

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Infeksi merupakan masalah paling banyak dijumpai pada kehidupan sehari-hari. Kasus infeksi disebabkan bakteri atau mikroorganisme patogen yang masuk ke dalam jaringan tubuh dan berkembang biak di dalam jaringan (Waluyo, 2004). *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* merupakan bakteri yang paling sering menyebabkan infeksi pada kulit (Jawetz dkk., 2005).

Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan dalam pencegahan infeksi adalah ceremai. Daun ceremai mengandung flavonoid, tanin dan saponin. Zat-zat tersebut merupakan senyawa aktif yang diduga memiliki kontribusi terhadap aktivitas antibakteri (Robinson, 1991). Penelitian menunjukkan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak etil asetat daun ceremai terhadap *S. aureus* sebesar 1% dan *E. coli* sebesar 7% dan dalam bioutografinya terdapat senyawa flavonoid dan polifenol (Mulyati, 2009).

Infeksi dapat disebarkan secara langsung maupun tidak langsung. Salah satu media penyebaran infeksi adalah tangan. Penggunaan *handsanitizer* dinilai lebih praktis dalam menjaga kebersihan tangan dibandingkan dengan mencuci tangan menggunakan sabun. Cara pemakaiannya dengan diteteskan pada telapak tangan, kemudian diratakan pada permukaan tangan (Retnosari dan Isadiartuti, 2006).

Gel merupakan salah satu bentuk sediaan yang cukup digemari sebagai *handsanitizer*. Pemilihan *gelling agent* dalam pembuatan gel dapat mempengaruhi

karakter gel yang terbentuk (Lachman dkk., 1996). *Gelling agent* yang banyak digunakan adalah karbopol karena cocok untuk formulasi sediaan gel yang mengandung air dan alkohol. Karbopol memiliki sifat mengiritasi yang sangat rendah pada penggunaan berulang (Shu, 2013). Keuntungan pemakaian karbopol dibandingkan dengan bahan lain adalah sifatnya yang mudah didispersikan oleh air, dan dengan konsentrasi kecil yaitu 0,05%-2% mempunyai kekentalan yang cukup sebagai basis gel (Melani dkk., 2005). Biasanya karbopol digunakan sebagai *gelling agent* dengan konsentrasi 0,5-2%. Karbopol 934 memiliki viskositas 30.500-39.400 mPas (Rowe dkk., 2009).

Berdasarkan uraian di atas, maka dilakukan formulasi dan uji efektivitas gel ekstrak etil asetat daun ceremai dengan basis karbopol sebagai *handsanitizer*.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka permasalahan dapat dirumuskan :

1. Apakah ekstrak etil asetat daun ceremai mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli*?
2. Apakah variasi konsentrasi basis karbopol mempengaruhi karakteristik fisik sediaan gel ekstrak etil asetat daun ceremai?
3. Bagaimanakah efektivitas antibakteri gel ekstrak etil asetat daun ceremai dengan basis karbopol?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun ceremai terhadap *S. aureus* dan *E. coli*
2. Mengetahui pengaruh variasi konsentrasi basis karbopol terhadap karakteristik fisik sediaan gel ekstrak etil asetat daun ceremai.
3. Mengetahui efektivitas antibakteri gel ekstrak etil asetat daun ceremai dengan basis karbopol.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini untuk pemanfaatan kandungan senyawa yang terdapat dalam daun ceremai sebagai *handsanitizer*.

E. Tinjauan Pustaka

1. Tanaman ceremai

Tanaman ceremai berasal dari India, dapat tumbuh pada tanah ringan sampai tanah berat dan tahan akan kekurangan sampai kelebihan air. Ceremai banyak ditanam orang di halaman, di ladang dan di tempat lain sampai ketinggian 1.000 mdpl (Dalimartha, 2009).



Gambar 1. Daun ceremai (Van Steenis, 1981)

a. Klasifikasi

Kingdom : Plantae

Divisio : Magnoliophyta

Classis : Magnoliopsida

Orde : Malpighiales

Familia : Phyllanthaceae

Tribe : Phyllantheae

Subtribe : Flueggeinae

Genus : *Phyllanthus*

Spesies : *Phyllanthus acidus* (L.) Skeells (Dalimartha, 1999)

b. Morfologi tanaman

Ciri pohon kecil, tinggi sampai 10 m kadang lebih, percabangan banyak, dan kulit kayu tebal. Daun tunggal, bertangkai pendek, tersusun dalam tangkai membentuk rangkaian seperti daun majemuk. Helai daun bundar telur sampai jorong, ujung runcing, pangkal tumpul sampai bundar, tepi rata, pertulangan menyirip, permukaan licin tidak berambut, panjang 2 cm hingga 7 cm, lebar 1,5 cm hingga 4 cm. Warna hijau muda (Dalimartha, 1999).

Tangkai gugur akan meninggalkan bekas yang nyata pada cabang. Perbungaan berupa tandan yang panjang 1,5 cm hingga 12 cm, keluar di sepanjang cabang, kelopak bentuk bintang, mahkota merah muda. Terdapat bunga betina dan jantan dalam satu tandan. Buah ceremai termasuk buah batu, bentuknya bulat pipih, berlekuk 6 cm hingga 8 cm, panjang 1,25 cm

hingga 1,5 cm, lebar 1,75 cm hingga 2,5 cm, warnanya kuning muda, berbiji 4 hingga 6, rasanya asam. Biji buah berbentuk bulat pipih dan berwarna coklat muda (Dalimartha, 1999).

c. Kandungan kimia

Daun ceremai mengandung saponin, flavonoida, tanin, dan polifenol. Akar mengandung saponin, asam galat, zat samak, dan zat beracun (toksik), sedangkan buah mengandung vitamin C (Dalimartha, 1999).

d. Khasiat

Daun ceremai berkhasiat sebagai peluruh dahak, pencahar (purgatif), menguruskan badan, kanker, sariawan dan mual (Dalimartha, 1999). Ekstrak etil asetat daun ceremai juga telah terbukti mempunyai aktivitas sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli* dengan luas zona hambat 20 mm² dan KBM sebesar 7%, serta terhadap *Staphylococcus aureus* (Mulyati, 2009).

2. Ekstraksi

Ekstraksi atau penyarian adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair (Depkes RI, 2000).

Pemilihan pelarut yang tepat dapat meningkatkan efisiensi ekstraksi. Hal-hal yang perlu diperhatikan dalam pemilihan pelarut antara lain selektivitas, toksisitas, kepolaran, kemudahan untuk diuapkan, dan harga pelarut. Etil asetat merupakan pelarut yang baik digunakan untuk ekstraksi karena dapat dengan mudah diuapkan, tidak higroskopis, dan memiliki toksisitas rendah (Wardhani

dan Sulistyani, 2012). Etil asetat bersifat semi polar sehingga mampu menarik senyawa-senyawa dengan rentang polaritas lebar dari polar hingga nonpolar, senyawa aglikon maupun glikon (Tensiska dan Yudiasuti, 2007).

Metode ekstraksi dapat dibagi menjadi 2 macam, yaitu :

a. Cara dingin

Ekstraksi cara dingin mempunyai keuntungan dalam proses ekstraksi total, yaitu memperkecil kemungkinan terjadinya kerusakan pada senyawa termolabil yang terdapat pada sampel. Ekstraksi cara dingin dibagi menjadi :

1) Maserasi

Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif sehingga zat tersebut larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Depkes RI, 1986).

2) Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru dan sempurna (*Exhaustiva extraction*) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruang. Prinsip perkolasi adalah dengan menempatkan serbuk simplisia pada suatu bejana silinder, yang bagian bawahnya diberi sekat berpori. Prosesnya terdiri dari tahap pengembangan bahan, tahap

maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetasan/penampungan ekstrak), sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan (Depkes RI, 2000).

b. Cara panas

Cara panas dibagi menjadi beberapa macam, yaitu :

1) Refluks

Refluks adalah ekstraksi menggunakan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Refluks umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna (Depkes RI, 2000).

2) Sokletasi

Sokletasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinue dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Depkes RI, 2000).

3) Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinue) pada temperatur ruangan (kamar), yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50°C (Depkes RI, 2000).

4) Infusa

Infusa merupakan ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih,

temperatur terukur 90-98°C selama waktu tertentu (15-20 menit) (Depkes RI, 2000).

5) Dekok

Dekok adalah infusa pada waktu yang lebih lama (lebih dari 30 menit) dan temperatur sampai titik didih air (Depkes RI, 2000).

Hasil dari ekstraksi disebut ekstrak, yaitu merupakan sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani dengan menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian sehingga dapat memenuhi baku yang telah ditetapkan (Ditjen POM, 1995).

3. Gel

Gel merupakan sistem semi solid yang terdiri dari dispersi molekul-molekul kecil atau besar di dalam pembawa cairan berair yang membentuk seperti jeli dengan penambahan *gelling agent*. Gel merupakan sistem penghantaran obat yang sangat baik untuk cara pemberian yang beragam dan kompatibel dengan banyak bahan obat yang berbeda (Allen, 2002).

Gelling agent adalah bahan tambahan yang digunakan untuk mengentalkan dan menstabilkan berbagai macam sediaan obat dan sediaan kosmetik. Pemilihan *gelling agent* dalam sediaan farmasi dan kosmetik harus inert, aman, dan tidak bereaksi dengan komponen lain. Beberapa bahan penstabil dan pengental juga termasuk dalam kelompok bahan pembentuk gel. *Gelling agent* digolongkan menjadi beberapa golongan, yaitu: protein, seperti kolagen dan

gelatin; polisakarida, misalnya alginat, karagen, dan guar gum; polimer semi sintetik atau turunan selulosa, misalnya karboksimetil selulosa dan natrium CMC; polimer sintetik, misalnya poliakrilamid, polivinil alkohol dan karbopol; anorganik, misalnya aluminium hidroksida, smectite dan bentonit (Lachman dkk., 1996).

a. Dasar gel

Dasar gel yang umum digunakan adalah gel hidrofobik dan gel hidrofilik.

1) Dasar gel hidrofobik

Dasar gel hidrofobik umumnya terdiri dari partikel-partikel anorganik, bila ditambahkan ke dalam fase pendispersi, hanya sedikit sekali interaksi antara kedua fase. Berbeda dengan bahan hidrofilik, bahan hidrofobik tidak secara spontan menyebar, tetapi harus dirangsang dengan prosedur yang khusus (Ansel, 1989).

2) Dasar gel hidrofilik

Dasar gel hidrofilik umumnya terdiri dari molekul-molekul organik yang besar dan dapat dilarutkan atau disatukan dengan molekul dari fase pendispersi. Istilah hidrofilik berarti suka pada pelarut. Umumnya daya tarik menarik pada pelarut dari bahan-bahan hidrofilik kebalikan dari tidak adanya daya tarik menarik dari bahan hidrofobik. Sistem koloid hidrofilik biasanya lebih mudah untuk dibuat dan memiliki stabilitas yang lebih besar (Ansel, 1989).

b. Kelebihan dan kekurangan gel

Kelebihan sediaan gel, untuk sediaan hidrogel, antara lain efek pendinginan pada kulit saat digunakan, tampilan sediaan yang jernih dan elegan, meninggalkan lapisan film tembus pandang setelah kering pada pemakaian di kulit, elastis, mudah dicuci dengan air, serta pelepasan obat dan kemampuan penyebaran pada kulit baik (Lachman dkk., 1996).

Kekurangan sediaan gel, untuk sediaan hidrogel, antara lain harus menggunakan zat aktif yang larut dalam air, sehingga diperlukan penggunaan peningkat kelarutan seperti surfaktan agar gel tetap jernih dalam berbagai perubahan temperatur, tetapi gel tersebut sangat mudah dicuci atau hilang saat berkeringat (Lachman dkk., 1996).

c. Uji karakteristik fisik sediaan gel

1) Organoleptis

Organoleptis merupakan pengamatan karakteristik fisik yang meliputi bentuk, warna, dan bau (Garg dkk., 2002).

2) Homogenitas

Homogenitas gel diamati pada sebuah kaca objek di bawah cahaya, apakah terdapat bagian-bagian yang tidak tercampurkan dengan baik. Gel yang stabil harus menunjukkan susunan homogen (Garg dkk., 2002).

3) Viskositas

Viskositas merupakan tahanan dari suatu sediaan untuk mengalir. Semakin kental atau semakin besar nilai viskositas maka semakin besar tahanannya (Sinko, 2006).

Semakin tinggi viskositas, waktu retensi pada tempat aksi akan naik, sedangkan daya sebar akan menurun. Viskositas juga menentukan lama lekatnya sediaan pada kulit, sehingga obat dapat dihantarkan dengan baik. Viskositas sediaan dapat dinaikkan dengan menambahkan polimer (Donovan dan Flanagan, 1996).

4) Daya sebar

Daya sebar merupakan karakteristik penting dalam formulasi gel karena daya sebar mempengaruhi kemudahan saat sediaan diaplikasikan pada kulit. Daya sebar suatu sediaan biasanya berbanding terbalik dengan nilai viskositas. Semakin tinggi nilai viskositas, daya sebar akan semakin rendah (Garg dkk., 2002).

Handsanitizer merupakan sediaan yang dapat diformulasikan dalam bentuk gel. Sediaan tersebut mengandung antiseptik yang digunakan untuk membunuh kuman yang ada di tangan, yang terdiri dari alkohol dan triklosan. Jenis *handsanitizer* pun beragam, baik komposisi maupun zat pembawanya. Saat ini telah muncul produk-produk baru yang meluas di pasaran (Fajar, 2013). *Handsanitizer* memiliki banyak keunggulan yang disukai seperti waktu aplikasi pemakaian yang singkat, kerja yang efektif, nyaman, dan meningkatkan kepatuhan pengguna (Traore dkk., 2007).

4. Monografi bahan

a. Karbopol

Karbopol memiliki nama lain *carbomer*, *acitamer*, *acrylic acid polymer*, dan *carboxyvinyl polymer*. Rumus molekul C₁₀-C₃₀ Alkyl

Acrylates Cross polymer. Berat molekul 934 gmol⁻¹. Karbopol berbentuk serbuk hablur putih, sedikit berbau khas, larut dalam air hangat, etanol, dan gliserin. Fungsinya sebagai polimer bioadhesif dan *gelling agent*. Penyimpanan dalam wadah tertutup baik. Konsentrasi yang biasa digunakan sebesar 0,5–2% (Rowe dkk., 2009).

Karbopol merupakan basis gel yang kuat, sehingga penggunaannya hanya diperlukan dalam jumlah yang sedikit, yakni sekitar 0,5%. Formulasi yang mengandung air atau pelarut polar, karbomer dapat diinduksi dengan penambahan basa organik, misalnya sodium atau potasium hidroksida. Sistem yang kurang polar maupun nonpolar dapat dinetralkan dengan golongan amina, misalnya trietanolamin, dietanolamin, ataupun dengan basa amina misal diisopropanolamin, aminoetil propanol, tetra hidroksi propel etilendiamin dan trometamin. Netralisasi yang berlebih pada karbomer dapat mengakibatkan turunnya viskositas dari karbomer (Voigt, 1984).

Karbopol memiliki beberapa fungsi, berdasarkan konsentrasi yang digunakan dalam formulasi. Fungsi dari karbopol dapat dilihat pada tabel I di bawah ini:

Tabel I. Fungsi karbopol (Rowe dkk., 2009)

Fungsi	Konsentrasi (%)
Emulsifying agent	0,1-0,5
Gelling agent	0,5-2,0
Suspending agent	0,5-1
Tablet binder	5-10

Karbopol terdiri dari 2 jenis, yaitu karbopol 934 dan karbopol 940.

1) Karbopol 934

Karbopol 934 merupakan *gelling agent* yang sangat umum digunakan dalam produksi kosmetik karena penyebarannya di kulit lebih mudah (Lachman dkk., 1996), kompatibilitas dan stabilitas tinggi, serta tidak toksik jika diaplikasikan ke kulit (Lu dkk., 1998). Gel dengan *gelling agent* karbopol 934 memiliki sifat yang baik dalam pelepasan zat aktif (Madan dan Singh, 2010). Biasanya karbopol digunakan sebagai *gelling agent* dengan konsentrasi 0,5-2%. Karbopol 934 memiliki viskositas 30.500-39.400 mPas (Rowe dkk., 2009).

2) Karbopol 940

Karbopol 940 memiliki viskositas 40.000-60.000 mPas pada konsentrasi 0,5%. Semakin besar viskositas gel maka akan mempengaruhi sifat fisika gel yang menyebabkan peningkatan daya lekat dan menurunkan daya sebar gel. Semakin besar viskositas (konsistensi) gel maka pelepasan obat semakin lambat (Martin dkk., 1993).

b. Trietanolamin (TEA)

TEA adalah campuran trietanolamina, dietanolamina, dan monoetanolamina. TEA mengandung tidak kurang dari 99% dan tidak lebih dari 107,4% dihitung terhadap zat anhidrat sebagai TEA $N(C_2H_4OH)_3$. TEA merupakan cairan kental, tidak berwarna hingga kuning pucat, bau lemah mirip amoniak, higroskopik. TEA mudah larut dalam air dan dalam etanol, larut dalam kloroform. Fungsinya sebagai agen pembasa dan agen

pengemulsi (Depkes RI, 1979). pH pada trietanolamin adalah 10,5 (Rowe dkk., 2009).

Trietanolamin secara luas digunakan dalam sediaan topikal karena dapat membentuk emulsi. TEA juga digunakan pada pembentukan garam untuk sediaan injeksi dan preparat topikal analgesik. Penggunaan TEA sebagai penghalus gel adalah 2 - 4% (Rowe dkk., 2009).

c. Propilen glikol

Propilen glikol memiliki nama lain dihidroksipropana atau metil etilen glikol, dan nama IUPAC 1,2-Propanediol. Rumus molekul $C_3H_8O_2$ dan berat molekul 76.09 gmol⁻¹. Propilen glikol berbentuk cair, jernih, tidak berwarna, kental, praktis tidak berbau, rasa manis, sedikit tajam menyerupai gliserin. Propilen glikol larut dalam aseton, kloroform, etanol (95%), gliserin, dan air; inkompatibel dengan reagen oksidasi seperti kalium permanganat. Propilen glikol bersifat higroskopis, stabil pada suhu dingin dan wadah tertutup rapat. Propilen glikol cenderung mengoksidasi pada suhu tinggi dan di tempat terbuka, menimbulkan produk seperti propionaldehida, asam laktat, asam piruvat, dan asam asetat, serta stabil ketika dicampur dengan etanol (95%), gliserin, atau air. Kegunaan sebagai humektan, penahan lembab, memungkinkan kelembutan dan daya sebar yang tinggi dari sediaan, dan melindungi gel dari kemungkinan pengeringan (Voigt, 1984). Propilen glikol memiliki stabilitas yang baik pada pH 3-6 (Allen, 2002).

d. Aquadest

Aquadest atau air suling berupa cairan bening, tidak berwarna, tidak berbau, dan tidak berasa. Kegunaannya adalah sebagai pelarut. Air dapat bereaksi dengan obat-obatan dan eksipien lain yang rentan terhadap hidrolisis (dekomposisi dalam keberadaan air atau uap air) pada suhu tinggi. Bereaksi dengan logam alkali dan oksidannya, seperti kalsium oksida dan magnesium oksida. Air juga bereaksi dengan garam anhidrat untuk membentuk hidrat dari berbagai komposisi, dan dengan bahan organik tertentu serta kalsium karbida (Depkes RI, 1979).

5. Bakteri

Bakteri adalah sel prokariotik yang khas dan uniseluler. Sel berisi massa sitoplasma. Sel bakteri berbentuk bulat, batang dan spiral. Reproduksi utama dengan pembelahan biner sederhana, yaitu proses aseksual. Beberapa bakteri ada yang menyebabkan penyakit (Pelczar dan Chan, 1988).

Bakteri umumnya tumbuh pada batas suhu ekstrim (0-90⁰C). Beberapa bakteri dapat menimbulkan penyakit pada binatang, manusia, tumbuhan maupun mikroba lainnya. Bakteri mempunyai daerah penyebaran yang sangat luas. Bakteri secara umum termasuk organisme yang bersifat *cosmopolitan*, karena dapat ditemukan dalam tanah maupun permukaan bumi, atmosfer dan lingkungan sehari-hari (Pelczar dan Chan, 1988).

Bakteri *Escherichia coli* strain tertentu merupakan bakteri gram negatif yang banyak menyebabkan penyakit infeksi saluran pencernaan selain *Vibrio cholera*. Bakteri ini bertransmisi melalui jalur fekal-oral akibat rendahnya

kualitas kebersihan individu (konsumen). Selain bakteri gram negatif, toksin bakteri gram positif seperti *S. aureus* yang bersifat termostabil juga dapat menyebabkan penyakit infeksi (Champoux dkk., 2004).

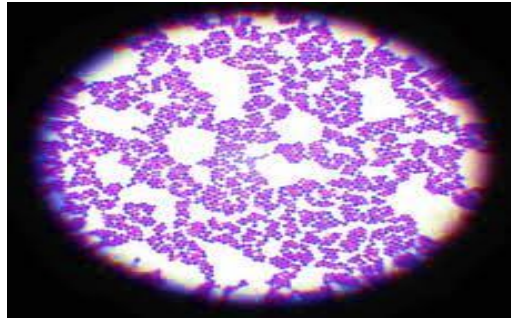
Toksin *S. aureus* berperan besar dalam meningkatnya wabah infeksi saluran cerna akibat keracunan makanan atau *food-poisoning disease*. Toksin tersebut dihasilkan oleh bakteri *S. aureus* yang masuk dan berkembang di dalam makanan akibat dari proses pengolahan yang tidak bersih oleh *food-handler* (Loir dkk., 2003).

a. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) merupakan penyebab penting penyakit infeksi. *Staphylococcus aureus* dalam keadaan normal terdapat di dalam saluran pernafasan atas, kulit, saluran cerna, dan vagina. *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan timbulnya penyakit dengan tanda-tanda yang khas yaitu peradangan, nekrosis, dan pembentukan abses (Warsa, 1993).

Klasifikasi *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut:

Divisio	: Protophyta
Subdivision	: Schizomycetea
Classis	: Schizomycetes
Orde	: Eubacteriales
Familia	: Micrococcaceae
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i> (Salle, 1961)



Gambar 2. Bakteri *Staphylococcus aureus* (Honeyman dkk., 2001)

Staphylococcus aureus merupakan bakteri sel sferis gram-positif, biasanya tersusun dalam kelompok seperti anggur yang tidak teratur. Bakteri ini tumbuh dengan mudah di berbagai medium dan aktif secara metabolik, melakukan fermentasi karbohidrat dan menghasilkan pigmen yang bervariasi dari putih hingga kuning tua (Jawetz dkk., 2008).

Staphylococcus aureus mudah berkembang pada sebagian besar medium bakteriologik dalam lingkungan aerobik atau mikroaerofilik. Organisme ini paling cepat berkembang pada suhu 37⁰C tetapi suhu terbaik untuk menghasilkan pigmen adalah suhu ruangan (23-25⁰C). Koloni pada medium padat berbentuk bulat, halus, meninggi, dan berkilau (Jawetz dkk., 2008).

b. *Escherichia coli*

Klasifikasi *Escherichia coli* adalah sebagai berikut :

Divisio	: Protophyta
Classis	: Schizomycetes
Orde	: Eubacteriales
Familia	: Enterobacteriaceae

Genus : *Escherichia*

Spesies : *Escherichia coli* (Jawetz dkk., 1991)

Escherichia coli secara alami hidup dalam saluran pencernaan. *Escherichia coli* pada umumnya tidak menyebabkan penyakit bila masih berada dalam usus, tetapi dapat menyebabkan penyakit pada saluran kencing, paru-paru, saluran empedu, peritrium, dan saluran otak (Jawetz dkk., 1991).

Escherichia coli adalah bakteri gram negatif dengan ukuran $0,4-0,7\mu\text{m}$ x $1,4\mu\text{m}$ berbentuk batang, pendek (kokobasi), letak satu sama lain kadang-kadang berderet seperti rantai, sebagian besar bergerak dan beberapa strain mempunyai kapsul (Salle, 1961).



Gambar 3. Bakteri *Escherichia coli* (Levinson W, 2008)

6. Antibakteri

Zat antibakteri pada tumbuhan merupakan senyawa aktif yang berpotensi sebagai antibakteri. Mekanisme penghambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh senyawa antimikroba dapat berlangsung dalam beberapa cara, yaitu (Pratiwi, 2008) :

- a. Mengganggu pembentukan dinding sel, dengan adanya akumulasi komponen lipofilat yang terdapat pada dinding atau membran sel akan menyebabkan perubahan komposisi penyusun dinding sel.
- b. Penghambatan fungsi membran plasma. Beberapa antimikroba merusak permeabilitas membran, akibatnya terjadinya kebocoran materi intraseluler, seperti senyawa fenol yang dapat mengakibatkan lisis sel dan denaturasi protein, serta menghambat ikatan ATP-ase pada membran sel. Penghambatan sintesa protein, asam nukleat dan aktivitas enzim. Efek senyawa antimikroba dapat menghambat kerja enzim jika senyawa antimikroba mempunyai spesifitas yang sama dengan ikatan kompleks yang menyusun struktur enzim. Penghambatan ini dapat mengakibatkan terganggunya metabolisme sel, seperti sintesa protein dan asam nukleat.

7. Aktivitas antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dibagi menjadi beberapa macam metode :

- a. Metode difusi

Metode difusi terbagi menjadi lima, yaitu:

- 1) Teknik *disc diffusion* (tes Kirby & Bauer)

Teknik ini untuk menentukan aktivitas antimikroba. Bakteri disemaikan dalam media agar, kemudian piringan yang berisi agen antibakteri diletakkan di atas medium agar tersebut. Terbentuknya area jernih di sekitar piringan tersebut menunjukkan adanya hambatan terhadap pertumbuhan bakteri oleh antibakteri pada permukaan media agar tersebut.

2) *E-Test*

Uji ini dilakukan untuk memperkirakan kadar hambat minimum (*Minimum Inhibitory Concentration*) terhadap suatu jenis bakteri. Uji ini dilakukan dengan meletakkan strip plastic yang mengandung agen antibakteri dari kadar yang tertinggi hingga kadar terendah di atas medium agar yang sebelumnya telah ditanami oleh bakteri yang akan diuji. Area jernih yang terbentuk menunjukkan adanya aktivitas antibakteri.

3) *Ditch-plate technique*

Metode ini dilakukan dengan memotong bagian tengah dari medium agar hingga terbentuk sumuran, kemudian pada sumuran tersebut diletakkan agen antibakteri. Bakteri yang akan diuji digoreskan secara membujur ke arah sumur tersebut.

4) *Gradient-plate technique*

Metode ini dilakukan dengan mencampur media agar dengan larutan uji dalam berbagai konsentrasi. Campuran yang ada kemudian dituangkan ke dalam cawan petri yang diletakkan dengan posisi miring kemudian dituangkan nutrisi kedua. Plate yang ada diinkubasi selama 24 jam dan digoreskan bakteri yang akan diuji dari arah konsentrasi tertinggi hingga konsentrasi terendah.

5) *Cup-plate technique*

Metode ini dilakukan dengan membuat beberapa lubang pada media agar yang telah diberi bakteri. Lubang-lubang tersebut diisi dengan

berbagai zat antibakteri yang akan diuji, kemudian diinkubasi selama 24 jam dan diamati zona hambat yang terbentuk pada sekeliling lubang (Pratiwi, 2008).

b. Metode dilusi

Metode dilusi terbagi menjadi :

1) Metode dilusi cair (*Broth dilution test*)

Metode ini mengukur MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) atau kadar hambat minimum (KHM), dan MBC (*Minimum Bactericidal Concentration*) atau kadar bunuh minimum (KBM). Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Larutan uji agen antimikroba pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM. Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur ulang pada medium cair tanpa penambahan mikroba uji ataupun agen antimikroba, dan diinkubasi selama 18 – 24 jam. Medium cair yang tetap terlihat jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai KBM.

2) Metode dilusi padat (*solid dilution test*)

Metode ini serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan medium padat (solid). Keuntungan metode ini adalah salah satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat dipergunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Pratiwi, 2008).

c. Metode *swab*

Uji aktivitas antibakteri metode *swab* merupakan metode pengujian yang dapat digunakan pada permukaan yang rata, bergelombang atau permukaan yang sulit dijangkau seperti retakan, sudut dan celah. Pengambilan sampel pada permukaan dilakukan dengan cara mengusap permukaan yang diuji. Penggunaan metode *swab* ini biasanya digunakan untuk mengetahui jumlah mikroorganisme (per cm²) pada permukaan yang kontak dengan tangan (Lukman dan Soejoedono, 2009).

F. Landasan Teori

Handsanitizer merupakan sediaan yang digunakan untuk membunuh bakteri yang ada di tangan. Bentuk sediaan *handsanitizer* yang cukup digemari adalah gel karena mudah diaplikasikan dan memberi kelembaban secara instan. Sifat fisika sediaan gel yang menggunakan *gelling agent* karbopol lebih baik hasilnya dibandingkan gel yang menggunakan *gelling agent* lain (Kumar dan Kumar, 2011). Karbopol 934 merupakan *gelling agent* yang sangat umum digunakan dalam produksi kosmetik karena penyebarannya di kulit lebih mudah (Lachman dkk., 1996), serta tidak toksik jika diaplikasikan ke kulit (Lu dkk., 1998). Gel dengan *gelling agent* karbopol 934 memiliki sifat yang baik dalam pelepasan zat aktif (Madan dan Singh, 2010). Sediaan topikal atau gel yang menggunakan karbopol juga mampu melepaskan zat aktif yang lebih baik dibandingkan *gelling agent* lainnya (Barry, 1983). Karbopol biasa digunakan sebagai *gelling agent* dengan konsentrasi 0,5-2% (Rowe dkk., 2006).

Penelitian Mulyati (2009) menunjukkan bahwa KBM ekstrak etil asetat daun ceremai terhadap *S. aureus* sebesar 1% dan *E. coli* sebesar 7%, dalam bioautografinya terdapat senyawa flavonoid dan polifenol yang beraktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dan senyawa polifenol yang beraktivitas antibakteri terhadap *E. coli*. Penelitian Saryanti dan Izzatun (2017) juga menunjukkan bahwa gel ekstrak daun ceremai mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

G. Hipotesis

Berdasarkan rumusan masalah dan landasan teori, maka hipotesis dari penelitian ini adalah :

1. Ekstrak etil asetat daun ceremai memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.
2. Karbopol sebagai *gelling agent* mempunyai pengaruh terhadap karakteristik fisik sediaan gel ekstrak etil asetat daun ceremai.
3. Sediaan gel ekstrak etil asetat daun ceremai memiliki efektivitas antibakteri.

