berpasangan, secara khas mampu membelah diri pada lebih dari satu bidang sehingga dapat membentuk gerombolan tak teratur yaitu bakteri *Staphylococcus epidermidis*. Termasuk *anaerob fakultatif* sebab mampu tumbuh lebih cepat dan lebih banyak dalam keadaan *aerobik*. Suhu optimum 30-37°C serta tumbuh baik pada NaCl 1-7% (Soedarto, 2015).

Sifat dari bakteri ini yaitu koagulase negatif dan katalase positif yang berarti protein ekstraseluler yang mengikat *prothrombin hospes* dan membentuk komplek yang disebut *Staphylothrombin* dan bakteri ini

memproduksi enzim katalase yang dapat memecah  $H_2O_2$  menjadi  $H_2O$  dan  $O_2$ . Klasifikasi bakteri *Staphylococcus epidermidis* diantaranya (Soedarto, 2015):

Kingdom : *Protista*  
 Divisi : *Schizophyta*  
 Class : *Schyzomycetes*  
 Ordo : *Eubacteriales*  
 Famili : *Enterobacteriaceae*  
 Genus : *Staphylococcus*  
 Spesies : *Staphylococcus epidermidis*

**c. Bakteri *Staphylococcus aureus***

Bakteri berbentuk kokus berdiameter sekitar  $1 \mu m$  pada pewarnaan bersifat gram-positif, dilihat dibawah mikroskop berbentuk seperti kelompok anggur yaitu bakteri *Staphylococcus aureus*. Bakteri ini tidak aktif bergerak dan tidak membentuk spora, flora normal tubuh manusia terdapat pada kulit, konjungtiva, hidung, faring, mulut, usus bagian bawah, uretra anterior dan vagina. *Staphylococcus aureus* mengakibatkan pneumonia, meningitis, emfisema, infeksi tulang dan sendi ataupun endokarditis serta berperan dalam beberapa infeksi kulit salah satunya jerawat (Soedarto, 2015). Berikut adalah klasifikasi dari bakteri *Staphylococcus aureus*:

Phylum : *Firmicutes*  
 Class : *Bacilli*  
 Ordo : *Bacillales*  
 Family : *Streptococcaceae*  
 Genus : *Staphylococcus*  
 Species : *Staphylococcus aureus*

## 9. Definisi Sediaan Serum

Bentuk sediaan kosmetik yang berkembang akhir – akhir ini yaitu serum. Viskositas serum yang rendah dapat dikategorikan sebagai sediaan emulsi. Memiliki konsentrasi bahan aktif tinggi sehingga efeknya lebih cepat diserap kulit, viskositas yang rendah dapat memberikan efek yang lebih nyaman dan lebih mudah menyebar dipermukaan kulit merupakan kelebihan dari serum sehingga lebih efektif dan cepat dibandingkan sediaan topical lainnya seperti krim, gel, facemist dan lain sebagainya (Hasrawati dkk, 2020). Sediaan serum dapat diformulasikan sebagai *antiacne*, *brightening*, *antiaging*, serum bulu mata dan lainnya. Serum yang berkembang saat ini berasal dari bahan alam.

Penggunaan serum dapat membuat kulit lebih kencang, tekstur lebih halus, mengecilkan pori-pori dan meningkatkan kelembaban kulit. Bentuk sediaan serum dianggap cukup nyaman digunakan karena memiliki kandungan air yang tinggi yang dapat melembabkan kulit dan mudah menyebar saat digunakan (Hasrawati dkk, 2020).

## 10. Bahan Sediaan Serum

Dalam sediaan serum terdiri dari bahan pembentuknya yaitu basis serum yang digunakan sebagai pembentuk larutan kental massa serum, humektan yang digunakan mengurangi kehilangan air bisa juga sebagai pelembab alkalizing agent yang digunakan sebagai penetrator pH asam pada sediaan, pengawet untuk mencegah sediaan tercemar mikroba dan aquadest yang digunakan untuk melarutkan atau sebagai pelarut (Hasrawati dkk, 2020).

### a. Basis Serum

Basis serum adalah bahan utama yang digunakan dalam pembuatan serum wajah. Basis serum yang digunakan untuk sediaan kosmetika harus memiliki sifat inert, aman, tidak bereaksi terhadap komponen lainnya dan stabil selama proses penyimpanan. Contoh basis serum yang sering digunakan yaitu, xanthan gum, karbopol dan Na-CMC.

### 1) *Xanthan Gum*

Hasil fermentasi dekstrose pada bakteri *xanthomonas campestris* yaitu *xanthan gum*. Berbentuk bubuk berwarna krem cepat larut pada air panas atau air dingin membentuk larutan kental dengan konsentrasi rendah. Jika terjadi perubahan suhu, sedikit berubah kekentalannya, memiliki rentangan pH luas, dapat pada keadaan beku. Sifat kemampuan stabil berbagai konsentrasi garam (hingga 150 g / 1 NaCl), suhu hingga 90°C dan pH (2-11). Pada konsentrasi rendah (0,1% – 0,2%) terbentuk larutan kental dan konsentrasi 2% - 3% terbentuk gel (Hasrawati dkk, 2020).

Peningkatan konsentrasi dalam rentang konsentrasi 0,5-1% meningkatkan viskositas dan daya lekat, serta menurunkan daya sebar dan diameter hambatan terhadap *Staphylococcus epidermidis*, namun tidak begitu mempengaruhi warna, bau, homogenitas, pH, dan konsistensi krim (Niken, 2013).

### 2) *Karbopol*

Salah satu bahan basis serum yaitu karbopol. Pada formulasi sediaan farmasi dan kosmetik sebagai pengemulsi, pensuspensi, peningkat viskositas dalam sediaan krim, gel dan *ointment* untuk penggunaan *ophthalmic*, rektal dan topikal. Pemakaian relatif aman karena tidak toksik dan tidak mengiritasi, tidak mengakibatkan reaksi hipersensitivitas pada penggunaan topikal (Hasrawati dkk, 2020).

### 3) Na-CMC (*Nartrium carboxymethylcellulosa*)

Basis serum yang banyak juga digunakan yaitu Na-CMC. Dalam formulasi dapat digunakan sebagai *emulsifying agent*, *gelling agent*, basis serum dan tablet *binder*. Memiliki kandungan tidak kurang dari 6,5% dan tidak lebih dari 9,5% Na. Berbentuk butiran putih atau putih kuning gading, tidak berbau atau hampir tidak berbau dan higroskopik. Kelarutan mudah mendispersi dalam air,

membentuk suspensi koloidal, tidak larut dalam etanol (95%) P, dalam eter dan dalam pelarut organik lain (Indriyati dkk, 2017).

### **b. Humektan**

Mengurangi kehilangan air pada sediaan serum sehingga sediaan akan stabil yaitu humektan. Pemilihan bahan tidak didasarkan hanya pada pengaruhnya terhadap disposisi air tetapi memberikan efek terhadap viskositas dan konsistensi dari produk akhir. Dapat meningkatkan kelembutan dan daya sebar, melindungi dari kemungkinan kering. Untuk contoh humektan gliserin, *butylene glycol* dan propilen glikol dalam konsentrasi 10-20% (Syamsul, 2015).

#### **1) Propilen Glikol**

Memiliki titik lebur  $-59^{\circ}\text{C}$ , titik didih sebesar  $188^{\circ}\text{C}$  kerapatan  $1.038 \text{ g/cm}^3$  pada  $20^{\circ}\text{C}$  yaitu propilen glikol. Konsentrasi sebagai humektan sebesar 15% dan sebagai kosolven sebesar 5-80%. Pada suhu ruangan dan suhu dingin dapat stabil, tetapi jika dipanaskan pada suhu tinggi teroksidasi menjadi *propionaldehid*, asam laktat, asam piruvat, dan asam asetat. Larut stabil etanol 95%, gliserin atau air. Propilen glikol juga bisa digunakan sebagai pelarut, ekstraktan, pengawet, disinfektan, dana gen antimikroba (Amira, 2019).

#### **2) Gliserin**

Kandungan pada gliserin tidak kurang dari 95% dan tidak lebih dari 101% *glycerol*. Berbentuk cairan jernih seperti sirup, tidak berwarna, rasa manis, berbau tajam atau tidak enak, higroskopik dan netral terhadap laksam. Gliserin dapat bercampur dengan air dan dengan etanol, tidak larut dalam kloroform, dalam eter, dalam minyak, minyak lemak dan dalam minyak menguap (Amira, 2019).

#### **3) Butylene Glycol**

Berbentuk larutan jernih, tidak berwarna, kental, dengan rasa manis kemudian pahit yaitu *butylene glycol*. Memiliki kelaruan

yang baik dalam air, aseton, eter, dan etanol (95%), tidak larut dalam minyak mieral, etanolamin, dan hidrokarbon alifatik dan dapat digunakan sebagai antimikroba, pelarut, humektan, dan *co-solvent* yang dapat larut dalam air (Affifah, 2019).

### c. Pengawet

Tingginya kandungan air pada serum dapat mengalami kontaminasi mikrobial, secara efektif dihindari dengan penambahan bahan pengawet. Pengawet yang digunakan tidak toksik dan tidak memberikan reaksi alergi. Beberapa pengawet yang secara luas digunakan pada krim, gel, dan salep yaitu metil paraben, propil paraben dan natrium benzoat (Indriyati dkk, 2017).

#### 1) Metil Paraben

Bahan pengawet antimikroba yang sering digunakan yaitu metil paraben pada bidang formulasi farmasetika, produk kosmetik dan makanan. Konsentrasi metil paraben pada sediaan topikal yaitu 0,02-0,3%. Pemerian berbentuk bubuk kristal putih, tidak berbau, dan agak membakar diikuti rasa tebal, efektif pada pH yang luas, memiliki aktivitas antimikroba yang kuat. Aktivitas antimikroba metil paraben berspektrum luas. Kelarutan metil paraben terhadap pelarut etanol yakni 1:2 sedangkan terhadap air yakni 1:400 (Indriyati dkk, 2017).

#### 2) Propil Paraben

Berbentuk serbuk kristalin putih, tidak berasa dan tidak berbau yaitu propil paraben. Konsentrasi digunakan pada sediaan topikal yaitu 0,01 - 0,6%. Efektif dalam pengawet rentang pH 4-8, peningkatan pH dapat menyebabkan penurunan aktivitas antimikroba. Propil paraben dalam air di pH kisaran 3-6, disimpan dalam suhu kamar, tetap stabil dalam waktu penyimpanan selama 4 tahun sedangkan propil paraben akan lebih cepat terhidrolisis pada pH yang lebih dari 8 (Indriyati dkk, 2017).

### 3) Natrium Benzoat

Berbentuk serbuk berwarna putih, tidak berbau dan stabil di udara yaitu natrium benzoat. Mudah larut dalam air dan agak sukar larut dalam etanol dan aktif sebagai pengawet sebesar 84,7% pada range pH 4,8. Natrium Benzoate garam dari asam benzoat dan digunakan sebagai pengawet dalam kosmetik dan produk perawatan pribadi sebagai bahan wangi, masking bahan, agen anti-korosif, dan paling sering, sebagai pengawet (Mardhani, 2017).

### d. Alkalizing agent

Menetralkan pada suasana asam agar sediaan mencapai pH yang sesuai dengan karakteristik pH kulit yaitu 4,5 – 6,5 atau sebagai penetrasi pH dalam suatu formulasi yaitu alkalizing agent (Sayuti, 2015).

#### 1) *Ethoxydiglycol*

pelarut sintetis yang aman dan dapat ditoleransi dengan baik yang dan membantu meningkatkan fungsi, penetrasi pH, dan tekstur produk perawatan kulit. *Ethoxydiglycol* dapat ditemukan di banyak produk perawatan pribadi lainnya mulai dari serum perawatan kulit hingga pewarna rambut. Ketika digunakan dalam produk perawatan kulit, diketahui membantu bahan utama menyerap lebih efektif (Mardhani, 2017).

#### 2) TEA (*Triethanolamine*)

Berbentuk cairan kental jernih atau berwarna kuning serta sedikit memiliki bau amonia yaitu TEA. Memiliki pH 10,5 dalam 0,1 N, sangat higroskopis, berwarna coklat jika terpapar udara dan cahaya. Pada umumnya sebagai alkalizing agent dan dapat sebagai emulsifying agent. Dapat bereaksi dengan asam mineral membentuk garam kristal dan ester. TEA berfungsi sebagai penyeimbang derajat keasaman atau kadar pH (Kartika dkk, 2019).

Kelarutannya mudah larut dalam air, ethanol 95% P, dan dalam kloroform. Konsentrasi penggunaan *triethanolamine* dengan

konsentrasi 0,4%-0,5% untuk menghasilkan sediaan yang baik. Menggunakan *triethanolamine* dengan konsentrasi 0,56% untuk menghasilkan gel yang baik (Rahman dkk, 2013).

#### e. Aquades

Pelarut yang jauh lebih baik dibandingkan pelarut lain yaitu aquades. Senyawa yang larut yaitu berbagai senyawa organik netral yang mempunyai gugus fungsional polar seperti gula, alkohol, aldehida, dan keton. Kecenderungan molekul aquades untuk membentuk ikatan hidrogen dengan gugus hidroksil gula dan alkohol atau gugus karbonil aldehida dan keton. Air hasil penyulingan yang bebas dari zat-zat pengotor sehingga bersifat murni yaitu aquades. Berwarna bening, tidak berbau, dan tidak memiliki rasa, memiliki pH 5-7. Pada umumnya untuk membersihkan alat-alat laboratorium dari zat pengotor, fungsi lain sebagai pelarut (Marsihana, 2020).

### 11. Uji Mutu Fisik Sediaan Serum

Tujuan uji mutu fisik serum mengetahui sifat fisik sediaan serum pada waktu penyimpanan tertentu. Mengamati perubahan fisik serum meliputi uji organoleptik, uji homogenitas, uji pH, uji daya sebar, uji daya lekat dan uji viskositas (Hasrawati dkk, 2020).

#### a. Uji Organoleptik

Dalam uji organoleptik serum dari segi warna, aroma, dan bentuk sediaan dengan mengamati penampilan visual pada sediaan serum. Stabilitas yang baik tidak menunjukkan adanya perubahan warna, bentuk sediaan dan bau (Hasrawati dkk, 2020).

#### b. Uji Homogenitas

Tujuan dari uji homogenitas adalah melihat sediaan serum homegen atau tidak. Sangat penting dalam melakukan uji homogenitas tersebut karena berkaitan dengan keseragaman kandungan jumlah zat aktif dalam setiap penggunaan (BPOM, 2014). Cara melakukan uji tersebut yaitu sampel serum dioleskan pada sekeping kaca atau bahan

transparan lain , jika sediaan tidak terdapat atau terlihat adanya butiran kasar makan sediaan tersebut homogen (Hasrawati dkk, 2020).

**c. Uji pH**

Kertas pH universal digunakan untuk mengukur pH sampel. Cara melakukan uji pH yaitu kertas pH dicelupkan pada serum dengan sempurna, kemudian amati perubahan warnanya pada standar pH universal (Emma, 2014). 4,5-6,5 merupakan nilai pH pada kulit wajah. Jika pH terlalu asam mengakibatkan iritasi kulit, jika terlalu basa mengakibatkan kulit menjadi kering (Andini dkk, 2017).

**d. Uji Daya Lekat**

Untuk mengetahui serum dapat melekat pada permukaan kulit dengan melakukan uji daya lekat. Sangat penting dalam mengetahui kemampuan lekat suatu sediaan. Salah satu karakteristik yang bertanggung jawab pada keefektifan sediaan dalam memberikan efek farmakologis yaitu daya lekat. Semakin lama daya lekat maka menghasilkan efek farmakologis yang besar. Daya lekat yang baik untuk sediaan topikal lebih dari 1 detik (Andini dkk, 2017).

**e. Uji Daya Sebar**

Serum yang baik mempunyai kemampuan daya sebar yang baik. Formula memberikan efek terapi tergantung juga dari nilai sebar. Tujuan uji daya sebar yaitu mengetahui kualitas dari sediaan dapat menyebar dengan cepat pada kulit karena daya sebar yang baik dapat melepaskan bahan obat yang baik. Syarat daya sebar antara 5 -7 cm (Nurahmanto dkk, 2017).

**f. Uji Viskositas**

Ketahanan suatu cairan dalam mengalir disebut dengan viskositas. Viskositas yang tinggi dapat memberikan tahanan yang semakin besar, sehingga dalam membuat sediaan tersebut mengalir membutuhkan gaya semakin besar dan sebaliknya (Ferdy dkk, 2022). Waktu retensi meningkat dikarenakan terjadi peningkatan viskositas, tetapi dapat

membuat penurunan daya sebar, antara viskositas dan daya sebar memiliki sifat berkebalikan. Viskositas yang berubah selama waktu penyimpanan bisa dijadikan parameter pada stabilitas fisik sediaan. Persyaratan viskositas serum yaitu 200-500 dPas (Ferdy dkk, 2022).

## **12. Metode Uji Antibakteri**

Pada kondisi yang sesuai memiliki efek daya hambatnya pada bakteri adalah potensi aktivitas antibakteri. Terdapat 2 metode uji aktivitas antibakteri yang sering digunakan yaitu metode dilusi dan difusi. Terdapat kategori dalam daya hambat pada bakteri yaitu diameter zona hambat lebih dari 20 mm sangat kuat dalam menghambat bakteri, diameter zona hambat 10-20 mm memiliki daya hambatnya sedang, diameter zona hambat 5 mm memiliki daya hambatnya lemah (Narulita, 2017).

### **a. Metode Difusi**

Suatu metode yang digunakan dalam menentukan tingkat sensitivitas bakteri uji pada zat antibakteri yaitu metode difusi. Kepekaan bakteri terhadap pemberian antibiotik atau zat antibakteri terhadap bakteri patogen disebut sensitivitas bakteri (Hidayah, 2016). Terdapat 3 metode difusi yaitu kertas cakram, parit dan sumuran.

#### **1) Metode Kertas Cakram**

Menentukan kepekaan suatu bakteri terhadap berbagai macam zat antibakteri atau obat menggunakan cakram kertas saring (paper disc) berfungsi sebagai tempat penampung zat antimikroba yaitu metode kertas cakram. Pengujian ini dilakukan dengan cara kertas cakram diletakkan pada lempeng agar yang telah diinokulasi mikroba uji, diinkubasi kurang lebih selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Daerah bening yang terbentuk pada sekeliling kertas cakram berarti menunjukkan zona hambat pada pertumbuhan bakteri. Metode ini memiliki kelebihan mudah dilakukan, tidak memerlukan peralatan khusus dan relatif murah (Hidayah, 2016).

## 2) Metode Parit

Membuat lempeng agar diinokulasikan pada bakteri uji serta membuat sebidang parit diisi oleh zat antimikroba dan diinkubasi dengan waktu dan suhu optimum sesuai pada mikroba uji yaitu cara uji antibakteri dengan difusi parit. Zona hambat yang akan terbentuk disekitar parit merupakan hasil dari metode uji aktivitas antibakteri dengan difusi parit (Hidayah, 2016).

## 3) Metode Sumuran

Lempeng agar telah diinokulasikan pada bakteri uji dibikin suatu lubang dan diisi zat antimikroba uji. Pada setiap lubang diisi dengan zat uji dan diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai dengan mikroba uji, hasil pengamatan dapat diamati ada atau tidaknya zona hambatan di sekeliling lubang disebut dengan metode uji sumuran (Hidayah, 2016).

## b. Metode Dilusi

Suatu cara untuk menentukan konsentrasi minimum pada suatu zat antibakteri kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri adalah metode dilusi. Cara kerja metode ini yaitu mencampurkan zat di media pembentahan dan diinokulasikan dengan bakteri lalu diinkubasi. Hasil pengujian yaitu mengamati ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri pada media. Terdapat 2 metode dilusi yaitu metode dilusi pada dan cair (Arianti J, 2017).

### 1) Metode Dilusi Cair

Pengujian metode ini dilakukan memakai tabung reaksi yang diisi dengan inokulum kuman/bakteri dan larutan zat antibakteri. Dilakukan pengenceran zat sesuai serial dalam media cair untuk pengujian aktivitas antibakteri kemudian diinokulasikan dengan bakteri dan diinkubasi pada waktu dan suhu sesuai dengan mikroba uji (Arianti J, 2017).

## 2) Metode Dilusi Padat

Zat antibakteri yang diencerkan dalam media agar. Kemudian dituangkan dalam cawan petri sampai media agar membeku dan diinokulasikan bakteri serta diinkubasi. Larutan zat antibakteri dengan konsentrasi terendah yang masih memberikan hambatan pada pertumbuhan bakteri ditetapkan sebagai konsentrasi hambat minimum (Arianti J, 2017).

## B. Kerangka Teori

**Gambar 2.3 Skema Kerangka Teori**

