

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Hasil Penelitian Terdahulu

Telah dilakukan beberapa penelitian yang terkait dengan penelitian ini. Penelitian tersebut adalah :

1. Yunikasari, Joko, dan Murdiah (2006) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun alpukat dengan konsentrasi 10% memiliki diameter zona hambat sebesar 6,00 mm terhadap *Staphylococcus epidermis*.
2. Ismiyati dan Trilestari (2004) menunjukkan bahwa ekstrak air daun alpukat dengan konsentrasi 35% memiliki diameter zona hambat sebesar 9,00 mm terhadap *Staphylococcus aureus*.
3. Andriani, Oesman, dan Nursanty (2016) menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat daun alpukat dengan konsentrasi 35% terhadap *Staphylococcus aureus* memiliki diameter zona hambat sebesar 12,45 mm.
4. Soemarie, Astuti, dan Rochmah (2016) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun alpukat dapat diformulasikan menjadi salep antiacne.

B. Landasan Teori

1. Alpukat (*Persea americana* Mill.)



Gambar 2.1 Daun alpukat (Dokumen Pribadi)

a. Klasifikasi

Divisi : Spermatophyta
Sub divisi : Angiospermae
Kelas : Dicoyledoneae
Bangsa : Ranales
Suku : Lauraceae
Marga : Persea
Jenis : *Persea americana*, Mill (Heyne,1987)

b. Nama daerah

Sumatera: avokat, advokat, apokat, adpokat, buah pokat, jamboo pokat. Jawa Timur/Jawa Tengah: alpokat. Jawa Barat: apuket, alpuket. Lampung: advokat, jamboo mentega, jamboo pooan, pookat.

c. Deskripsi

Tanaman alpukat berasal dari Amerika Tengah. Tumbuh di daerah tropik dan sub tropik dengan curah hujan antara 1.800 mm sampai 4.500 mm setiap tahunnya. Pada umumnya tumbuhan ini cocok dengan iklim yang sejuk dan basah dan tidak tahan terhadap suhu rendah maupun suhu tinggi, juga tidak tahan terhadap angin yang keras dan kelembaban yang rendah pada saat berbunga dan pada saat pembentukan buah. Di Indonesia tumbuh pada ketinggian tempat antara 1-1.000 meter di atas permukaan laut.

Tanaman alpukat merupakan pohon yang tingginya 3-10 meter, ranting teguh berambut halus. Daun berdesakan di ujung ranting, bundar telur atau bentuk jorong memanjang, mula-mula berambut pada kedua belah permukaannya, lama-lama menjadi licin, panjang 10-20 cm, lebar 3-10 cm, panjang tangkai 1,5-5 cm. Perbungaan berupa malai terletak dekat ujung ranting, berbunga banyak. Tenda bunga bergaris tengah 1-1,5 cm, warna putih kekuningan, berambut halus. Benang sari 12, dalam 4 karangan, yang paling dalam tidak berfungsi dan berwarna jingga sampai coklat. Buah berbentuk bola lampu sampai berbentuk bulat telur, panjang 5-20

cm, lebar 5-10cm, tanpa sisa bunga, warna hijau atau agak kehijauan, berbintik-bintik ungu atau ungu sama sekali, harum, berbiji satu berbentuk bola, garis tengah 2,5-5 cm (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1978).

Secara sederhana, identifikasi daun alpukat dapat dilakukan dengan cara melihat bentuk fisik dari daun tersebut. Daun alpukat memiliki ciri-ciri daun tunggal, bentuk jorong sampai bulat telur memanjang. Panjang helaian daun 10 cm sampai 20 cm, lebar 3 cm sampai 10 cm. Pangkal daun dan ujung daun meruncing, tepi daun rata, kadang-kadang sedikit menggulung ke atas, permukaan licin, warna hijau sampai hijau kecoklatan atau coklat keunguan. Tulang daun menyirip, panjang tangkai 1,5 cm sampai 5 cm. Bau aromatik lemah, rasa pahit dan kelat (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995).

d. Kandungan kimia

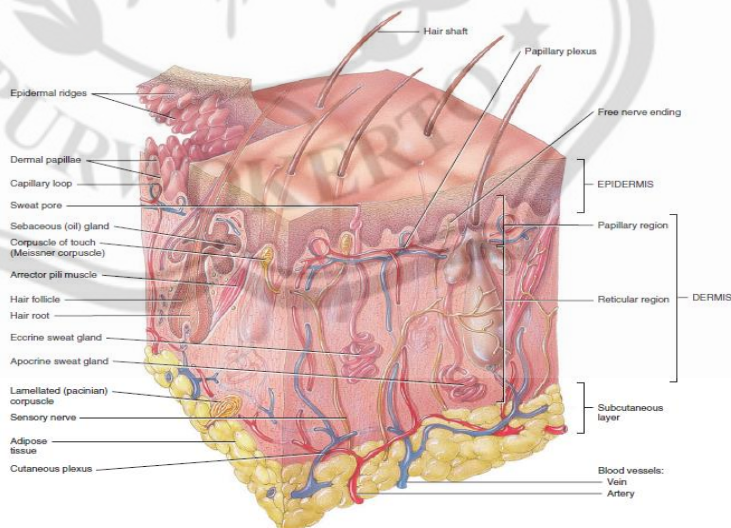
Kandungan senyawa kimia daun alpukat yang dilaporkan dari penelitian tentang uji aktivitas hipoglemik (kadar gula darah rendah) ekstrak daun alpukat (*Persea americana* Mill.) yaitu ditemukannya senyawa saponin, tanin, flavonoid, alkaloid, dan polisakarida melalui uji fitokimia (Antia, 2005). Penelitian lain tentang penggunaan tanaman alpukat sebagai tanaman obat bahwa ekstrak daun alpukat diketahui memiliki kandungan senyawa aktif seperti alkaloid, saponin, dan flavonoid yang mampu menghambat pertumbuhan beberapa bakteri. Daun alpukat juga mengandung saponin, alkaloid, flavonoid, polifenol, quersetin yang bersifat antiradang, antidiuretika, dan antibakteri (Sari, 2014).

Flavonoid memiliki aktivitas antibakteri melalui hambatan fungsi DNA bakteri. Pada proses ini terjadi hambatan proses replikasi dan translasi bakteri. Penghambatan proses tersebut dilakukan dengan merusak membran sitoplasma bakteri yang terdiri atas lipid dan asam amino dengan mengeluarkan gugus alkohol pada senyawa flavonoid. Proses ini akan menyebabkan

dinding sel rusak sehingga senyawa tersebut dapat masuk ke dalam inti sel bakteri (Yunikasari *et al*, 2016). Alkaloid bertindak sebagai senyawa antibakteri dengan cara merusak komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel (Yunikasari *et al*, 2016). Saponin memiliki aktivitas antibakteri dengan menurunkan tegangan permukaan sehingga naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler (protein dan enzim) akan keluar dari dalam sel (Yunikasari *et al*, 2016).

2. Kulit

Kulit menutupi dan melindungi permukaan tubuh, serta bersambung dengan selaput lendir yang melapisi rongga-rongga dan lubang-lubang masuk. Kulit yang di dalamnya terdapat ujung saraf peraba mempunyai banyak fungsi, antara lain membantu mengatur suhu dan mengendalikan hilangnya air dari tubuh dan mempunyai sedikit kemampuan ekskretori, sekretori, dan absorpsi. Kulit dibagi menjadi dua bagian yaitu epidermis atau kutikula dan dermis atau korium (Pearce, 2009).



Gambar 2.2 Struktur lapisan kulit (Tortora dan Derrickson, 2012)

a. Epidermis

Epidermis tersusun atas epitelium berlapis dan terdiri atas sejumlah lapisan sel yang disusun atas dua lapis yang jelas tampak yaitu selapis lapisan tanduk dan selapis zona germinalis (Pearce, 2009).

Lapisan tanduk terletak paling luar dan tersusun atas tiga lapisan yang membentuk epidermis. *Stratum corneum* memiliki ciri-ciri sel tipis, seperti sisik dan terus-menerus dilepaskan. *Stratum lucidum* memiliki ciri-ciri sel mempunyai batas tegas tetapi tidak terdapat inti. *Stratum granulosum* memiliki ciri-ciri berupa selapis sel yang jelas tampak berisi inti dan *granulosum* (Pearce, 2009).

Zona germinalis terletak di bawah lapisan tanduk dan terdiri atas dua lapisan epitel yang berbentuk tegas yaitu *stratum basale* dan *basement membrane* (Pearce, 2009).

Stratum basale merupakan sel yang terus-menerus memproduksi sel epidermis baru. Sel ini disusun dengan teratur, berderet dengan rapat membentuk lapisan pertama atau lapisan dua sel pertama dari sel basal yang duduk di atas papila dermis (Pearce, 2009).

Basement membrane merupakan sel dengan fibril halus yang menyambung sel yang satu dengan sel lainnya di dalam lapisan ini, sehingga setiap sel seakan-akan berduri (Pearce, 2009).

Epidermis tidak berisi pembuluh darah. Saluran kelenjar keringat menembus epidermis dan mendampingi rambut. Sel epidermis membatasi folikel rambut. Di atas permukaan epidermis terdapat garis lekukan yang berjalan sesuai dengan papil dermis di bawahnya. Garis-garis ini berbeda-beda, pada ujung jari berbentuk ukiran yang jelas, yang pada setiap orang berbeda. Hal ini digunakan sebagai landasan untuk studi sidik jari dalam kriminologi (Pearce, 2009).

b. Dermis

Dermis atau korium tersusun atas jaringan fibrus dan jaringan ikat yang elastis. Pada permukaan dermis tersusun papil-papil kecil yang berisi ranting-ranting pembuluh darah kapiler (Pearce, 2009).

Ujung akhir saraf sensoris, yaitu puting peraba, terletak di dalam dermis. Kelenjar keringat yang berbentuk tabung berbelit-belit dan banyak jumlahnya, terletak di sebelah dalam dermis, dan salurannya yang keluar melalui dermis dan epidermis bermuara di atas permukaan kulit di dalam lekukan halus yang disebut pori (Pearce, 2009).

Kelenjar sebaceous adalah kelenjar kantong di dalam kulit. Bentuknya seperti botol yang bermuara di dalam folikel rambut. Kelenjar ini paling banyak terdapat di kepala dan wajah, yaitu sekitar hidung, mulut, dan telinga, dan sama sekali tak terdapat dalam kulit telapak tangan dan telapak kaki. Kelenjar dan salurannya dilapisi sel epitel. Perubahan di dalam sel ini berakibat sekresi berlemak yang disebut *sebum* (Pearce, 2009).

c. Subkutis

Jaringan subkutan mengandung sel-sel adiposa dan banyak terdapat di antara jaringanikat. Lemak subkutan berperan dalam mengatur temperatur. Lemak ini berkembang dengan baik pada wanita dibandingkan pada pria (Mitsui, 1997).

d. Fisiologis kulit

Kulit merupakan suatu organ yang memiliki beberapa fungsi fisiologis penting antara lain :

1) Fungsi proteksi

Serabut elastis dari lapisan dermis dan jaringan lemak subkutan berfungsi untuk mencegah trauma mekanik langsung ke dalam tubuh. Lapisan tanduk dan mantel lemak kulit berfungsi sebagai penghalang penetrasi air dan kehilangan cairan tubuh serta melawan racun dari luar. Permukaan kulit yang tidak rata berperan dalam difraksi sinar untuk melindungi tubuh dari sinar yang berbahaya (Tranggono dan Latifah, 2007).

2) Fungsi termoregulasi

Kulit menyesuaikan temperatur tubuh dengan mengubah aliran darah ke kulit melalui mekanisme dilatasi dan konstiksi

pembuluh kapiler kulit dan penguapan keringat yang keduanya dipengaruhi oleh saraf otonom. Lapisan tanduk dan jaringan subkutan mencegah perubahan temperatur tubuh dengan menghalangi hantaran temperatur eksternal ke dalam tubuh (Tranggono dan Latifah, 2007).

3) Fungsi persepsi sensoris

Kulit bertanggung jawab sebagai indra terhadap rangsangan. Ada bermacam-macam reseptor pada kulit, yaitu reseptor yang sensitif terhadap tekanan, rabaan, temperatur, dan nyeri. Rangsangan dari luar akan diterima oleh reseptor-reseptor tersebut dan diteruskan ke sistem saraf pusat, selanjutnya diinterpretasikan oleh korteks serebri (Tranggono dan Latifah, 2007).

4) Fungsi absorpsi

Beberapa senyawa dapat diasorpsi ke dalam tubuh melalui dua jalur absorpsi, yaitu melalui jalur epidermis dan melalui kelenjar sebacea folikel rambut. Steroid dan bahan yang larut dalam lemak (vitamin A, D, E, dan K) dapat diserap melalui kulit, namun bahan yang larut dalam air tidak mudah diserap akibat dari fungsi penghalang lapisan tanduk (Tranggono dan Latifah, 2007).

5) Fungsi lain

Kulit dapat menggambarkan kondisi emosional, seperti memerah, ketakutan (pucat dan rambut berdiri), dan sebagai organ penerima emosi (Tranggono dan Latifah, 2007).

3. Jerawat (*Acne vulgaris*)

Acne vulgaris atau biasa disebut dengan jerawat, merupakan suatu kondisi inflamasi kronik pada kulit yang disebabkan peningkatan produksi sebum yang diinduksi oleh hormon androgen, perubahan proses keratinisasi, inflamasi, dan kolonisasi bakteri pada folikel rambut di area seperti wajah, leher, dada, dan punggung akibat adanya aktivitas dari bakteri *Propionibacterium acnes* (Webster, 2002). Jerawat ditandai

dengan adanya ruam, komedo, papul, pustul, nodul, dan pada beberapa kasus terdapat jaringan parut (Adityan, 2009).

a. Klasifikasi jerawat

Menurut James dan Tisserand pada tahun 1958 dalam reviewnya mengenai pengobatan jerawat, jerawat diklasifikasikan dalam 4 kelas dengan ciri-ciri sebagai berikut yaitu :

- 1) Kelas 1 : terdapat komedo dan sedikit papul, tanpa ada inflamasi.
- 2) Kelas 2 : terdapat banyak komedo, papul, dan sedikit pustul.
- 3) Kelas 3 : terdapat inflamasi yang parah pada papul, terdapat pustul, dan sedikit benjolan, terdapat pada wajah dan leher.
- 4) Kelas 4 : semua gejala menjadi lebih parah dengan benjolan semakin merata atau menyebar (Adityan, 2009).

Pada tahun 1998, *American Academy of Dermatology* juga mengembangkan skema klasifikasi *Acne vulgaris* primer. Klasifikasi tersebut menggolongkan *acne* kedalam tiga tingkatan berdasarkan derajat keparahannya, yaitu :

- 1.) *Mild acne* (jerawat ringan) : dicirikan oleh adanya sedikit sampai beberapa papul dan pustul, namun tidak terdapat nodul.
- 2.) *Moderate acne* (jerawat sedang) : dicirikan oleh adanya beberapa sampai banyak papul dan pustul, disertai adanya sedikit sampai beberapa nodul.
- 3.) *Severe acne* (jerawat berat) : dicirikan dengan banyaknya papul dan pustul bersamaan dengan banyaknya jumlah nodul.

Acne juga diklasifikasikan berdasarkan jenis lesi atau pembengkakannya yaitu : *comedonal, papulopustular, nodulocystic*. Pustul dan kista merupakan bentuk peradangan *acne* (Williams, 2011).

b. Patogenesis jerawat

Patogenesis jerawat meliputi empat faktor, yaitu hiperproliferasi epidermis folikular sehingga terjadi sumbatan folikel, produksi sebum berlebihan, inflamasi, dan aktivitas *Propionibacterium acnes* (Movita, 2013).

Androgen berperan penting pada patogenesis acne tersebut. Acne mulai terjadi saat adrenarke, yaitu saat kelenjar adrenal aktif menghasilkan dehidroepiandrosteron sulfat, prekursor testosteron. Penderita acne memiliki kadar androgen serum dan kadar sebum lebih tinggi dibandingkan dengan orang normal, meskipun kadar androgen serum penderita acne masih dalam batas normal. Androgen akan meningkatkan ukuran kelenjar sebacea dan merangsang produksi sebum, selain itu juga merangsang proliferasi keratinosit pada ductus seboglandularis dan akroinfundibulum. Hiperproliferasi epidermis folikular juga diduga akibat penurunan asam linoleat kulit dan peningkatan aktivitas interleukin 1 alfa. Epitel folikel rambut bagian atas, yaitu infundibulum, menjadi hiperkeratotik dan koheisi keratinosit bertambah, sehingga terjadi sumbatan pada muara folikel rambut. Selanjutnya di dalam folikel rambut tersebut terjadi akumulasi keratin, sebum, dan bakteri, dan menyebabkan dilatasi folikel rambut bagian atas, membentuk mikrokomedo. Mikrokomedo yang berisi keratin, sebum, dan bakteri, akan membesar dan ruptur. Selanjutnya, isi mikrokomedo yang keluar akan menimbulkan respons inflamasi. Akan tetapi, terdapat bukti bahwa inflamasi dermis telah terjadi mendahului pembentukan komedo (Movita, 2013).

Faktor lain yang dapat menyebabkan jerawat adalah *Propionibacterium acnes*, bakteri gram positif dan anaerob yang merupakan flora normal kelenjar pilosebacea. Remaja dengan *acne* memiliki konsentrasi *Propionibacterium acnes* lebih tinggi dibandingkan remaja tanpa *acne*, tetapi tidak terdapat korelasi antara jumlah *Propionibacterium acnes* dengan berat *acne*. Peranan *Propionibacterium acnes* pada patogenesis *acne* adalah memecah trigliserida (salah satu komponen sebum) menjadi asam lemak bebas sehingga terjadi kolonisasi *Propionibacterium acnes* yang memicu inflamasi. Selain itu, antibodi terhadap antigen dinding sel *Propionibacterium acnes* meningkatkan respon inflamasi melalui aktivasi komplemen (Movita, 2013).

4. *Propionibacterium acnes*

Propionibacterium acnes secara alamiah dapat ditemukan pada bagian polisebasea. *Propionibacterium acnes* bersama dengan kelenjar sebacea memiliki peran yang penting dalam terjadinya jerawat (Beylot, 2013).

Propionibacterium acnes yaitu mikroorganisme dengan bentuk tidak berspora, bersifat gram positif, anaerobik, dan berbentuk batang pleomorfik dengan hasil akhir fermentasi meliputi asam propionat. *Propionibacterium acnes* merupakan flora normal yang berada di rongga mulut, usus besar, konjungtiva, saluran telinga luar, dan kulit dimana pada kulit jumlahnya paling mendominasi diantara konstituen lain dari flora normal di folikel polisebasea. Meskipun *Propionibacterium acnes* merupakan mikroorganisme anaerob, namun ia dapat mentolerasi saturasi oksigen hingga saturasinya mencapai 100% dengan laju pertumbuhan yang menurun (Perry, 2006).

Secara *in vitro*, *Propionibacterium acnes* dapat bertahan selama 8 bulan dalam kondisi anaerobik tanpa subkultur. Hal tersebut menunjukkan bahwa ia dapat bertahan pada jaringan-jaringan tubuh manusia dalam keadaan oksidasi yang rendah. *Propionibacterium acnes* tumbuh lambat dan dapat melawan fagositosis dan dapat bertahan di dalam makrofagnya. Resistensi terhadap fagositosis disebabkan struktur dinding sel organisme yang kompleks memiliki lapisan fibrilar pada permukaannya (Perry, 2006).

5. Masker gel *peel off*

Masker *peel off* biasanya tersedia dalam bentuk gel atau pasta yang dioleskan ke kulit wajah. Setelah alkohol yang terkandung dalam masker menguap, akan terbentuk lapisan film yang tipis dan transparan pada kulit muka. Selama 15-30 menit masker tersebut kontak dengan kulit, lapisan tersebut dapat diangkat dari permukaan kulit dengan cara dikelupas. Manfaat masker *peel off* yaitu dapat merilekskan otot-otot wajah, membersihkan, menyegarkan, melembabkan, melembutkan, dan mengencangkan kulit. Masker dengan bentuk gel mempunyai beberapa

keuntungan diantaranya penggunaan yang mudah, mudah dibilas, dan mudah dibersihkan. Masker gel juga mudah diangkat atau dilepaskan seperti membran elastik (Izzati, 2014).

6. Gel

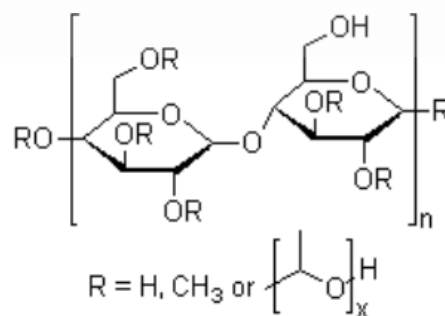
Pada dasarnya, teknologi pembuatan masker gel *peel off* adalah pembuatan gel. Gel atau jeli merupakan sistem semipadat terdiri dari suspensi yang dibuat dari partikel anorganik yang kecil atau molekul organik yang besar, terpenetrasi oleh suatu cairan.

Jika massa gel terdiri dari jaringan partikel yang terpisah, gel digolongkan sebagai sistem dua fase. Dalam sistem dua fase, jika ukuran partikel dari fase terdispersi relatif besar, maka gel kadang-kadang dinyatakan sebagai magma. Baik gel maupun magma dapat berupa tiksotropik membentuk semipadat jika dibiarkan dan menjadi cair pada pengocokan. Sediaan harus dikocok dahulu sebelum digunakan untuk menjamin homogenitas.

Gel fase tunggal sendiri dari makromolekul organik yang tersebar serba sama dalam suatu cairan sedemikian hingga tidak terlihat adanya ikatan antara molekul makro yang terdispersi dan cairan. Gel fase tunggal dapat dibuat dari makromolekul sintetis seperti karbomer atau dari gom alam seperti tragakan. Sediaan tragakan disebut juga sebagai musilago. Walaupun gel-gel ini umumnya mengandung air, etanol dan minyak dapat digunakan sebagai fase pembawa (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995).

7. Kandungan Masker Gel *Peel Off*

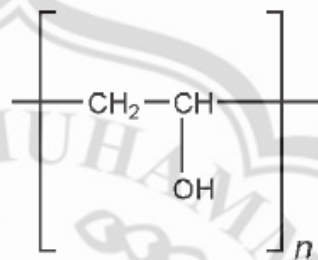
a. Hidroksi Propil Metil Selulosa



Gambar 2.3 Struktur kimia hidroksi propil metil selulosa (Rowe, 2009)

HPMC merupakan turunan dari metil selulosa yang ciri-cirinya berupa serbuk atau butiran putih, tidak memiliki bau dan rasa. Sangat sukar larut dalam eter, etanol, atau aseton. Dapat mudah larut dalam air panas dan akan segera menggumpal membentuk koloid. Mampu menjaga penguapan air sehingga banyak digunakan dalam aplikasi produk kosmetik (Rowe, 2009).

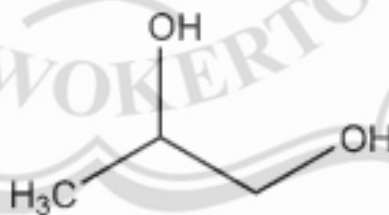
b. Polivinil Alkohol



Gambar 2.4 Struktur kimia polivinil alkohol (Rowe, 2009)

PVA merupakan polimer sintesis yang larut dalam air berupa granul berwarna putih hingga coklat muda tidak berbau. PVA larut dalam air, sedikit larut dalam etanol 95% dan tidak larut dalam pelarut organik. PVA bersifat noniritan pada kulit dan mata pada konsentrasi sampai dengan 10%. PVA digunakan untuk membuat gel yang sangat mudah kering (Rowe, 2009).

c. Propilen Glikol

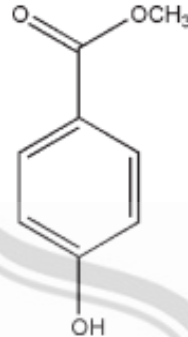


Gambar 2.5 Struktur kimia propilen glikol (Rowe, 2009)

Propilen glikol atau nama lainnya propena-1,2-diol dengan rumus molekul $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_2$. Propilen glikol memiliki pemerian cairan kental, jernih, tidak berwarna, tidak berbau, rasa agak manis, higroskopis. Propilen glikol dapat larut dengan air, dengan etanol 95% P dan dengan kloroform P, larut dalam 6 bagian eter P, tidak dapat campur dengan

eter minyak tanah P dan dengan minyak lemak. Propilen glikol berfungsi sebagai humektan (Departemen Kesehatan RI, 1979).

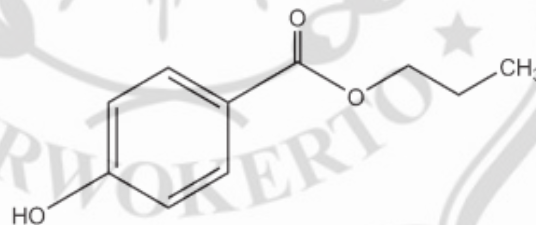
d. Metil Paraben



Gambar 2.6 Struktur kimia metil paraben (Rowe, 2009)

Metilparaben digunakan sebagai pengawet antimikroba di dalam kosmetik, produk makanan, dan obat-obatan. Paraben memiliki rentang pH yang luas dan memiliki spektrum yang luas terhadap aktivitas antimikroba. Berdasarkan kelarutan paraben yang buruk, bentuk garam dari paraben lebih banyak digunakan. Metilparaben (0,18%) bersama dengan propilparaben (0,02%) digunakan sebagai zat pengawet untuk sediaan farmasi (Rowe, 2009).

e. Propil Paraben



Gambar 2.7 Struktur kimia propil paraben (Rowe, 2009)

Propilparaben digunakan sebagai zat pengawet untuk mencegah adanya pertumbuhan mikroba. Paraben memiliki rentang pH yang luas dan spektrum yang luas terhadap aktivitas antibakteri. Namun propilparaben lebih efektif untuk menghambat pertumbuhan ragi dan jamur dibanding bakteri (Rowe, 2009).

8. Uji Aktivitas Antibakteri

Tumbuhan dan bahan-bahan alam lainnya kini menjadi tren untuk digunakan sebagai pengobatan karena adanya bermacam-macam kandungan kimia di dalamnya yang bermanfaat untuk pengobatan. Baru-baru ini para peneliti berfokus pada penelitian mengenai tumbuhan dan ekstrak mikrobiologi, minyak atsiri, metabolit sekunder, dan sintesis molekul yang berpotensi sebagai agen antimikroba (Balouiri, 2016).

Terdapat berbagai macam metode dalam praktik laboratorium yang dapat digunakan untuk mengevaluasi atau menskrining aktivitas antimikroba secara *in vitro* dari suatu ekstrak atau suatu zat murni. Metode yang paling banyak digunakan yaitu metode difusi dengan kepingan (*disk-diffusion method*) dan metode dilusi agar (*agar dilution method*) (Balouiri, 2016).

a. Metode Difusi

1) Metode difusi agar kertas cakram

Metode ini merupakan metode resmi yang digunakan pada laboratorium mikrobiologi klinik untuk pengujian terhadap kerentanan antimikroba. Melalui metode ini, terdapat standar yang telah dibuat untuk memastikan beberapa bakteri patogen seperti *streptococcus*, *Haemophilus influenza*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*, dan *Neisseria meningitidis* menggunakan media kultur yang spesifik, dalam berbagai macam kondisi inkubasi dan kriteria interpretif untuk zona penghambatan (Balouiri, 2016).

Untuk prosedur yang telah diketahui, media agar diinokulasi dengan inokulum mikroorganisme yang telah distandarkan. Kemudian, pilih kertas cakram atau *paper disc* (dengan ukuran diameter sekitar 6 mm), yang telah terdapat zat yang akan diteliti dengan konsentrasi yang diinginkan, lalu letakkan pada permukaan media agar. Secara keseluruhan, agen antimikroba akan berdifusi kepada agar dan akan menghambat pertumbuhan mikroorganisme kemudian diameter zona hambatan

dapat terukur. Meskipun pertumbuhan bakteri dihambat, tidak berarti bakteri akan mati, metode ini tidak dapat membedakan efek bakteriosidal dan bakteristatik (Balouiri, 2016).

Metode ini tidak sesuai untuk menentukan konsentrasi hambat minimum karena tidak dapat mengukur jumlah zat antimikroba yang menyebar ke media agar. Namun, perkiraan konsentrasi hambat minimum dapat dihitung untuk beberapa organisme dan antibiotiknya dengan membandingkan zona hambat dengan algoritma yang telah diketahui (Balouiri, 2016).

Namun metode ini menawarkan beberapa kelebihan yaitu sederhana, biaya rendah, kemampuan untuk menguji sebagian besar mikroorganisme dengan agen antimikrobanya, dan kemudahan untuk menafsirkan hasil yang diberikan (Balouiri, 2016).

2) Metode gradien antimikroba

Prinsip dari metode ini yaitu kombinasi antara metode difusi dan metode gradien untuk menentukan konsentrasi hambat minimum. Hal tersebut berdasarkan atas kemungkinan dalam membuat gradien konsentrasi dari agen antimikroba yang akan diuji dalam medium agar. Sebagai contohnya *Etest*, yang merupakan versi komersial dari metode ini. Pada prosedurnya, terdapat strip yang di dalamnya terdapat agen antimikroba dengan gradien konsentrasi tertentu yang semakin meningkat konsentrasinya, kemudian diletakkan pada permukaan agar yang sebelumnya telah diinokulasikan mikroorganisme yang akan diuji (Balouiri, 2016).

Metode ini digunakan untuk menentukan konsentrasi hambat minimum dari antibiotik, antifungi, dan antimikobakterial. Nilai konsentrasi hambat minimum terbagi atas beberapa bagian pada strip tersebut (Balouiri, 2016).

b. Metode dilusi

Metode dilusi merupakan metode yang tepat untuk menentukan konsentrasi hambat minimum, karena memungkinkan untuk mengestimasi konsentrasi yang akan digunakan untuk pengujian agen antimikroba pada medium agar atau medium broth. Kedua media tersebut dapat digunakan untuk pengukuran secara kuantitatif dari pengujian aktivitas penghambatan bakteri dan jamur. Nilai konsentrasi hambat minimum merupakan konsentrasi terendah dari agen antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang diujikan, biasanya dinyatakan dalam satuan $\mu\text{g/ml}$ atau mg/L (Balouiri, 2016).

1) Metode dilusi broth

Metode dilusi broth dilakukan dengan prosedur sebagai berikut yaitu menyiapkan agen antimikroba yang telah dilakukan pengenceran sebanyak dua kali dalam medium pertumbuhan berbentuk cair dalam suatu tabung yang berisikan minimum 2 ml (makrodilusi) atau menggunakan volume yang lebih kecil yaitu piringan mikrotitrasi (mikrodilusi). Kemudian, masing-masing tabung atau diinokulasi dengan inokulum bakteri yang dibuat dalam medium yang sama setelah pengenceran suspensi mikroba terstandarisasi disesuaikan dengan skala 0,5 McFarland. Setelah tercampur dengan baik, tabung atau sumur yang diinokulasi dilakukan inkubasi (kebanyakan tanpa agitasi) dalam kondisi yang sesuai tergantung pada uji mikroorganisme (Balouiri, 2016).

Konsentrasi hambat minimum dari agen antimikroba yang secara keseluruhan dapat menghambat pertumbuhan organisme di dalam tabung atau sumur dapat dilihat dengan mata telanjang. Namun kerugian dari metode ini yaitu melelahkan, memerlukan perlakuan manual, reiko kesalahan dalam penyiapan larutan antimikroba untuk setiap pengujian, jumlah reagen dan ruang yang dibutuhkan relatif besar (Balouiri, 2016).

2) Metode dilusi agar

Metode dilusi agar melibatkan penggabungan konsentrasi agen antimikroba yang diinginkan ke media agar (media agar cair), biasanya menggunakan pengenceran dua kali lipat, diikuti dengan inokulasi inokulum mikroba yang ditentukan, ke permukaan media agar. Titik akhir konsentrasi hambat minimum dicatat sebagai agen antimikroba terendah yang benar-benar dapat menghambat pertumbuhan mikroba selama proses inkubasi. Teknik ini cocok untuk pengujian kerentanan antibakteri dan antijamur (Balouiri, 2016).

9. Uji Stabilitas Fisik

Stabilitas merupakan kemampuan suatu produk obat atau kosmetik untuk bertahan dalam batas spesifikasi yang ditetapkan sepanjang periode penyimpanan dan penggunaan untuk menjamin identitas, kekuatan, kualitas, dan kemurnian suatu produk.

Sediaan yang stabil yaitu suatu sediaan yang masih berada dalam batas yang dapat diterima selama periode waktu penyimpanan dan penggunaan, dimana sifat dan karakteristiknya sama dengan saat pertama kali dibuat. Obat atau kosmetik tidak dapat diterima lagi apabila mengalami perubahan fisika, kimia, dan kandungan mikroorganisme.

Ketidakstabilan secara fisik dari sediaan ditandai dengan adanya perubahan warna, perubahan bau, pemisahan fase, pecahnya emulsi, pengendapan suspensi atau *caking*, pengkerutan gel, perubahan konsistensi, pertumbuhan kristal atau perubahan bentuk kristal, terbentuknya gas, dan perubahan fisik lainnya. Kestabilan fisik gel dapat dipengaruhi oleh faktor-faktor yang mempengaruhi kestabilan kimia dari *gelling agent*, antioksidan, bahan pengawet, dan zat aktif (Djajadisastra, 2004).

Evaluasi sediaan masker gel *peel off* meliputi :

a. Organoleptis / Penampilan Fisik

Pengamatan pada sediaan yang telah dibuat dengan menggunakan panca indera yang meliputi, tekstur gel, perubahan warna, perubahan bau, terjadi pemisahan atau tidak.

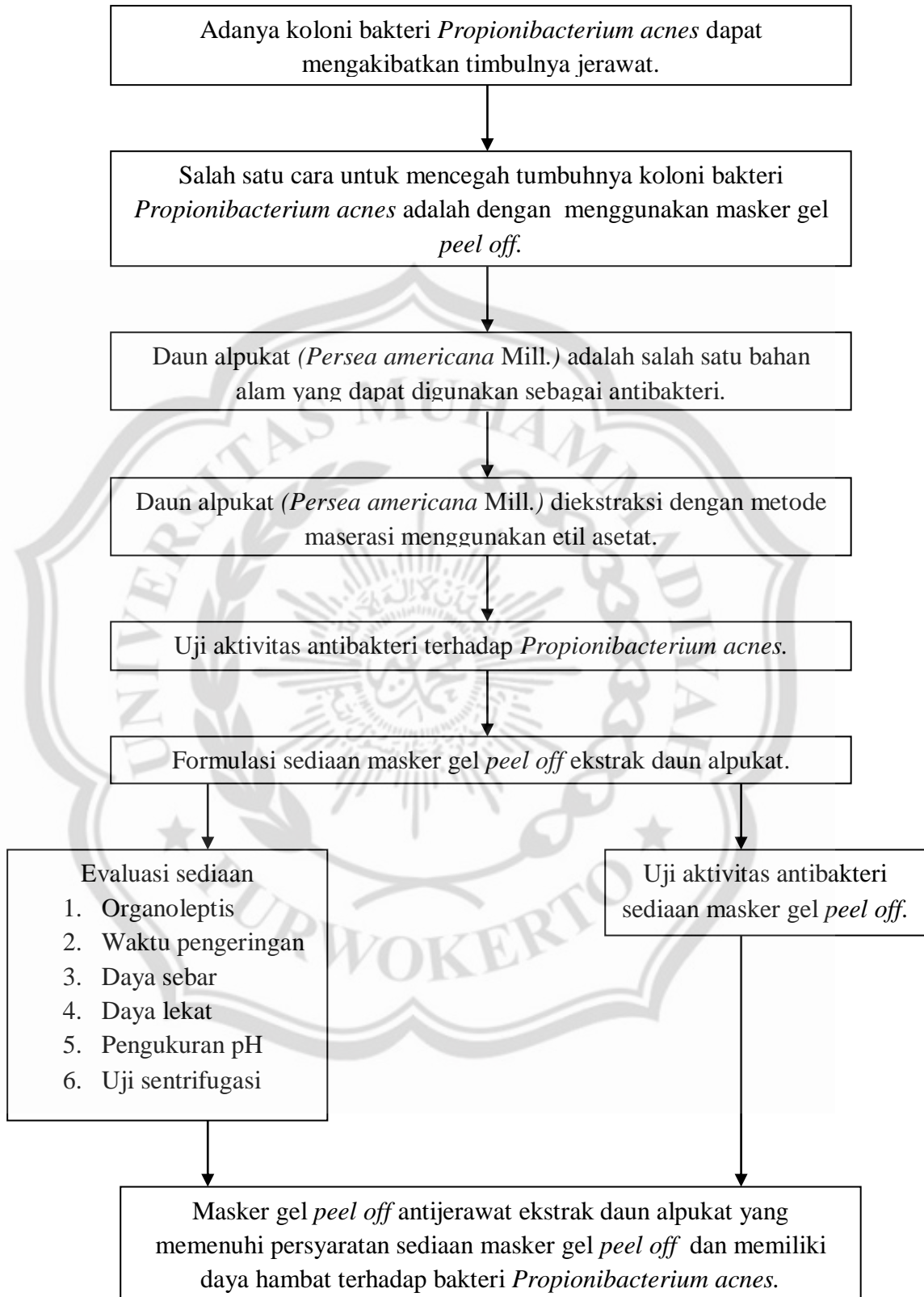
b. Viskositas

Pengukuran viskositas dilakukan untuk mengetahui tingkat kekentalan dari sediaan masker gel *peel off* yang telah dibuat. Pengukuran viskositas dilakukan menggunakan alat viskometer brokfield.

c. pH

Pengujian pH dilakukan untuk mengetahui pH pada sediaan yang telah dibuat. Pengukuran dilakukan menggunakan pH meter. Dilakukan dengan cara mengkalibrasi elektroda dengan dapar standar pH 3,5 dan pH 7. Kemudian elektroda dicelupkan pada sediaan masker gel *peel off*. Pengukuran dilakukan pada suhu ruang. pH yang baik yaitu sesuai dengan pH kulit wajah.

C. Kerangka Konsep



D. Hipotesis

1. Ekstrak daun alpukat (*Persea americana* Mill.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Propionibacterium acnes*.
2. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun alpukat (*Persea americana* Mill.) semakin luas pula daerah zona hambatnya.

