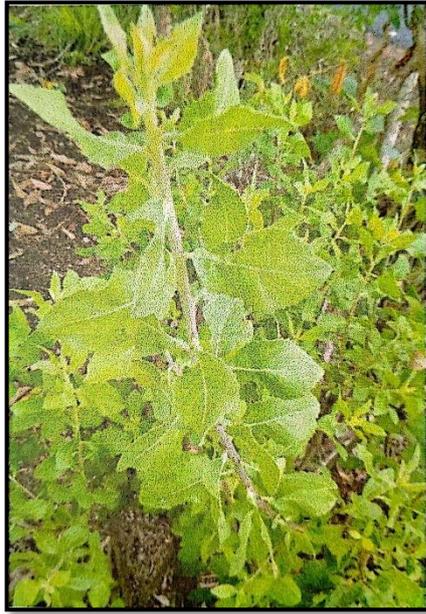


BAB II KAJIAN PUSTAKA

2.1 Beluntas (*Pluchea indica* L. Less)

Tanaman beluntas (*Pluchea indica* L. Less) adalah salah satu tanaman berbunga dari keluarga *Asteraceae*, yang terdiri dari sekitar 80 spesies yang tersebar di daerah subtropis dan tropis seperti di Asia, Afrika, Australia, dan Amerika juga di daerah bersuhu hangat di negara-negara seperti Indonesia, Malaysia, Taiwan, Australia, Meksiko, dan India (Ibrahim *et al.*, 2022). Umumnya tumbuh di daerah kering pada tanah yang keras dan berbatu, tanaman beluntas tumbuh pada dataran tinggi di ketinggian 1.000 mdpl, memerlukan cukup sinar matahari dan tidak tahan terhadap naungan yang lebat. Jenis tanah andosol, lambusol, latosol dan alluvial membuat tanaman beluntas memiliki jumlah kadar alkaloid yang tinggi karena curah hujan dan ketinggian tempat yang tinggi, sedangkan jenis tanah alluvial dan gramosol dengan curah hujan dan ketinggian tempat yang rendah membuat tanaman beluntas memiliki kadar polifenol dan flavonoid yang tinggi (Setiawan *et al.*, 2023).

Tanaman beluntas (*Pluchea indica* L. Less) berbentuk perdu, tingginya 1-3 m. Batang bercabang berbentuk silindris dan berkayu, berwarna cokelat tua dan hijau di bagian ujung, *glabrous* (tidak berambut). Daunnya tunggal dan berselang-seling, bulat lonjong atau bulat telur sungsang, tepinya bergerigi, ujungnya runcing, berbulu halus, panjang kurang lebih 3,8-6,4 cm, lebarnya 2-4 cm, permukaannya menyirip, berwarna hijau terang, bila direbus dan diremas mengeluarkan bau aroma yang khas atau sengir dan rasanya getir, masa panen daun ketika tinggi tanaman 1 – 1,5 m. Bunga majemuk, warna putih kekuningan dan ungu, putiknya berbentuk jarum, panjang kurang lebih 6 mm, berwarna hitam kecoklatan, keluar dari ujung cabang ke ketiak daun. Buahnya berukuran kecil dan berwarna coklat. Berbiji kecil dan coklat keputih-putihan. Kemudian akarnya tunggang dan bercabang berwarna putih kotor. Waktu panen daun beluntas saat tanaman mencapai ukuran yang cukup yaitu sekitar 1 – 1,5 m dan dapat dipanen sekitar 2 – 3 bulan setelah penanaman (Herbie, 2015).



Gambar 2. 1 Tanaman Beluntas (*Pluchea indica* L. Less)
(Sumber : Wibowo & Anisyah, 2024)

Tanaman beluntas (*Pluchea indica* L. Less) memiliki kandungan kimia salah satunya adalah flavonoid di dalam daun beluntas yang membuat daun ini memiliki aktivitas antibakteri terhadap gram positif (Yuliani *et al.*, 2017). Tanaman beluntas memiliki manfaat pada setiap bagian, antara lain daunnya yang berfungsi sebagai penambah nafsu makan, antipiretik, pelancar pencernaan, *deodorant*, obat diare, antitusif, dan pelembab. Bagian akar dan batang digunakan sebagai astringen, antipiretik, obat batu ginjal, wasir, keputihan, radang, dan sakit pinggang (Ibrahim *et al.*, 2022).

Taksonomi beluntas (*Pluchea indica* L. Less) menurut (Fitriansyah, 2018) memiliki klasifikasi sebagai berikut :

Tabel 2. 1 Klasifikasi Beluntas (*Pluchea indica* L. Less)

Kingdom	Plantae
Super Divisi	Spermatophyta
Divisi	Magniliophyta

Kelas	Magnoliopsida
Sub Kelas	Asteridae
Ordo	Asterales
Famili	Asteraceae
Genus	<i>Pluchea</i>
Spesies	<i>Pluchea indica</i>

2.1.1 Kandungan Senyawa Daun Beluntas

Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam daun beluntas menjadi faktor yang mempengaruhi aktivitas antibakteri seperti alkaloid, flavonoid, terpenoid, tanin, dan saponin. Menurut Nor *et al.*, 2022; Setiawan *et al.*, 2023 skrining fitokimia yang dilakukan terhadap ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica* L. Less) memperoleh hasil skrining fitokimia yang ditunjukkan pada tabel berikut :

Tabel 2. 2 Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Beluntas

Kandungan Golongan Senyawa	Pereaksi	Hasil	Notasi
		Pengamatan Sampel Ekstrak Etanol	
Alkaloid	<i>Dragendorff</i>	Endapan berwarna jingga	+
	<i>Mayer</i>	Endapan berwarna kuning	+
Flavonoid	Logam Mg + HCl pekat	Perubahan warna menjadi merah atau jingga	+

Terpenoid/steroid	<i>Lieberman-Bauchard</i>	Terbentuk cincin berwarna hijau kebiruan	+
Tanin	FeCl ₃	Terbentuk warna hijau kehitaman	+
Saponin	Air panas + HCl 2N	Terbentuk busa yang stabil	+

Keterangan : (+) Ada gol. senyawa; (-) Tidak ada gol. senyawa

Keberadaan alkaloid dalam daun beluntas sebagai antibakteri karena alkaloid mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada dinding sel bakteri yang menyebabkan lapisan dinding sel rusak dan menyebabkan kerusakan hingga kematian sel (Chiangnoon *et al.*, 2022; Maisarah *et al.*, 2022; Nor *et al.*, 2022).

Flavonoid berperan dalam merusak permeabilitas membran sel, di samping itu flavonoid juga memiliki kemampuan untuk berinteraksi dengan materi genetik bakteri. Ion hidroksil yang terdapat dalam flavonoid secara kimia mengubah senyawa organik serta mendukung transportasi nutrisi, yang berujung pada efek toksik pada bakteri, variasi kepolaran antara flavonoid dan lipid yang menyusun DNA bakteri berdampak pada proses lisis dan kematian sel (Nor *et al.*, 2022).

Golongan steroid dan minyak atsiri dapat melarutkan fosfolipid yang merupakan komponen utama membran sel, proses ini menyebabkan sel rapuh dan lisis (Mughtaridi, 2016; Nola *et al.*, 2021). Senyawa tanin mampu mengecilkan dinding sel dan mengganggu permeabilitas dari sel bakteri, sedangkan saponin bekerja dengan mengganggu permeabilitas dinding sel bakteri sehingga sel akan mengalami lisis dan kemudian terjadi pelepasan protein, asam nukleat dan lainnya (Nor *et al.*, 2022).

2.2 Sirih Cina (*Peperomia pellucida* L.)

Tanaman sirih cina (*Peperomia pellucida* L.) merupakan tumbuhan herba merambat yang tergolong dalam keluarga *Piperaceae* berasal dari Amerika Tengah, Amerika Selatan dan juga ditemukan di Asia Tenggara. Tanaman ini merupakan

gulma liar yang dianggap cukup mengganggu, namun memiliki banyak khasiat untuk kesehatan dan banyak digunakan sebagai obat herbal di daerah tropis, di Indonesia terutama di daerah Sumatra dan Kalimantan, daun sirih cina digunakan dalam ritual adat dan pernikahan. Sajian sirih cina dalam acara adat dan pernikahan berisi bahan-bahan pendamping seperti kapur, gambir, pinang, dan tembakau yang dimasukkan ke dalam daun sirih cina dan kemudian dilipat menjadi bentuk khusus. Selain itu, di Indonesia, daun sirih cina sering digunakan sebagai obat kumur alami dalam mengatasi masalah mulut dan tenggorokan, seperti sariawan dan gusi berdarah. Daun sirih cina juga dapat meredakan batuk dan sesak napas, dan beberapa penelitian modern menunjukkan bahwa daun sirih cina mengandung senyawa antimikroba dan anti-inflmasi (Rizqia, 2023).

Tanaman sirih cina biasanya tumbuh di lokasi dengan tingkat kelembapan yang tinggi, menyukai iklim tropis dengan suhu hangat yang konsisten sepanjang tahun dengan suhu optimal pertumbuhan berkisar antara 20° - 30° C dan dengan pencahayaan sekitar 70 – 80%, menyukai tanah yang subur dan bisa tumbuh di berbagai jenis tanah, terdrainase dengan baik dan pH sekitar 5,5 – 6,5 sedikit asam hingga netral, tanaman ini juga dapat tumbuh di tanah yang berbatu dan berpasir (Rizqia, 2023). Sirih cina tumbuh dengan baik di wilayah dengan curah hujan hingga 3.000 mm/th, dengan ketinggian 500 – 1.200 mdpl, jenis tanah andosol dan latosol dengan kandungan bahan organik hingga 5% tanpa naungan. Tanaman sirih cina memiliki struktur yang khas dan mudah dikenali, seperti pada akarnya yang memiliki fungsi utama untuk menyerap air dan nutrisi dari tanah. Akar tanaman sirih cina pada saat proses penyerapan dibantu oleh mikoriza, yaitu jamur yang membantu dalam penyerapan air dan nutrisi. Batang sirih cina dapat merambat hingga panjang 15 meter atau bahkan lebih. Batangnya memiliki warna yang bervariasi, dari hijau muda hingga merah muda, tergantung pada varietas dan kondisi lingkungan pertumbuhan tumbuhan. Tanaman ini memiliki bentuk daun yang unik yakni berbentuk hati dengan ujung lancip, bunga berbentuk bulir dengan panjang sekitar 1 cm sampai 6 cm. Tanaman ini memiliki tinggi 10 – 20 cm dengan batang tegak, lunak dan berwarna hijau muda. Daun tunggal dengan kedudukan spiral, bentuk lonjong, panjang 5 - 15 cm, lebar 3 - 10 cm, ujungnya runcing,

pangkal bertoreh, tepi rata, pertulangan melengkung, permukaan licin, lunak, dan berwarna hijau. Bunga majemuk, berbentuk bulir, terletak diujung batang atau di axila daun, panjang bulir 2 - 3 cm, bunganya tidak memiliki kelopak dan mahkota seperti pada umumnya, bunga jantan dan bunga betina terpisah tetapi berada dalam satu malai yang sama, tangkai lunak, berwarna putih. Buah sirih cina berbentuk bulat atau oval dan memiliki diameter sekitar 1 cm. Buah ini memiliki warna yang bervariasi, mulai dari hijau ketika muda hingga merah atau hitam saat matang. Buah sirih cina biasanya mengandung satu biji. Struktur tanaman daun sirih cina memiliki peran penting dalam kehidupan tanaman, mulai dari proses penyerapan air dan nutrisi, pertumbuhan, hingga reproduksi, terutama pada daunnya yang memiliki sifat sebagai agen antibakteri terhadap bakteri penyebab jerawat (Andriani *et al.*, 2022; Permadani *et al.*, 2024; Rizqia, 2023)



Gambar 2. 2 Tanaman Sirih Cina (*Peperomia pellucida* L.)
(Sumber : Rizqia, 2023)

Sirih cina (*Peperomia pellucida* L.) telah digunakan secara tradisional pada bagian daun. Daun sirih cina berfungsi sebagai obat untuk berbagai kondisi kulit seperti bisul, jerawat, dan iritasi, serta untuk penyakit ginjal dan nyeri perut. Dikenal memiliki kemampuan sebagai antibakteri, analgesik, antipiretik, antiinflamasi, hipoglikemik, antijamur, antimikroba, antikanker, antioksidan, antidiabetik, dan antihipertensi. Kandungan kimia dalam sirih cina termasuk

alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid, glikosida, dan triterpenoid (Mauludiyah *et al.*, 2024).

Taksonomi sirih cina (*Peperomia pellucida* L.) menurut (Permadani *et al.*, 2024) memiliki klasifikasi sebagai berikut :

Tabel 2. 3 Klasifikasi Sirih Cina (*Peperomia pellucida* L.)

Kingdom	Plantae
Sub kingdom	Tracheobionta
Super divisi	Spermatophyta
Divisi	Magnoliophyta
Kelas	Magnoliopsida
Sub kelas	Magnolidae
Ordo	Piperales
Famili	Piperaceae
Genus	<i>Peperomia</i>
Spesies	<i>Peperomia pellucida</i> L.

2.1.2 Kandungan Senyawa Daun Sirih Cina

Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam daun sirih cina menjadi faktor yang mempengaruhi aktivitas antibakteri seperti alkaloid, flavonoid, terpenoid, tanin, dan saponin. Menurut (Ratnasari *et al.*, 2023) skrining fitokimia yang dilakukan terhadap simplisia daun sirih cina (*Peperomia pellucida* L.) memperoleh hasil skrining fitokimia yang ditunjukkan pada tabel berikut :

Tabel 2. 4 Skrining Fitokimia Simplisia Daun Sirih Cina

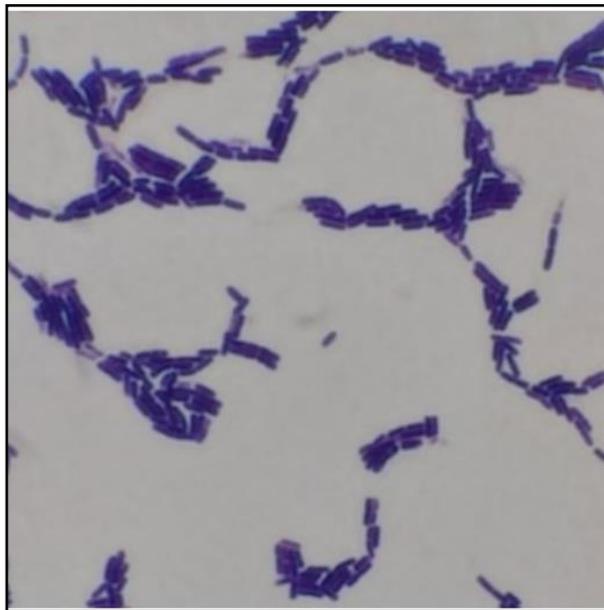
Kandungan	Hasil Pengamatan		
Golongan Senyawa	Pereaksi	Sampel Ekstrak Etanol	Notasi
Alkaloid	<i>Dragendorff</i>	Endapan berwarna jingga	+
	<i>Mayer</i>	Endapan berwarna putih	-
	Wagner	Endapan berwarna coklat kemerahan	+
Flavonoid	Logam Mg + HCl pekat	Perubahan warna menjadi merah atau jingga	+
Terpenoid/steroid	<i>Lieberman-Bauchard</i>	Terbentuk cincin berwarna hijau kebiruan	-
Tanin	FeCl ₃	Terbentuk warna hijau kehitaman	+
Saponin	Air panas + HCl 2N	Terbentuk busa yang stabil	+

Keterangan : (+) Ada gol. senyawa; (-) Tidak ada gol. Senyawa

Ekstrak daun sirih cina diketahui mengandung senyawa kimia golongan glikosida, flavonoid, tanin dan steroid/triterpenoid. Flavonoid memiliki kecenderungan mengikat protein sehingga dapat mengganggu proses metabolisme bakteri. Pada konsentrasi rendah, tanin berfungsi sebagai bakteriostatik, sedangkan pada konsentrasi tinggi, tanin berfungsi sebagai antimikroba dengan cara mengkoagulasi protoplasma bakteri sehingga terbentuk ikatan yang stabil dengan protein bakteri (Yuliani *et al.*, 2022).

2.3 *Propionibacterium acnes*

Propionibacterium acnes merupakan golongan bakteri gram positif pleomorfik yang dapat tumbuh secara anaerob fakultatif (tanpa oksigen) dengan waktu pertumbuhannya yang cenderung lebih lambat. Karakteristik dari bakteri *Propionibacterium acnes* dapat dilihat dari pewarnaan gram positifnya yaitu bakteri berwarna ungu, permukaan halus, berbentuk batang atau basil yang memiliki panjang dengan ujung melengkung, dengan pewarnaan yang tidak rata dan bermanik-manik, bakteri ini memiliki lebar 0,5 – 0,8 nm dan tinggi 3 – 4 nm dan terkadang berbentuk bulat atau kokoid, beberapa bersifat patogen untuk hewan dan tanaman juga tidak bersifat toksinogenik. Habitat utama bakteri *Propionibacterium acnes* umumnya ditemukan di folikel sebacea di kulit, selain di kulit *Propionibacterium acnes* juga hidup di saluran pernafasan bagian atas, usus besar, paru-paru, konjungtiva, dan uretra (Damayanti Maya, 2014; Pariury *et al.*, 2021).



Gambar 2. 3 Bakteri *Propionibacterium acnes*

Sumber: (Wulandari *et al.*, 2024)

Klasifikasi bakteri *Propionibacterium acnes* menurut (Pariury *et al.*, 2021) adalah sebagai berikut :

Tabel 2. 5 Klasifikasi bakteri *Propionibacterium acnes*

Divisi	Actinobacteria
Kelas	Actinobacteridae
Ordo	Actinomycetales
Marga	Propionibacteriaceae
Genus	<i>Propionibacterium</i>
Spesies	<i>Propionibacterium acnes</i>

Salah satu penyebab jerawat adalah akibat dari aktivitas dari kolonisasi bakteri *Propionibacterium acnes* yang mengekskresikan beberapa enzim lipase yaitu GehA yang berperan dalam mehidrolisis sebum. Sebum merupakan minyak yang dihasilkan oleh kelenjar sebacea dan dikeluarkan oleh pori-pori kulit. Ketika sebum dihidrolisis, trigliserida yang merupakan salah satu komponennya akan dipecah sehingga menghasilkan asam lemak bebas yang kemudian menstimulasi pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang berperan merusak sel keratinosit dan akan merilis sel-sel inflamasi yang akan menyebabkan terbentuknya jerawat (Pariury *et al.*, 2021).

2.4 Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu metode yang digunakan dalam proses pemisahan suatu komponen dari campurannya dengan menggunakan sejumlah pelarut sebagai pemisahannya. Pengertian lain menyebutkan bahwa ekstraksi merupakan salah satu teknik pemisahan kimia untuk memisahkan atau menarik satu atau lebih komponen atau senyawa-senyawa dari suatu sampel dengan menggunakan pelarut tertentu yang sesuai (Hujjatusnaini *et al.*, 2021).

Tujuan dari proses ekstraksi adalah untuk mengambil atau memisahkan senyawa dari campurannya atau simplisia. Ada berbagai metode ekstraksi yang sudah dikenal, di mana setiap metode memiliki kelebihan dan kekurangan tersendiri.

Pemilihan teknik dilakukan dengan mempertimbangkan antara lain karakteristik senyawa, pelarut yang digunakan, dan alat yang tersedia. Struktur untuk setiap senyawa, suhu, dan tekanan adalah faktor-faktor penting yang perlu diperhatikan selama ekstraksi (Hujjatusnaini *et al.*, 2021).

Menurut (Maskura *et al.*, 2023) pelarut etanol 70% merupakan pelarut yang lebih polar dibanding dengan pelarut etanol 96%. Semakin tinggi konsentrasi etanol maka semakin rendah tingkat kepolaran pelarutnya. Penggunaan pada pelarut etanol dengan konsentrasi lebih dari 70% akan mengakibatkan penurunan kadar total flavonoid, yang dimana metabolit sekunder flavonoid pada penelitian ini digunakan sebagai zat aktif antibakteri. Etanol yang memiliki gugus OH (gugus hidroksil) yang dapat membentuk suatu ikatan hidrogen dengan gugus hidroksi (OH) dari senyawa flavonoid sehingga mampu menyebabkan peningkatan kelarutan senyawa flavonoid dalam etanol, alasan inilah yang menjadi dasar pemilihan pelarut etanol 70% karena tingkat kepolarannya yang tinggi dibandingkan dengan pelarut etanol 96%.

Etanol 70% sendiri merupakan pelarut yang paling umum digunakan, bersifat polar, selektif, tidak toksik, memiliki kemampuan menyari dengan baik dan dapat menyari senyawa yang memiliki sifat polar, semi polar maupun non polar. Hal ini memperkuat pemilihan etanol 70% sebagai pelarut dengan tingkat polaritas yang lebih tinggi dari etanol 96% yang mampu berpenetrasi hingga ke dinding sel sampel dibandingkan dengan jenis pelarut organik lainnya, karena konsentrasinya 70% dan memiliki titik didih yang rendah yaitu 79°C maka dalam proses pemekatan membutuhkan suhu panas yang lebih sedikit. Beberapa metode ekstraksi yang sering diterapkan mencakup : maserasi, perkolasi, refluks, soxhletasi, infusi, dekok, distilasi, *countercurrent*, ultrasonik, serta *microwave-assisted extraction* (MAE), selain itu terdapat juga ekstraksi gas superkritis atau *supercritical gas extraction* (SGE) (Hasanah, 2020; Hujjatusnaini *et al.*, 2021).

Maserasi merupakan suatu metode ekstraksi simplisia yang diterapkan pada bahan atau simplisia yang tidak tahan terhadap panas, dengan cara merendamnya dalam pelarut tertentu selama periode waktu tertentu. Proses maserasi dilakukan pada suhu ruangan yang berkisar antara 20 - 30° C untuk menghindari penguapan

pelarut yang berlebihan akibat suhu yang tinggi dan diiringi dengan pengadukan selama 15 menit agar bahan dan pelarut dapat bersatu. Proses ini melibatkan perendaman serbuk simplisia dalam cairan penyari, di mana cairan penyari akan memasuki dinding sel dan menjangkau rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif ini akan terlarut karena perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif yang ada di dalam sel dan di luar sel, sehingga larutan yang pekat terdorong keluar. Proses ini berlangsung berulang kali sehingga menciptakan keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel (Hujjatusnaini *et al.*, 2021).

2.5 Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri merupakan metode dalam mengukur besar konsentrasi suatu senyawa yang dapat memberikan efek berupa daya hambat pada mikroorganisme yang diuji. Antibakteri memiliki sifat toksisitas selektif yaitu bersifat membunuh bakteri disebut bakterisidal (*radical*) dan bersifat menghambat pertumbuhan bakteri disebut bakteristatik (*irradical*). Zona bakterisidal merupakan zona bening di sekitar kertas cakram yang tidak ditemukan pertumbuhan bakteri sama sekali karena sifatnya yang membunuh bakteri, sedangkan pada zona bakteristatik merupakan zona bening yang masih terdapat bakteri di sekitar kertas cakram karena sifatnya yang hanya menghambat pertumbuhan bakteri (Ishimora *et al.*, 2023).

Sebelum melakukan pengujian aktivitas antibakteri, hal pertama yang akan dilakukan adalah mensterilkan alat dan bahan yang akan digunakan. Sterilisasi adalah proses atau kerja untuk membebaskan suatu bahan seperti media pertumbuhan mikroba ataupun peralatan laboratorium dari semua bentuk kehidupan. Sterilisasi merupakan suatu proses untuk membunuh semua jasad renik yang ada, sehingga jika ditumbuhkan di dalam suatu media tidak ada lagi jasad renik yang dapat berkembang biak. Sterilisasi harus bisa membunuh jasad renik yang paling tahan panas seperti spora bakteri. Praktek sterilisasi media dan alat - alat secara umum dapat dilakukan secara fisik (misalnya pemanasan, pembekuan, pengeringan, liofilisasi, radiasi), secara kimiawi (misalnya antiseptik, disinfektan), secara biologis (dengan antibiotika). Sterilisasi dengan antibiotika tidak umum

digunakan tetapi lebih banyak digunakan untuk tujuan kemoterapi atau sebagai pengobatan. Pemilihan cara sterilisasi yang akan dipakai tergantung dari beberapa hal misalnya macam bahan dan alat yang akan disterilkan, ketahanan terhadap panas, dan bentuk bahan yang disterilkan seperti padat, cair, atau berbentuk gas (Wardani, 2021).

Media pertumbuhan bakteri merupakan suatu substansi yang tersusun atas campuran dari unsur hara atau nutrisi sebagai tempat pertumbuhan dan perkembangbiakan bakteri. Media berfungsi untuk menumbuhkan mikroba, isolasi, memperbanyak jumlah, menguji sifat-sifat fisiologi dan perhitungan jumlah mikroba, dimana dalam proses pembuatannya harus disterilisasi dan menerapkan metode aseptis untuk menghindari kontaminasi pada media (Wardani, 2021). Pada umumnya, suatu media mengandung ekstrak daging dan pepton sebagai sumber nitrogen serta polisakarida sebagai sumber karbon, garam mineral, vitamin dan faktor pertumbuhan. Salah satu media yang mengandung komposisi karbohidrat dan protein yang berasal dari ekstrak daging dan pepton adalah media *Nutrient Agar* (NA) yang pada penelitian ini digunakan sebagai media peremajaan bakteri (Maharani *et al.*, 2023). *Nutrient Agar* (NA) juga digunakan untuk pertumbuhan mayoritas dari mikroorganisme yang tidak selektif, dalam artian mikroorganisme heterotrof. Adapun media *Mueller Hinton Agar* (MHA) yang direkomendasikan oleh FDA dan WHO sebagai media uji antibakteri terutama bakteri aerob dan bakteri fakultatif anaerob untuk makanan dan media klinis. Media *Mueller Hinton Agar* (MHA) mengandung komposisi sulfonamida, trimetoprim, dan inhibitor tetrasiklin yang rendah serta memberikan pertumbuhan patogen yang maksimal. Sumber nitrogen, vitamin, karbon, dan asam amino dari media *Mueller Hinton Agar* (MHA) berupa *beef extract* dan asam kasein hydrolysate. Kandungan pati di dalam *Mueller Hinton Agar* (MHA) akan menyerap zat racun yang timbul selama pertumbuhan, konsentrasi agar dari *Mueller Hinton Agar* (MHA) membuat proses difusi menjadi lebih baik dibandingkan dengan media yang lain (Marliana *et al.*, 2022).

Pemindahan bakteri dari media lama ke media yang baru atau dikenal dengan istilah inokulasi bakteri ini memerlukan banyak ketelitian.

Sebelum melakukan pembuatan media dan proses pengenceran inokulum, seluruh peralatan yang digunakan harus dipastikan dalam kondisi steril guna mencegah terjadinya kontaminasi silang, yaitu masuknya mikroba lain yang tidak diinginkan sehingga biakan yang tumbuh didalam media adalah benar-benar biakan murni. Dalam keadaan yang sebenarnya dapat dikatakan bahwa tidak ada bakteri hidup secara tersendiri terlepas dari spesies yang lainnya. Kerap kali bakteri pathogen kedapatan bersama – sama dengan bakteri saproba. Untuk menyendirikan suatu spesies dikenal dengan beberapa cara, yaitu :

1. Pengenceran, cara ini pertama kali dilakukan oleh Lister pada tahun 1865. Ia berhasil memelihara *Streptococcus lactis* dalam piaraan murni yang diisolasi dalam sampel susu yang sudah masam. Suatu sampel dari suatu suspensi yang berupa campuran bermacam – macam spesies diencerkan dalam suatu tabung yang tersendiri. Dari hasil pengenceran ini kemudian diambil kira – kira 1 mL untuk diencerkan lebih lanjut. Jika dari pengenceran yang ketiga ini diambil 0,1 mL untuk disebarkan pada suatu media padat, kemungkinan besar akan didapatkan beberapa koloni yang akan tumbuh dalam media tersebut, akan tetapi mungkin juga hanya akan memperoleh satu koloni saja. Dalam hal yang demikian ini dapat dijadikan piaraan murni. Jika belum yakin bahwa koloni tunggal yang dieproleh tersebut merupakan koloni yang murni, maka dapat mengulang pengenceran dengan menggunakan koloni sebagai sampel.
2. Penuangan, Robert Koche (1843 – 1905) memiliki metode lain, yaitu dengan mengambil sedikit sampel campuran bakteri yang mudah diencerkan dan sampel ini kemudian disebarkan di dalam suatu media yang terbuat dari kaldu dan gelatin encer. Dengan demikian akan diperoleh suatu piaraan adukan. Setelah media tersebut mengental, maka selang beberapa jam kemudian akan tampak koloni – koloni yang masing – masing dapat dianggap murni. Dengan mengulang pekerjaan diatas maka akan diperoleh piaraan murni yang lebih terjamin.

Terdapat beberapa metode yang biasanya digunakan dalam menanam biakan didalam media, antara lain metode cawan gores dan metode cawan tuang. Metode

cawan gores memiliki dua keuntungan yaitu menghemat bahan dan waktu, namun untuk memperoleh hasil yang baik diperlukan keterampilan dan memiliki banyak pengalaman dalam melakukannya. Metode cawan gores yang dilakukan dengan baik kebanyakan akan menyebabkan terisolasinya mikroorganisme yang diinginkan. Dua macam kesalahan yang umum dilakukan adalah tidak memanfaatkan permukaan media dengan maksimal dalam melakukan penggoresan sehingga pengenceran mikroorganisme menjadi kurang larut dan cenderung menggunakan inokulum terlalu banyak sehingga menyulitkan pada saat pemisahan sel – sel hasil goresan. Metode cawan tuang, dilakukan dengan cara mengencerkan koloni bakteri dalam media agar yang telah dicairkan dan didinginkan yang kemudian dituang dalam cawan, karena konsentrasi sel – sel mikroba di dalam koloni sebelumnya tidak diketahui, maka pengenceran perlu dilakukan beberapa tahap sehingga sekurang – kurangnya satu diantara cawan – cawan tersebut mengandung koloni – koloni terpisah diatas permukaan maupun didalam agar. Metode ini memboroskan waktu dan bahan, namun tidak memerlukan keterampilan dan pengalaman yang tinggi (Wardani, 2021).

Pertumbuhan pada bakteri didefinisikan sebagai pertumbuhan berat sel. Karena berat sel relatif sama pada setiap siklus sel, maka pertumbuhan dapat di definisikan sebagai pertambahan jumlah sel. Mempelajari pertumbuhan bakteri merupakan faktor terpenting dalam mengetahui beberapa aspek fisiologi suatu bakteri. Pertumbuhan bakteri dapat diukur dengan dua cara yaitu secara langsung dan tidak langsung. Pengukuran pertumbuhan bakteri secara langsung dapat dilakukan dengan metode total count, turbidimetri, berat kering, *electronic counter*, *plating technique*, dan filtrasi membran. Sedangkan pengukuran pertumbuhan bakteri secara tidak langsung dapat dilakukan dengan metode *viable count*, aktivitas metabolik dan berat sel kering (Wardani, 2021).

Fase dalam pertumbuhan bakteri menurut (Wardani, 2021) dapat dibagi menjadi empat fase, yaitu fase adaptasi (*lag phase*), fase perbanyakan (*log/exponential phase*), fase statis (*stationer phase*), dan fase kematian (*death phase*).

1. Fase Adaptasi (*Lag Phase*)

Pada fase ini tidak ada penambahan populasi. Sel mengalami perubahan dalam komposisi kimiawi dan bertambah ukurannya, substansi intraseluler bertambah. Ketika sel dalam fase statis dipindahkan ke media baru, sel akan melakukan proses adaptasi. Proses adaptasi meliputi sintesis enzim baru yang sesuai dengan medianya dan pemulihan terhadap metabolit yang bersifat toksik (misalnya asam, alkohol, dan basa) pada media lama. Pada fase adaptasi tidak dijumpai penambahan jumlah sel. Akan tetapi terjadi penambahan volume sel karena fase statis, sel melakukan pengecilan ukuran sel. Akan tetapi, fase adaptasi dapat dihindari (langsung ke fase perbanyakan), jika sel pada media lama dalam kondisi fase perbanyakan dan dipindahkan ke media baru yang sama komposisinya dengan media lama.

2. Fase Perbanyakan (*Log or Exponential Phase*)

Pada fase ini pembiakan bakteri berlangsung paling cepat. Jika ingin menggandakan piaraan yang cepat tumbuh, maka bakteri dalam fase ini lebih baik dijadikan sebagai inokulum. Sel akan membelah dengan laju yang konstan massa menjadi dua kali lipat dengan laju yang sama, aktivitas metabolit konstan dan keadaan pertumbuhannya, sel melakukan pembelahan. Karena pembelahan sel merupakan persamaan eksponensial, maka fase itu disebut juga fase eksponensial. Pada fase perbanyakan jumlah sel meningkat pada batas tertentu (tidak terdapat pertumbuhan bersih jumlah sel), sehingga memasuki fase statis. Pada fase perbanyakan sel melakukan konsumsi nutrisi dan proses fisiologis lainnya. Pada fase itu produk senyawa yang diinginkan oleh manusia terbentuk, karena senyawa terbentuk merupakan senyawa yang diinginkan pada fase perbanyakan adalah etanol, asam laktat dan asam organik lainnya.

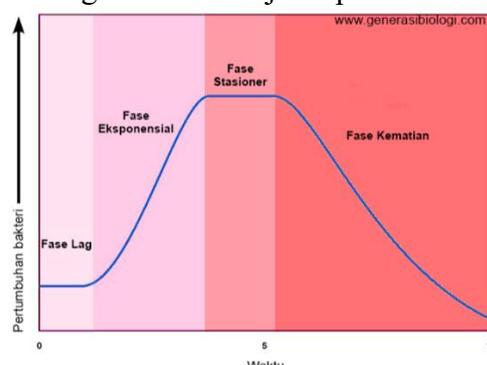
3. Fase Statis (*Stationer Phase*)

Pada fase ini terjadi penumpukan produk beracun karena bakteri kehabisan nutrisi yang ada pada media. Beberapa sel mati sedangkan yang lain tumbuh dan membelah. Jumlah sel hidup menjadi tetap. Fase ini

menunjukkan jumlah bakteri yang berbiak sama dengan jumlah bakteri yang mati, sehingga kurva menunjukkan garis yang hampir horizontal. Alasan bakteri tidak melakukan pembelahan sel pada fase statis bermacam – macam. Beberapa alasan yang dapat dikemukakan adalah karena nutrisi habis, akumulasi metabolit toksik (misalnya alkohol, asam, dan basa), penurunan kadar oksigen, penurunan nilai ketersediaan air. Bentuk kasus kedua dijumpai pada fase fermentasi alkohol dan asam laktat, untuk kasus ketiga dijumpai pada bakteri aerob dan untuk kasus keempat dijumpai pada fungi/jamur. Pada fase statis biasanya sel melakukan adaptasi terhadap kondisi yang kurang menguntungkan. Adaptasi ini dapat menghasilkan senyawa yang diinginkan manusia misalnya sebagai antibiotika dan antioksidan.

4. Fase Kematian (*Death Phase*)

Pada fase ini sel menjadi sel mati lebih cepat dari pada terbentuknya sel – sel baru, laju kematian mengalami percepatan menjadi eksponensial bergantung pada spesiesnya, semua sel mati dalam waktu beberapa hari atau beberapa bulan. Penyebab utama kematian adalah autolisis sel dan penurunan energi seluler. Beberapa bakteri hanya mampu bertahan beberapa jam selama fase statis dan akhirnya masuk ke dalam fase kematian, sementara itu beberapa bakteri hanya mampu bertahan sampai harian dan mingguan pada fase statis dan akhirnya masuk ke fase kematian. Beberapa bakteri bahkan mampu bertahan sampai puluhan tahun sebelum mati, yaitu dengan mengubah sel menjadi spora.

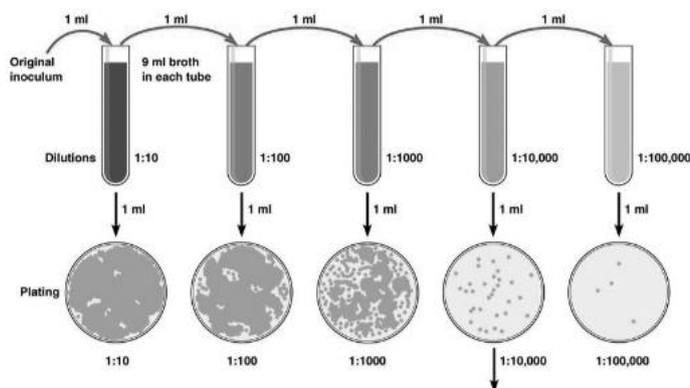


Gambar 2. 4 Fase Pertumbuhan Mikroorganisme
Sumber: (Wardani, 2021)

Suatu bakteri atau mikroorganisme dapat diukur melalui perubahan konsentrasi sel atau jumlah setiap sel atau destilasi sel, yakni berat kering sel. Pengukuran tersebut dapat dilakukan melalui dua metode yakni pengukuran langsung dan pengukuran tidak langsung. Menurut (Rahmawati, 2020; Wardani, 2021) pertumbuhan mikroorganisme secara langsung dapat dilakukan dengan beberapa cara antara lain :

1. Metode total *count*

Pada metode ini sampel ditaruh di suatu ruang hitung (seperti hemasitometer) dan jumlah sel dapat ditentukan secara langsung dengan bantuan mikroskop. Jika setetes kultur dimasukkan ke dalam wadah misalnya seperti hemasitometer yang diketahui volumenya, maka jumlah sel yang dapat dihitung. Akan tetapi cara tersebut memiliki keterbatasan, yaitu tidak dapat digunakan pada jumlah sel yang sangat sedikit (kurang dari 10^2 sel/mL). Kelemahan lainnya ialah sulitnya menghitung sel yang berukuran sangat kecil seperti bakteri karena kekebalan hemositometer tidak memungkinkan digunakannya lensa objektif celup minyak. Hal ini dibatasi dengan cara mencernai sel sehingga menjadi lebih mudah dilihat. Kelemahan lain lagi adalah kadang – kadang cenderung bergerombol sehingga sukar membedakan sel – sel yang individu. Cara mengatasinya adalah dengan memisahkan gerombolan koloni dengan menambahkan dinatrium etilanadiamina tetra asetat dan tween 80 sebanyak 0,1%. Keuntungan metode ini ialah pelaksanaannya cepat dan tidak memerlukan banyak peralatan.



Gambar 2. 5 Metode Total Count
Sumber: (Cappuccino, *et al*, 1987)

2. Metode turbidimetri

Metode ini digunakan untuk mengukur kekeruhan atau kepadatan optik larutan bakteri, yang berbanding lurus dengan jumlah bakteri dalam suspensi tersebut, turbidimetri merupakan metode yang relatif cepat dan mudah untuk dilakukan dibandingkan dengan metode perhitungan bakteri langsung seperti metode *plating*. Turbidimetri mengukur seberapa banyak cahaya yang melewati suspensi bakteri. Semakin banyak bakteri dalam suspensi, semakin sedikit cahaya yang dapat menembusnya, sehingga absorbansi akan meningkat. Alat yang digunakan dalam turbidimetri adalah spektrofotometer. Spektrofotometer memancarkan cahaya melalui suspensi bakteri dan mengukur absorbansi cahaya yang tersisa.

3. Metode berat kering

Cara yang paling cepat mengukur jumlah sel adalah metode berat kering. Metode tersebut relatif mudah dilakukan, yaitu kultur disentrifugasi kemudian bagian yang disaring atau yang mengendap hasil sentrifugasi dikeringkan. Pada metode ini juga tidak dapat membedakan sel yang hidup dan mati. Akan tetapi keterbatasan itu tidak mengurangi manfaat metode tersebut dalam hal mengukur efisiensi fermentasi, karena pertumbuhan diukur dengan satuan berat, sehingga dapat diperhitungkan dengan parameter konsumsi substrat dan produksi senyawa yang diinginkan.

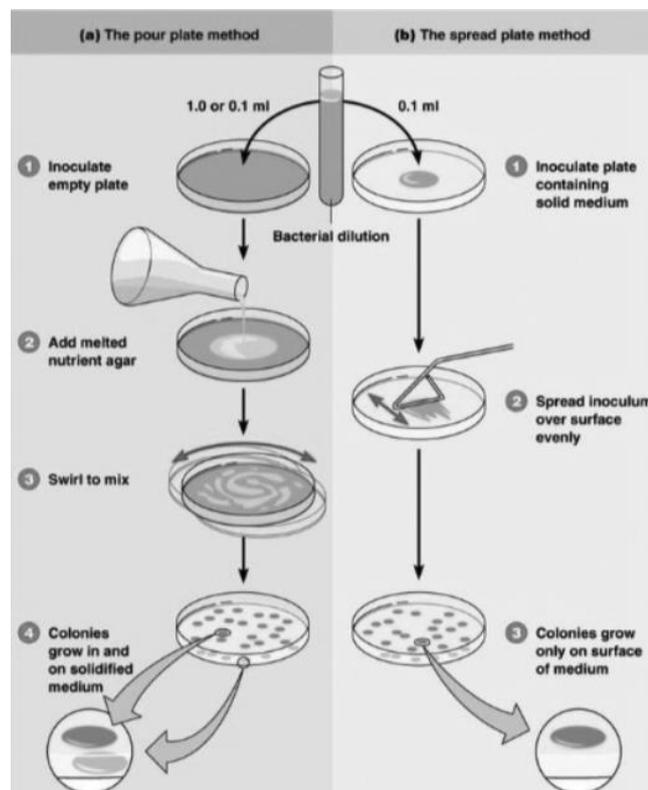
4. Metode *electronic counter*

Pada pengukuran ini, suspensi mikroorganisme dialirkan melalui lubang kecil (*orifice*) dengan bantuan aliran listrik. Elektroda yang ditempatkan pada dua sisi *orifice* mengukur tekanan listrik ditandai dengan naiknya tekanan pada saat bakteri melalui *orifice*. Pada saat inilah sel terhitung. Keuntungan metode ini adalah hasil dapat diperoleh dengan lebih cepat dan lebih akurat, serta dapat menghitung sel dengan ukuran besar. Kerugian dari metode ini adalah tidak bisa digunakan

untuk menghitung bakteri karena adanya gangguan derbit, filamen, dan sebagainya, serta tidak dapat membedakan antara sel hidup dan sel mati.

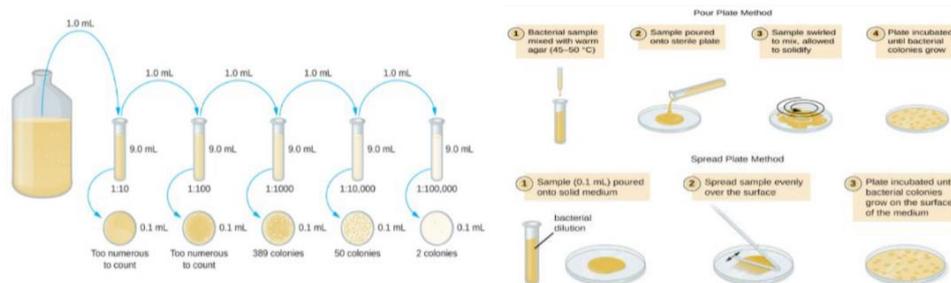
5. Metode *plating technique*

Metode ini merupakan metode perhitungan jumlah sel tampak (*visible*) dan didasarkan pada asumsi bahwa bakteri hidup akan tumbuh, membelah dan memproduksi satu koloni tunggal. Satuan perhitungan yang dipakai adalah CFU (*Colony Forming Unit*) dengan cara membuat seri pengenceran sampel dan menumbuhkan sampel pada media padat. Pengukuran dilakukan pada plat dengan jumlah koloni berkisar 25 – 250 atau 30 – 300. Keuntungan metode ini adalah sederhana, mudah dan sensitif karena menggunakan *colony counter* sebagai alat hitung yang dapat digunakan untuk menghitung mikroorganisme pada sampel makanan, air ataupun tanah. Kerugiannya adalah harus menggunakan media yang sesuai dan perhitungannya yang kurang akurat karena satu koloni tidak selalu berasal dari satu individu sel.



Gambar 2. 6 Metode Plating Count
Sumber: (Black, 2012)

Pengenceran serial (*Serial Dilution*) merupakan langkah pertama yang penting dilakukan sebelum melanjutkan ke metode cawan tuang atau cawan sebar. Tujuan dari proses pengenceran serial adalah untuk mendapatkan cawan dengan CFU dalam kisaran 30 – 300 koloni, dan proses ini biasanya melibatkan beberapa pengenceran dengan kelipatan 10 untuk menyederhanakan perhitungan. Jumlah pengenceran serial dipilih sesuai dengan perkiraan awal kepadatan kultur. Gambar 2.7 mengilustrasikan metode serial pengenceran.



Gambar 2. 7 Metode serial pengenceran, teknik cawan tuang dan teknik cawan sebar (Parker *et al.*, 2021).

6. Metode filtrasi membran

Pada metode ini sampel dialirkan pada suatu sistem filter membran dengan bantuan vacuum. Bakteri yang terperangkap selanjutnya ditumbuhkan pada media yang sesuai dan jumlah koloni dihitung. Keuntungan metode ini adalah dapat menghitung sel hidup dan sistem perhitungannya langsung, sedangkan kerugiannya adalah tidak ekonomis.

Metode pengukuran pertumbuhan mikroorganisme secara tidak langsung menurut (Rahmawati, 2020; Wardani, 2021) dapat dilakukan dengan beberapa metode sebagai berikut :

1. Metode *viable count*

Kultur diencerkan sampai batas yang diinginkan. Kultur encer ditumbuhkan kembali pada media, sehingga diharapkan setiap sel tumbuh menjadi 1 koloni beberapa saat berikutnya, normalnya 4 – 12 jam. Akan tetapi cara ini memiliki keterbatasan, yaitu jumlah sel terhitung biasanya

lebih dari sebenarnya, kemungkinan besar 1 koloni dapat berasal dari 2 sel dan tidak dapat diaplikasikan pada bakteri yang tumbuh lambat. Pada metode tersebut yang perlu diperhatikan adalah jumlah sel bakteri harus mendekati kelipatan 10 pada setiap pengencerannya. Jika tidak maka pengenceran dianggap gagal. Misalnya cawan yang dapat dihitung jumlah selnya adalah yang mempunyai jumlah sel sekitar 2 – 4 untuk sampel pengenceran (10^{-x}), 20 – 40 untuk sampel pengenceran ($10^{-(x+1)}$) dan 200 – 400 untuk sampel pengenceran ($10^{-(x+2)}$).

2. Metode aktivitas metabolik

Metode ini didasarkan pada asumsi bahwa produk metabolit tertentu, misalnya asam atau CO_2 , menunjukkan jumlah mikroorganisme yang terdapat di dalam media. Misalnya pengukuran produksi asam untuk menentukan jumlah vitamin yang dihasilkan mikroorganisme.

3. Metode berat sel kering

Metode ini umum digunakan untuk mengukur pertumbuhan fungi berfilamen. *Miselium* fungi dipisahkan dari media dan dihitung sebagai berat kotor. *Miselium* selanjutnya dicuci dan dikeringkan dengan alat pengering menggunakan desikator dan ditimbang beberapa kali hingga mencapai berat konstan yang dihitung sebagai berat sel kering.

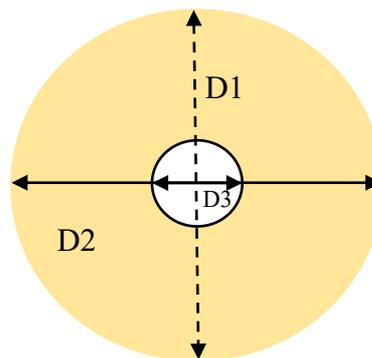
Secara umum, pengujian aktivitas antibakteri dapat diuji dengan menggunakan beberapa metode, yaitu metode dilusi, metode difusi agar, dan metode difusi dilusi. Metode difusi adalah metode yang sering digunakan untuk menganalisis aktivitas antibakteri. Terdapat 3 cara dari metode difusi yang dapat dilakukan yaitu metode sumuran, metode cakram, dan metode silinder. Prinsip kerja dari metode difusi adalah terdifusinya senyawa antibakteri ke dalam media padat di mana mikroba uji telah diinokulasikan. Hasil pengamatan yang diperoleh adalah berupa ada atau tidaknya daerah bening yang terbentuk di sekeliling kertas cakram yang menunjukkan zona hambat pada pertumbuhan bakteri (Nurhayati *et al.*, 2020b). Menurut (Wila *et al.*, 2018) respon ekstrak dalam menghambat

pertumbuhan bakteri dapat diklasifikasikan ke dalam beberapa tingkatan berdasarkan Davis *and* Stout, yaitu :

Tabel 2. 6 Klasifikasi Respon Hambatan Pertumbuhan Bakteri

Zona hambat (mm)	Respon hambatan
≥ 20 mm	Sangat kuat
10 – 20 mm	Kuat
5 – 10 mm	Sedang
< 5 mm	Lemah

Pengukuran diameter zona dapat dihitung dengan rumus :



$$D = \frac{(D1 - D3) + (D2 - D3)}{2}$$

Keterangan :

D : Rata – rata diameter zona hambat

D1 : Diameter zona hambat terkecil

D2 : Diameter zona hambat terbesar

D3 : Diameter kertas cakram

Salah satu metode difusi yang sering dan umum digunakan adalah metode difusi cakram. Metode ini dilakukan dengan cara meletakkan cakram kertas yang telah mengandung ekstrak antibakteri atau antibiotik di permukaan pelat agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri atau organisme yang diuji. Masing-masing

cakram yang mengandung antibiotik pada jarak tertentu akan terdifusi hingga titik antibiotik tersebut tidak lagi dapat menghambat pertumbuhan dari organisme. Aktivitas antibiotik ditunjukkan oleh adanya zona hambat atau zona jernih di sekeliling kertas cakram. Diameter dari zona dapat diukur menggunakan jangka sorong. Hasil dari pengujian ini menghasilkan satu antibiogram. Ukuran dari zona hambat dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti kepadatan organisme dalam biakan, kecepatan difusi antibiotik, konsentrasi antibiotik pada cakram filter, sensitivitas organisme terhadap antibiotik, serta interaksi antibiotik terhadap media. Keuntungan dari metode cakram adalah dapat dilakukan pengujian dengan lebih cepat pada saat penyiapan cakram (Nurhayati *et al.*, 2020).

Metode sumuran dilakukan dengan cara menciptakan lubang yang dicetak tegak lurus pada agar padat yang telah diinokulasikan dengan bakteri percobaan. Jumlah dan posisi lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, lalu lubang tersebut diisi dengan sampel yang akan diuji. Setelah dilakukan inkubasi, pertumbuhan bakteri diperhatikan untuk menentukan ada tidaknya daerah penghambatan di sekeliling lubang. Metode sumuran memiliki keuntungan yaitu lebih mudah untuk mengukur luas zona penghambatan yang terbentuk, karena bakteri beraktivitas tidak hanya di permukaan atas nutrisi agar tetapi juga hingga ke bawah. Pembuatan sumuran memiliki beberapa tantangan seperti adanya sisa-sisa agar pada media yang digunakan untuk membuat sumuran, selain itu juga terdapat kemungkinan besar media agar retak atau pecah di sekitar lokasi sumuran yang dapat mengganggu proses penyerapan antibiotik ke dalam media, yang selanjutnya akan memengaruhi terbentuknya diameter zona bening saat melakukan uji sensitivitas (M. Khoirur Rijal, 2024; Nurhayati *et al.*, 2020).

Antibiotik adalah zat yang dihasilkan oleh suatu mikroba, terutama fungi, yang dapat menghambat mikroba jenis lain. Antibiotik adalah golongan senyawa yang punya efek membunuh mikroorganisme di dalam tubuh, misalnya ketika terjadi infeksi bakteri. Kata antibiotik diberikan pada produk metabolik yang dihasilkan suatu organisme tertentu, yang dalam jumlah amat kecil bersifat merusak atau menghambat mikroorganisme lain. Antibiotik jenis *Clindamycin* digunakan sebagai kontrol positif pada pengujian aktivitas antibakteri yang memiliki kemampuan

untuk menghambat pertumbuhan serta metabolisme bakteri, di sisi lain ekstrak dari tanaman dapat dianggap memiliki aktivitas antibakteri jika ekstrak tersebut menunjukkan hasil positif dalam pengujian aktivitas antibakteri yang dilakukan. Berdasarkan aksi utamanya antibiotik *Clindamycin* memiliki aksi sebagai bakterisida, yaitu membunuh/memusnahkan mikroba. Selain *Clindamycin* terdapat antibiotik lain berdasarkan aksi utamanya seperti tetrasiklin, asam fusidat, kloramfenikol, PAS, Linkomisin, dan Eritromisin (kadar rendah). Antimikroba tertentu aktivitasnya dapat meningkat dari bakteriostatik menjadi bakterisida bila kadar antimikroba ditingkatkan melebihi KHM dan menjadi KBM. KHM (Kadar Hambat Minimal), kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan organisme. KBM (Kadar Bunuh Minimal), kadar minimal yang diperlukan untuk membunuh mikroorganisme. Secara umum, antibiotik atau antibakteri dibagi menjadi dua kategori, yaitu antibiotik dengan spektrum sempit dan spektrum luas. Antibiotik spektrum sempit memberikan dampak pada satu kelompok bakteri, seperti bakteri gram negatif atau positif, sementara antibiotik spektrum luas memberikan pengaruh pada keduanya (Basyar, 2022; Wardani, 2021).

Clindamycin adalah antibiotik spektrum luas semi-sintetik yang berasal dari turunan *lincomycin* yang dapat digunakan secara oral, topikal, dan parenteral. *Clindamycin* memiliki aktivitas terhadap banyak kokus gram positif aerobik serta banyak organisme gram negatif dan gram positif anaerobik. *Clindamycin* bekerja dengan menghambat sintesis protein sel mikroba. Sel mikroba memerlukan sintesis berbagai protein untuk kelangsungan hidupnya. Sintesis protein berlangsung di ribosom dengan bantuan mRNA dan tRNA. Ribosom bakteri terdiri atas dua subunit yang berdasarkan konstanta sedimentasi dinyatakan sebagai ribosom 30S dan 50S. Supaya berfungsi pada sintesis protein, kedua komponen ini akan bersatu pada pangkal rantai mRNA menjadi ribosom 70S. Antimikroba akan menghambat reaksi transfer antara donor dengan aseptor atau menghambat translokasi t-RNA peptidil dari situs aseptor ke situs donor yang menyebabkan sintesis protein terhenti (Wardani, 2021).

Clindamycin juga digunakan secara topikal untuk jerawat dan vaginosis bakterial (Livertox, 2019). *Clindamycin* sering digunakan sebagai terapi alternatif

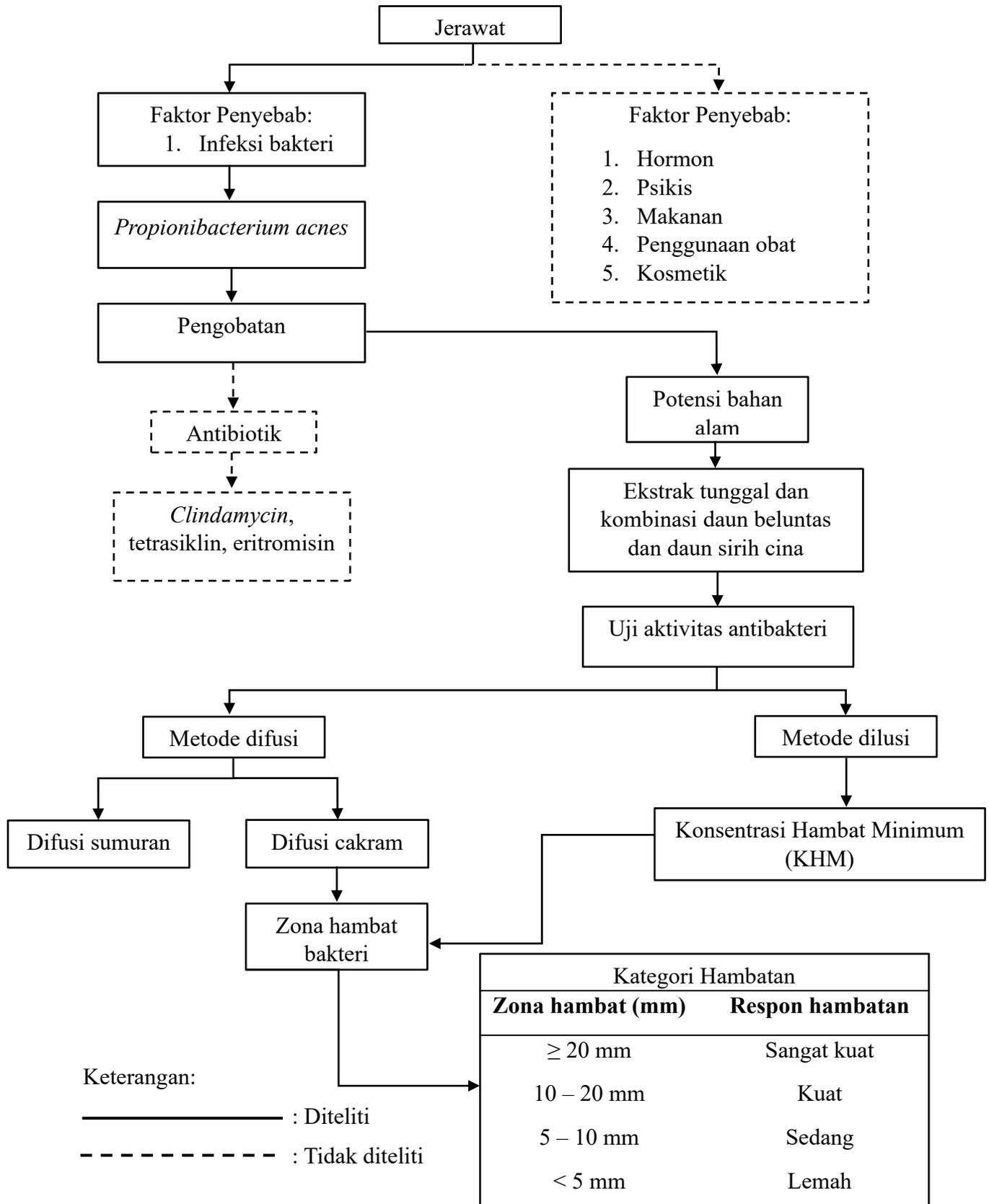
pada kasus-kasus yang mengalami alergi terhadap penisilin. Penggunaan antibiotika *Clindamycin*, *eritromycin*, tetrasiklin, doksisisiklin, retinoid, dibenzoil peroksida (DBPO), dan asam asetat mampu mengurangi jumlah total *Propionibacterium acnes*. *Propionibacterium acnes* termasuk golongan bakteri gram positif, sehingga antibiotik *Clindamycin* tepat dan cocok digunakan sebagai pengobatan jerawat dan dalam penelitian ini sebagai kontrol positif (M. Khoirur Rijal, 2024).

Tabel 2. 7 Karakteristik *Clindamycin* menurut (Kemenkes, 2020)

Nama obat	Klindamisin Hidroklorida
Nama lain	<i>Clindamycin Hydrochloride</i>
Nama kimia	Metil 7-kloro-6,7,8-trideoksi-6-(metil-trans-4-propil-L-2-pirolidinakarboxamido)-1 tio-L-treo- α -D-galakto-oktopiranosida [21462-39-5]
Pemerian	Serbuk hablur; putih atau praktis putih; tidak berbau atau bau lemah seperti merkaptan. Stabil di udara dan cahaya. Larutan bersifat asam dan memutar bidang polarisasi ke kanan.
Kelarutan	Mudah larut dalam air, dalam dimetilformamida dan dalam metanol; larut dalam etanol; praktis tidak larut dalam aseton.
Wadah dan Penyimpanan	Dalam wadah tertutup rapat.

Respon hambatan pertumbuhan bakteri terhadap suatu antibiotik dapat dievaluasi melalui uji daya hambat, yang umumnya dilakukan dengan metode difusi cakram. Ukuran zona hambatan yang terbentuk dalam uji difusi cakram sering digunakan sebagai kriteria untuk klasifikasi aktivitas suatu antibiotik melawan bakteri patogen. Zona hambat (mm) yang terbentuk menunjukkan adanya aktivitas antibakteri.

2.6 Kerangka Teoritis



2.7 Penelitian Terdahulu

NO	PENELITI	JUDUL JURNAL	TAHUN	METODE	HASIL
1.	Endah Kartikawati, Kusdi Hartono, Sridesti Meida Rahmawati, Intan Kartika Kusdianti	Aktivitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksi Daun Sirih Cina (<i>Peperomia pellucida</i> L.) terhadap Bakteri <i>Propionibacterium acnes</i> ATCC 1223	2023	Metode penelitian ini adalah uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi agar sumuran (<i>Well diffusion</i>) dengan konsentrasi 7,5% dan antibiotik <i>Clindamycin</i> HCl 0,01% sebagai kontrol positif.	Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih cina (<i>Peperomia pellucida</i> L) memiliki pengaruh terhadap pertumbuhan bakteri <i>P.acnes</i> pada konsentrasi 7,5% dengan zona hambat rata-rata 13,73 mm yang tergolong dalam kekuatan hambat lemah. Pada hasil uji fraksi daun sirih cina dengan konsentrasi 7,5%, zona hambat terbesar terdapat pada fraksi n-heksana yaitu dengan zona hambat rata-rata 14,23 mm yang tergolong dalam kekuatan hambat lemah terhadap pertumbuhan bakteri <i>Propionibacterium acnes</i> ATCC 1223.
2.	Afifah Nur Shobah &	Uji Antibakteri Ekstrak Etanol	2022	Jenis penelitian ini	Hasil dari penelitian ini

	Fajrin Noviyanto	Daun Beluntas (<i>Pluchea indica</i>) dan Daun Kecombrang (<i>Etilingera Elatior</i>) terhadap Pertumbuhan <i>Pseudomonas</i> <i>Aeruginosa</i> dan <i>Propionibacterium</i> <i>acnes</i>		yaitu penelitian eksperimental	menunjukkan bahwa pada konsentrasi kombinasi ekstrak memiliki hasil yang berbeda secara signifikan pada perlakuan kombinasi ekstrak daun beluntas dan kecombrang yang dilakukan uji pada bakteri uji <i>P. acnes</i> yang menghasilkan daya hambat berturut-turut sebesar 0 mm (kontrol negatif); 7,13 mm (kombinasi konsentrsai ekstrak 5%); 8,2 mm (kombinasi konsentrasi ekstrak 10%); 11,18 mm (kombinasi konsentrasi ekstrak 50%.) dan kontrol positif <i>Clindamycin</i> 26,3 mm. Hasil dari pengujian kombinasi konsentrasi ekstrak dengan bakteri uji <i>P. aeruginosa</i> tidak terdapat zona
--	---------------------	---	--	--------------------------------------	--

					hambat, kecuali pada kontrol positifnya yaitu kloramfenikol sebesar 12,1 mm.
3.	Islan Nor, Siti Rahmita, Siti Nashihah	Potensi Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Beluntas (<i>Pluchea indica</i> L.) Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus epidermidis</i>	2022	Metode difusi cakram dengan seri konsentrasi 45%, 60%, 75% dan 90%	Hasil dari penelitian ini didapatkan bahwa semua uji karakterisasi simplisia memenuhi persyaratan. Ekstrak dari daun beluntas positif alkaloid, flavonoid, tannin dan saponin. Uji aktivitas ekstrak daun <i>Pluchea indica</i> menunjukkan zona hambat 16,10 mm, 17,30 mm, 18,13 mm dan 18,63 mm untuk konsentrasi 45%, 60%, 75% dan 90%, secara berurutan. Dari hasil yang didapatkan daun beluntas berpotensi dikembangkan sebagai antibakteri.
4.	Maulana Zulkarnain Imansyah,	Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Sirih Cina (<i>Peperomia</i>	2022	Metode difusi menggunakan Paper disk	Hasil yang diperoleh zona hambatan disekitaran <i>Paper</i>

	Sri Hamdayani	<i>pellucida</i> L.) Terhadap Bakteri <i>Propionibacterium acnes</i>			<i>disk</i> dengan diameter yang berbeda-beda pada setiap sampel. Diameter hambatan rata-rata yang diperoleh dari masing-masing sampel ekstrak etanol daun sirih cina dengan konsentrasi 5% yaitu 6 mm, konsentrasi 10% yaitu 7,66 mm, dan pada konsentrasi 15% yaitu 12,33 mm.
5.	Dinia Yuliani, Intan Keumala Dewi dan Siti Marhamah	Efektivitas Ekstrak Daun Sirih Cina (<i>Peperomia pellucida</i>) Terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Propionibacterium acnes</i> Dan Tinjauannya Menurut Pandangan Islam	2022	Metode yang dilakukan untuk menguji daya antibakteri pada penelitian ini adalah metode disc diffusion yaitu menggunakan cakram yang ditanam pada media brucella agar. Metode yang digunakan untuk mengekstrak daun sirih cina (<i>Peperomia pellucida</i>)	Hasil penelitian menunjukkan pada konsentrasi ekstrak daun sirih cina 25% dan 50% tidak didapatkan adanya zona hambat. Konsentrasi ekstrak daun sirih cina 75% didapatkan zona hambat 10 mm, pada konsentrasi ekstrak daun sirih cina 100% didapatkan zona hambat 11,17 mm. Zona hambat kontrol positif yaitu

				adalah metode maserasi.	menggunakan antibiotik eritromisin didapatkan sebesar 49.04 mm, pada kontrol negatif menggunakan <i>aquadest</i> steril tidak terlihat adanya zona hambat. Hasil uji kebermaknaan ekstrak daun sirih cina (<i>Peperomia pellucida</i>) dari hasil klasifikasi Greenwood pada uji <i>Post hoc</i> , perbedaan antar konsentrasi didapatkan nilai $P < 0,05$ dinyatakan bermakna pada masing-masing konsentrasi kecuali 25% dan 50%.
6.	Mindiya Fatmi, Agung Eru Wibowo, Deni Rahmat	Uji Efektivitas Ekstrak Kombinasi Daun Beluntas (<i>Pluchea indica</i> L. Less) dan Rimpang Jahe Merah (<i>Zingiber Officinale</i> Roscoe) terhadap Bakteri Penyebab Jerawat	2020	Eksperimental	Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan konsentrasi daun beluntas dan beluntas jahe merah pada perbandingan 2,25% : 1,5% memiliki aktivitas yang lebih baik pada <i>Staphylococcus</i>

					<i>epidermidis</i> sebesar 7,2 mm dan pada konsentrasi 0,75% : 1,5% efektif terhadap bakteri bakteri <i>Propionibacterium acne</i> dengan diameter daya hambat sebesar 8,3 mm.
7.	Siti Karomah	Uji Ekstrak Tumbuhan Sirih Cina (<i>Peperomia pellucida</i> L.) sebagai Antibakteri terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Staphylococcus epidermidis</i>	2019	Penelitian ini menggunakan metode RAL (Rancangan Acak Lengkap)	Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak tumbuhan tersebut tidak memiliki daya antibakteri terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Staphylococcus epidermidis</i> .
8.	Anggita Rahmi Hafsari, Tri Cahyanto, Toni Sujarwo, Rahayu Indri Lestari	Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Beluntas (<i>Pluchea indica</i> (L.) Less) terhadap <i>Propionibacterium acnes</i> Penyebab Jerawat	2015	Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lima perlakuan.	Hasilnya diketahui bahwa ekstrak daun beluntas memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan <i>Propionibacterium acnes</i> terlihat dengan adanya zona hambat yang dibentuk. Diameter zona hambat pada konsentrasi 1% sebesar 9 mm, konsentrasi 2%

					sebesar 7,67 mm, konsentrasi 3% sebesar 8,67 mm, konsentrasi 4% sebesar 8,83 mm, dan konsentrasi 5% sebesar 9 mm.
--	--	--	--	--	---