

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Ps. aeruginosa*

2.1.1 Taksonomi



Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: Pseudomonadales
Family	: Pseudomonadaceae
Genus	: <i>Pseudomonas</i>
Species	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>

(Kaushik dan Chauhan, 2009)

2.1.2 Morfologi

Ps. aeruginosa merupakan bakteri gram negatif dalam bentuk non-spora. Bakteri ini merupakan bakteri berbentuk batang lurus atau terkadang sedikit melengkung. Biasanya bakteri ini merupakan bakteri motil dan bergerak menggunakan satu atau lebih flagela. *Ps. aeruginosa* dapat hidup di media yang minimal dan sederhana. Sebagian besar bakteri ini memiliki berat molekul yang rendah terdiri dari komponen organik. Hal yang paling penting

untuk membedakan bakteri *Ps. aeruginosa* dengan bakteri yang lain adalah produksi pigmen *pyocyanin*, kemampuan denitrifikasi, dan kemampuan hidup pada suhu 41 °C (Mushtaq, 2013).



Gambar 2.1 *Ps. aeruginosa* dengan pewarnaan Gram
(Gram negatif, bentuk batang)

Koloni dari bakteri *Ps. aeruginosa* biasanya datar, berwarna keabuan, dengan tepi tidak teratur, dan dengan seiring berjalannya waktu mereka menyebar pada permukaan agar-agar. Bakteri ini merupakan bakteri aerob, namun terkadang menjadi anaerob jika saat denitrifikasi. Flagela yang dimiliki merupakan flagela polar, namun beberapa strain juga memproduksi flagela lateral yang oksidatif (Mushtaq, 2013).

Ps. aeruginosa memiliki panjang 0,5 – 0,8 x 1,5 – 3,0 µm. Terdiri dari makromolekul, salah satunya ribosomal RNA. Bakteri ini hidup secara bebas, sering ditemukan di tanah dan air (Japoni, 2009).

2.1.3 Identifikasi Bakteri *Ps. aeruginosa*

Berikut ini merupakan tes identifikasi terhadap bakteri *Ps. aeruginosa*:

1. Pemiakan pada media Mac Conkey Agar

Secara aseptis diinokulasikan biakan kuman dari media BHI ke media Mac Conkey dengan cara diambil 1 ons mata lalu ditanam secara gores kuadran. Diinkubasi 37°C selama 24 jam. Koloni *Ps. aeruginosa* dilakukan purifikasi untuk masing – masing koloni ke media Mac Conkey diinkubasi 37°C selama 24 jam. Koloni *Ps. aeruginosa* pada media ini koloni berbentuk bulat, warna transparan, tepi tidak rata, konsistensi *smooth*, diameter 2 – 3 mm, elevasi cembung bersifat non laktosa fermenter (Utami, 2012).

2. Pengecatan Gram

Koloni tersangka dari media Mac Conkey 1 dilakukan pengecatan Gram dengan cara diambil koloni dengan ose mata secara aseptis, Diletakan pada obyek glass yang sebelumnya telah di bersihkan dengan alkohol 70%, diratakan dan dikeringkan lalu difiksasi, genangi cat gentian violet 2 – 3 menit, cuci dengan air mengalir, gengangi lugol 1 menit, cuci dengan air mengalir, genangi alkohol absolut 45 detik, cuci dengan air mengalir, genangi safranin 3 – 4 menit, cuci dengan air mengalir, keringkan dan dilihat dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000 kali. *Ps. aeruginosa* berbentuk batang, bersifat gram negatif (Utami, 2012).

3. Uji Microbact 12 A/12B-24E

Uji *microbact* dilakukan untuk menguji biokimia dan fermentasi karbohidrat. Uji biokimia dilakukan pada *microbact* 24E. Satu koloni bakteri yang telah diinkubasi selama 18-24 jam diambil menggunakan ose kemudian dilarutkan

dalam 3-5 ml garam fisiologis dalam tabung reaksi steril dan divortex hingga homogen. Larutan bakteri dimasukkan ke dalam sumur *microbact* sebanyak 100 μ L. Untuk sumur Lysin, Omitin, dan H₂S ditambahkan larutan *mineral oil* sebanyak 1-2 tetes. Kemudian *microbact* diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Setelah diinkubasi pada sumur 7, diteteskan Nitrat A dan B 2 tetes, kemudian sumur 8 diteteskan *Indol Kovact* 2 tetes, sumur 10 dengan VP I dan VP II masing-masing 1 tetes, dan sumur 12 dengan TDA satu tetes (Sucipto, 2013).

Uji fermentasi karbohidrat pada *microbact* 12B tanpa ada penambahan reagen, hasil dapat langsung dibaca. Hasil pada bakteri *Ps. aeruginosa* adalah negatif sehingga tidak ada perubahan warna yaitu warna tetap biru. Evaluasi dilakukan dengan membandingkan dengan tabel warna dan hasil ditulis pada formulir *Patent Record*, kemudian didapatkan angka oktaf dari penjumlahan reaksi positif dari setiap kelompok (3 sumur didapatkan 1 angka oktaf), nama bakteri dilihat dengan komputer berdasarkan angka oktaf yang keluar (Sucipto, 2013).

4. Uji Katalase

Koloni dari media Nutrient Agar dilakukan uji katalase dengan cara mengambil koloni tersebut dengan ose mata secara aseptis, letakan pada obyek glass yang sebelumnya dibersihkan dengan alkohol 70%, ratakan, kemudian tambah 1 tetes reagen H₂O₂ 3% . Hasil positif ditandai dengan terbentuknya gelembung – gelembung udara, warna putih. *Ps. aeruginosa* uji katalase hasilnya positif (Utami, 2012).

Hasil dari uji katalase adalah terbentuk gelembung berwarna putih. Gelembung yang terbentuk merupakan gelembung oksigen yang terjadi karena adanya reaksi pemecahan H_2O_2 oleh enzim katalase yang dihasilkan oleh bakteri itu sendiri. Bakteri yang memiliki enzim katalase dan mampu memecah H_2O_2 merupakan bakteri yang melakukan respirasi, kemampuan ini ditunjukkan oleh bakteri aerob (Yulianti, 2014).

5. Uji Oksidase

Koloni *Ps. aeruginosa* dari media Nutrient Agar dilakukan uji oksidase dengan cara mengambil koloni tersebut dengan ose mata secara aseptis, letakan pada kertas saring yang terletak pada obyek *glass* kemudian ditambah 1 tetrametil p-fenilen-diamine dihidroklorida 1%. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna biru violet pada koloni dikertas saring. *Ps. aeruginosa* pada uji oksidase hasil positif (Utami, 2012).

Pada uji oksidase, hasil berwarna biru keunguan yang berarti positif. Warna biru keunguan yang dihasilkan ini merupakan reaksi antara enzim oksidase dengan substansi organik yang terkandung dalam reagen tetrametil p-fenilen-diamine dihidroklorida. Reaksi tersebut akan menghasilkan molekul indophenol blue yang mengakibatkan warna pada uji oksidase berwarna biru keunguan (Yulianti, 2014).

2.1.4 Resistensi Bakteri *Ps. aeruginosa*

Infeksi karena *Pseudomonas* biasanya diobati dengan antibiotik, namun akhir-akhir ini di berbagai rumah sakit telah mengalami kesulitan

karena adanya peningkatan resistensi antibiotik. *Pseudomonas* yang multidrug resistant dapat membahayakan nyawa pasien (CDC, 2014).

Terdapat sebuah penelitian tentang resistensi bakteri *Ps. aeruginosa* terhadap 10 antibiotik, dan menunjukkan bahwa telah resisten sebesar 80% terhadap antibiotik Ceftriaxone, Cefixime, Cefuroxime, Co-Trimazole, Amoxyclav. Selain itu juga 60% resisten terhadap Cefraxidime, Nitroflurantoin. Namun menunjukkan 80% sensitif terhadap Ciprofloxacin, Gatifloxacin, Piperacillin (Kalpana, 2011).

Pada penelitian lainnya, *Ps. aeruginosa* menunjukkan hasil resisten terhadap beberapa antibiotik seperti Ampicillin, Tetracyclin, Oxytetracyclin, Amoxicillin. Pada beberapa antibiotik menunjukkan hasil tidak terlalu sensitif seperti Sulphomethoxazole, Erythromycin, Kanamycin. Namun, ada antibiotik yang menunjukkan hasil sensitif seperti Chloramphenicol, Ciprofloxacin, Gentamycin (Hossain, 2013).

2.1.5 *Ps. aeruginosa* pada Luka Bakar

Pasien luka bakar dengan luka yang dalam akan meningkatkan resiko terjadinya *invasive infection*. Untuk mengetahui bahwa luka bakar terinfeksi dilakukan biopsi, dan akan terlihat parameter dari infeksi, dimana stage I adalah bakteri ada pada permukaan luka bakar, dan stage II bakteri sudah mulai masuk ke dalam jaringan yang lebih dalam pada luka bakar. Bakteri yang paling sering menjadi penyebab infeksi dari luka bakar adalah *Ps. aeruginosa*. Bakteri lain yang juga dapat menginfeksi adalah *Clostridium* sp. dan *Aeromonas* sp (Coban, 2012).

Infeksi dari *Ps. aeruginosa* bisa terdapat pada berbagai jaringan, dan pada umumnya jalur yang mudah menjadi jalur infeksi bakteri ini adalah luka, luka bakar, penggunaan kateter, intravena, luka postoperasi, dan sebagainya. Jaringan ini adalah jaringan yang paling sering dijadikan *host* dari bakteri ini (Mushtaq, 2013).

Pasien dengan luka bakar yang parah di rumah sakit, sangat rawan terinfeksi *Ps. aeruginosa*. Bakteri mudah masuk karena tidak ada barrier kulit lagi yang dapat menghalangi masuknya bakteri, sedangkan di rumah sakit banyak sekali ditemukan bakteri *Ps. aeruginosa* di lantai, kasur, bak cuci di rumah sakit, dan di kamar mandi. Banyak sekali kejadian di rumah sakit, bakteri ini menyerang pasien dengan luka bakar yang belum sempat sembuh (Japoni, 2009).

Infeksi pada luka bakar ini diakibatkan karena pertahanan tubuh dari manusia menurun, sehingga meningkatkan resiko infeksi. Besarnya luka juga menjadi salah satu faktor dari infeksi luka bakar. Pada pasien luka bakar, semakin luas daerah yang terbakar semakin besar resiko terinfeksi. Jika terjadi infeksi, maka meningkat pula resiko terjadinya sepsis dan membahayakan pasien (Coban, 2012).

2.2 Kemangi

2.2.1 Klasifikasi

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Dikotil
Ordo	: Lamiales
Famili	: Lamiaceae
Genus	: <i>Ocimum</i>
Spesies	: <i>Ocimum canum</i>

(Yuhana, 2013)

2.2.2 Habitat dan Morfologi Kemangi

Tanaman kemangi termasuk dalam genus *Ocimum* yang merupakan famili dari Lamiaceae, dan subfamili Ocimoideae. Tanaman *Ocimum* memiliki 30 spesies dan semuanya mampu hidup di daerah tropis dan subtropis, seperti di daerah Asia, Afrika, Amerika Tengah, dan Amerika Selatan (Saha, 2013).



Gambar 2.2 Daun Kemangi (Yuhana, 2010)

Morfologi tanaman kemangi yaitu merupakan tanaman herba tegak atau semak, tajuk membulat, bercabang banyak, dengan tinggi 0,3-1,5 meter. Tanaman ini memiliki daun tunggal yang saling berhadapan, tangkai daunnya 0,25 – 3 cm, daun berbentuk bulat telur, memanjang dengan ujung meruncing atau tumpul, kedua permukaan berambut halus, tepi daun bergerigi lemah atau bergelombang. Susunan bunganya majemuk berkarang atau tandan, terminal, dan dengan panjang 2,5 – 14 cm (Yuhana, 2010).

Secara mikroskopis, pada penampang melintang melalui tulang daun tampak epidermis atas terdiri dari satu lapis sel kecil, berbentuk segi empat panjang, warna jernih, dinding tipis, kutikula tipis. Epidermis bawah terdiri dari satu lapis sel kecil berbentuk segi empat panjang, jernih, berdinding tipis, kutikula juga tipis (Yuhana, 2010).

2.2.3 Khasiat Kemangi

Bagian daun dari kemangi dapat digunakan untuk mengobati demam, batuk, salesma, encok, air susu kurang lancar, sariawan, panu, radang telinga, mual, muntah, peluruh haid, luka, dan memperbaiki fungsi lambung. Sedangkan bagian biji digunakan untuk mengatasi sembelit, infeksi saluran urin, peluruh keringat, dan kejang perut. Bagian akar digunakan untuk mengobati penyakit kulit. Semua bagian tanaman digunakan sebagai pewangi, mengobati disentri dan demam (Kusuma, 2010).

Minyak esensial yang terkandung dalam tanaman ini juga memiliki fungsi sebagai penyedap masakan. Untuk pengobatan, minyak esensial daun

kemangi menunjukkan aktivitas sebagai antimikroba, antiemetik, antidiabetes, antiinfertilitas, antiasma, antistress, dan antikanker (Saiprasanna, 2012).

2.2.4 Kandungan Kimia dan Peran sebagai Antibakteri

Berdasarkan penelitian kandungan minyak atsiri dari daun kemangi menunjukkan bahwa mengandung camphor sebesar 3,47%, citral sebesar 0,33%, geraniol sebesar 0,14%, cineole sebesar 1,44%, β -Pinene sebesar 0,13%, citronellal sebesar 0,79%, eugenol sebesar 0,32%, dan vanillin sebesar 1,03% (Saha, 2013).

Pada literatur lain, menunjukkan kandungan kimia dari tanaman kemangi adalah fenolik sebesar 141,94%, flavonoid sebesar 36,46%, alkaloid sebesar 50,67%, dan terpenoid sebesar 333,33% (Virmala, 2013). Kandungan dari minyak esensial daun kemangi adalah linalool dan metilcalvicol, limonene, metilsinamat, eugenol, 1,8-cineole, citral, terpinen-4-ol, dan champhor (Nascimento, 2011). Metilcavicol memiliki efek antikonvulsan dan antifungi. 1,8-cineole atau eucalyptol memiliki efek antiseptik, anastesi, antikarsinogenik, antioksidan. Lalu juga terdapat eugenol yang merupakan komponen fenol dan berfungsi sebagai antioksidan dan antimikroba (Nurzynska-Wierdak, 2013).

2.2.5 Daya Antibakteri

Terdapat penelitian mengenai daya hambat daun kemangi terhadap *Ps. aeruginosa* dengan pelarut metanol dan metode ekstraksi soxhlet. Hasilnya menunjukkan bahwa ekstrak dari daun kemangi mampu

menghambat pertumbuhan bakteri *Ps. aeruginosa* sebesar 15 milimeter menggunakan metode difusi cakram (Saha, 2013).

Pada penelitian lain mengenai uji daya hambat daun kemangi terhadap bakteri *Ps. aeruginosa*, yang dibuat dengan cara 5 gram dari serbuk tanaman kering kemudian diekstraksi dengan aquades, etanol, dan metanol sebanyak 200 ml dengan maserasi selama 24 jam, kemudian di evaporasi hingga kering. Dari hasil penelitian tersebut daya hambat terhadap bakteri digunakan metode difusi cakram, dan menunjukkan bahwa ekstrak kemangi memiliki daya hambat terhadap *Ps. aeruginosa* menggunakan metode difusi cakram, dengan pelarut metanol mampu menghambat pertumbuhan bakteri sebesar 20 milimeter, dan dengan pelarut etanol mampu menghambat pertumbuhan bakteri sebesar 12,5 milimeter, dan dengan pelarut aquades mampu menghambat pertumbuhan bakteri sebesar 10 milimeter (Biswas, 2013).

2.3 Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan kering, kental, atau cair dibuat dengan penyarian simplisa menurut cara yang cocok, di luar pengaruh cahaya matahari langsung. Ekstrak kering harus mudah digerus menjadi serbuk. Cara penyarian dapat digunakan air, eter, etanol. Berikut ini merupakan berbagai cara pembuatan ekstrak (BPOM RI, 2010):

2.3.1 Cara Panas

2.3.1.1 Infusa

Infusa adalah cara mengekstrak simplisia dengan air dan pada suhu 90°C selama 15 menit. Pembuatan infus merupakan cara yang sederhana untuk membuat sediaan herbal dari bahan lunak seperti daun dan bunga. Dapat diminum langsung saat panas atau dingin. Cara pembuatan dengan memanaskan simplisia di atas penangas air, kemudian disaring dan hasil saring dapat langsung diminum.

2.3.1.2 Dekokta

Dekokta adalah cara mengekstrak simplisia dengan memanaskan simplisia langsung pada sumber panas seperti kompor. Cara pembuatan dengan mencampur simplisia dengan air kemudian dipanaskan di atas kompor dengan suhu 90 °C selama 30 menit sambil diaduk-aduk sesekali. Setelah itu, dapat disaring menggunakan kain flanel. Dekok dapat langsung diminum.

2.3.1.3 Refluks

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

2.3.1.4 Soxhlet

Soxhlet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinyu

dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Ditjen POM, 2000).

2.3.1.5 Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik dengan pengadukan kontinyu pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50 °C (Ditjen POM, 2000).

2.3.2 Cara Dingin

2.3.2.1 Maserasi

Dilakukan dengan cara memasukkan 10 bagian simplisia atau campuran simplisia derajat halus yang cocok ke dalam sebuah bejana, tuangi dengan 75 bagian cairan penyari, tutup, biarkan selama 5 hari terlindungi dari cahaya sambil sering diaduk, serkai, peras, kemudian dicuci ampas dengan cairan penyari secukupnya hingga diperoleh 100 bagian, lalu dipindahkan ke bejana tertutup, dibiarkan di tempat sejuk, terlindung dari cahaya selama 2 hari. Kemudian dituangkan sambil disaring. Suling atau uapan maserat pada tekanan rendah pada suhu tidak lebih dari 50 °C hingga konsistensi yang dikehendaki.

2.3.2.2 Perkolasi

Perkolasi dilakukan dengan cara membasahi 10 bagian simplisia atau campuran simplisia dengan derajat halus yang cocok dengan 2,5 bagian sampai 5 bagian penyari, kemudian dimasukkan ke dalam bejana tertutup sekurang-kurangnya selama 3 jam. Kemudian dipindahkan massa sedikit demi sedikit ke dalam perkolator, dan dituang cairan penyari hingga cairan

mulai menetes dan diatas simplisia masih terdapat selapis cairan penyari, perkolator ditutup dan dibiarkan selama 24 jam. Biarkan cairan menetes, lalu dituang massa dengan cairan penyari hingga perkolat yang keluar terakhir diuapkan tidak meninggalkan sisa. Perkolat disuling dengan tekanan rendah dengan suhu tidak lebih dari 50 °C.

2.4 Pemilihan Pelarut

Faktor utama untuk pertimbangan pada pemilihan pelarut adalah selektivitas, kemudahan bekerja dan proses dengan cairan tersebut, ekonomis, ramah lingkungan, dan keamanan. Pada kebijakan pemerintah di Indonesia saat ini pelarut yang diperbolehkan adalah air dan alkohol (etanol serta campurannya). Jenis pelarut seperti metanol, heksana, toluen, kloroform, aseton hanya digunakan pada tahap separasi dan pemurnian karena bersifat toksik akut dan kronik (Ditjen POM, 2000).

2.5 Pelarut Etanol

Etanol disebut juga ethyl alkohol adalah cairan jernih tidak berwarna dan dengan bau yang dapat diterima. Jika dicampur dengan air rasanya akan terasa manis, namun jika terlalu banyak konsentrasi akan menyebabkan rasa terbakar. Titik didih etanol adalah 78 °C, etanol memiliki densitas 0,789 g/mL, titik beku dari etanol adalah -40 °C. Etanol dapat dicampur pada seluruh bagian dengan air dan dengan sebagian besar pelarut organik. Etanol merupakan pelarut yang

sangat baik pada berbagai macam substansi. Etanol bersifat polar sehingga dapat menarik senyawa polar dan nonpolar. Etanol digunakan pada pembuatan parfum, mengencerkan cat, sebagai bahan peledak, dan lain-lain. Sebagai pelarut pada ekstraksi seperti destilasi, konsentrasi yang digunakan adalah 95-96% (Shakhashiri, 2009).

2.6 Luka Bakar

Luka bakar adalah kerusakan atau kehilangan jaringan yang disebabkan kontak dengan sumber panas seperti api, air panas, bahan kimia, listrik, dan radiasi. Luka bakar dapat merusak jaringan otot, tulang, pembuluh darah, dan jaringan epidermis. Luka bakar juga dapat menimbulkan komplikasi, seperti *shock*, infeksi, ketidakseimbangan elektrolit, dan masalah distress pernapasan, selain itu juga dapat mengganggu psikologi jika terjadi kecacatan (Rismana, 2013).

Luka bakar diklasifikasikan berdasar tingkat keparahannya, dilihat dari kedalaman dan luas luka bakar. Klasifikasi tersebut dibagi menjadi tiga, yaitu derajat 1, derajat 2, dan derajat 3. Derajat 1 dapat disebabkan karena sinar matahari, air panas, luka bakar kilat, umumnya berwarna merah muda atau merah dengan permukaan yang kering, dan terasa nyeri, kedalaman luka pada derajat 1 pada epidermis saja. Untuk derajat 2, dapat diakibatkan karena cairan panas, berwarna merah muda atau merah pucat dengan permukaan lembab terbentuk bula, terasa sangat nyeri, kedalaman luka mulai epidermis dan sebagian dermis. Untuk derajat 3, dapat terjadi karena cairan panas, kontak

dengan cairan kimia, berwarna coklat tua dan tampak vena, permukaan kulit kering dan tidak elastik, pasien tidak merasa nyeri, kedalaman luka dari epidermis, dermis, dan struktur yang lebih dalam (Dzulfikar, 2012).

Pasien dengan luka bakar sering mengalami *shock* akibat kekurangan banyak cairan atau sepsis, sehingga diperlukan pemantauan hemodinamik ketat. Tatalaksana penanganan luka bakar di ruang perawatan intensif harus mencakup tatalaksana jalan napas dan oksigenasi, resusitasi cairan, pemberian antibiotika, tatalaksana nutrisi, penanganan nyeri hingga perawatan luka untuk menurunkan mortalitas. Pemberian antibiotik yang umum digunakan adalah silver sulfadiazine yang memiliki potensi antimikroba yang baik, namun memiliki efek toksisitas dan hanya untuk menghambat bakteri tidak untuk mempercepat proses penyembuhan luka (Dzulfikar, 2012).

2.7 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas bakteri dari bahan alam dapat dilakukan secara *in vitro*. Berikut ini merupakan uji aktivitas bakteri dari bahan alam secara *in vitro* (Pati dan Kurade, 2011):

a. Metode Absorpsi Agar

Metode ini dilakukan dengan cara memasukkan agar ke dalam cawan dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37 °C. Kemudian bahan alam dipipet ke permukaan agar dan dilihat penyebarannya di permukaan agar, dan dibiarkan selama 30 menit. Kemudian disebar 10⁸ bakteri di atas bahan alam

pada cawan, lalu di inkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37 °C.

Kemudian dihitung koloni bakterinya.

b. Metode Dilusi Agar

Metode ini dilakukan dengan mencampurkan agar dengan ekstrak tanaman, dan dimasukkan ke dalam cawan agar. Kemudian disebar 10^8 koloni bakteri ke atas permukaan agar dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18-24 jam. Kemudian dapat dihitung pertumbuhan bakteri dari skala nol hingga empat, dimana nol adalah tidak terdapat pertumbuhan, dan skor empat pertumbuhan bakteri tidak terkontrol.

c. Metode Difusi Cakram

Metode ini dilakukan dengan cara memasukkan agar di cawan pada suhu 37°C selama 30 menit. Kemudian disebar 10^8 bakteri di permukaan agar dan diinkubasi selama 30 menit dengan suhu 37 °C. Lalu ditambahkan ekstrak ke permukaan agar, dijaga kondisi ekstrak supaya tidak berpindah tempat, kemudian diinkubasi dengan suhu 37°C selama 18-24 jam. Kemudian diamati daya hambat maksimum yang terjadi.

d. Metode Difusi Sumur

Metode sumur ini dilakukan dengan cara memasukkan agar cair bersama kultur bakteri, kemudian dimasukkan ke cawan petri. Lalu disiapkan lubang sumuran yang berbeda pada agar yang telah mengeras. Kemudian dimasukkan ekstrak ke dalam masing-masing sumuran, lalu diinkubasi dengan suhu 37 °C selama 18-24 jam, lalu diukur daya hambatnya.

2.8 Gel

Gel adalah suatu sistem semisolid dimana terjadi interaksi antara partikel koloid dengan sistem pembawa berupa cairan. Pembawa ini secara terus-menerus dan berinteraksi dengan partikel koloid dalam tiga dimensi jaringan yang dibentuk oleh ikatan antara partikel yang berdekatan. Pembawa bisa berupa aquades, hidroalkohol, basis alkohol, atau yang tidak berair. Partikel koloid yang tersebar berupa padatan seperti kaolin, bentonit, atau secara alternatif bisa berupa polimer yang terdispersi. Sediaan gel berdasarkan mekanisme pembentukan dibagi menjadi dua, yaitu (Jones, 2008):

2.8.1 Dispersi solid

Mekanisme pembentukan gel dengan adanya interaksi antar partikel melalui gaya Van der Waals atau ikatan elektrostatis. Pada dispersi solid ikatan yang terjadi antar partikel lemah sehingga mudah dipengaruhi oleh adanya pengadukan atau pengocokan, misalnya pada kaolin, bentonite, dan aluminium magnesium silikat.

2.8.2 Polimer Hidrofilik

Pada polimer hidrofilik adalah mekanisme pembentukan gel dengan adanya interaksi antar polimer ketika didispersikan dalam medium yang mengandung air. Interaksi antar polimer ini dapat bersifat *reversible* atau *irreversible*. Tipe ini dibagi menjadi dua macam yaitu:

a. Gel tipe 1

Gel tipe ini sering disebut dengan *hydrogel*, dimana interaksi antar polimer adalah interaksi yang bersifat *irreversible*. Antar polimer saling terkait dan membentuk sistem gel yang kaku namun tetap elastis.

b. Gel tipe 2

Pada gel tipe ini interaksi yang terjadi antar polimer bersifat *reversible*, yaitu berupa ikatan hidrogen, atau interaksi van der waals. Gel yang dihasilkan dari gel tipe ini dapat disebarkan pada permukaan tempat aplikasi. Sifat dari gel ini adalah *pseudoplastic system* dimana ikatan antar molekul akan kembali terbentuk ketika gaya dihilangkan.

2.8 Komponen Formulasi Gel

Terdapat beberapa bahan formulasi yang diperlukan untuk membuat sediaan gel, yaitu basis gel, sistem pembawa, buffer jika diperlukan, antioksidan, bahan pengawet, pemanis jika untuk sediaan oral dan pewarna jika diperlukan (Jones, 2008).

Basis gel yang digunakan adalah carbomer. Carbomer memiliki nama lain yaitu acrypol, acritamer, carbomera. Carbomer memiliki bentuk serbuk halus berwarna putih, sedikit berbau khas, hidroskopis. Dipilih carbomer karena merupakan bahan stabil dan higroskopis, yang dapat dipanaskan pada suhu dibawah 104 °C selama 2 jam tanpa mempengaruhi kemampuannya sebagai *thickening*. Serbuk kering carbomer tidak dapat ditumbuhi jamur dan mikroba, namun jika terdispersi dalam cairan dapat ditumbuhi mikroba, sehingga diperlukan bahan pengawet untuk mencegah pertumbuhan mikroorganisme (Rowe, 2009).

Pelarut yang digunakan adalah aquades karena aquades tidak mudah menguap sehingga ketika diaplikasikan tidak akan membuat permukaan kulit kering. Aquades merupakan cairan jernih, tidak berwarna, tidak berbau. Aquades memiliki stabilitas yang baik karena akan stabil pada semua keadaan fisik. Aquades ini berfungsi sebagai pelarut, aquades dapat melarutkan bahan yang bersifat polar (Rowe, 2009).

Komponen gel lainnya yang akan digunakan adalah *propylene glycol*, yang berkhasiat sebagai humektan, penetration enhancer. Humektan disini berfungsi untuk mencegah hilangnya air dari gel, dan penetration enhancer untuk membantu obat menembus kulit. Keuntungan yang didapat dari penggunaan *propylene glycol* adalah dapat bercampur dengan air dan mampu larut dalam beberapa minyak esensial. *Propylene glycol* juga stabil bila dicampurkan dengan etanol, gliserin, atau air (Rowe, 2009).

Sodium Hidroksida (NaOH) dikenal juga dengan nama *caustic soda*, natrium hidroksida, sodium hidrat. NaOH sering digunakan sebagai pembasa (*Alkalizing Agent*) dan *Buffering Agent* sehingga pH dapat terkontrol dan tidak mempengaruhi stabilitas sediaan. NaOH dapat larut pada air dengan perbandingan 1:0,9. NaOH stabil pada penyimpanan di tempat yang sejuk kering (Rowe, 2009).