



## Uji aktivitas antibakteri secara *in-vitro* gel submikro partikel pembawa ekstrak etanol daun pegagan (*Centella Asiatica* (L.) Urban) terhadap *Propionibacterium acnes*

VIVA STARLISTA, ELSA FITRIA APRIANI\*, BUDI UNTARI, DAN ADI SETYAWAN

Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Sumatera Selatan 30862, Indonesia

<p><b>Kata kunci:</b> daun pegagan, antibakteri, diamater zona hambat, gel, <i>Propionibacterium acnes</i></p>	<p><b>ABSTRAK:</b> Daun pegagan (<i>Centella asiatica</i> (L.) Urban) memiliki kandungan flavonoid yang tinggi bertindak sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan memformulasikan submikro partikel bentuk sediaan gel dan mengetahui kemampuan antibakteri nya dibandingkan dengan ekstrak etanol daun pegagan yang tidak dibentuk dalam submikro partikel. Gel submikro ekstrak etanol daun pegagan dibuat dalam formula F1, F2, F3 dan F4 serta terdapat formula 5 yang dibuat dengan konsentrasi <i>gelling agent</i> terbaik &amp; zat aktifnya tidak dibentuk submikro partikel. Hasil evaluasi sifat fisik menurut analisis desain faktorial dan stabilitas gel formula optimum menunjukkan bahwa formula terbaik adalah F3 dengan rata-rata karakteristik pH, daya sebar, daya lekat dan viskositas secara berturut turut adalah 4,79; 6,9 cm; 169,67 detik; 3149,967 cPs. Hasil uji stabilitas secara sentrifugasi dan <i>cycling test</i> menunjukkan tidak terjadi perubahan organoleptis, tidak terjadi pemisahan fase dan pH yang berbeda signifikan. Uji aktivitas menunjukkan bahwa gel submikro partikel ekstrak etanol daun pegagan dapat menghambat bakteri <i>Propionibacterium acnes</i>. Zona hambat yang ditimbulkan oleh sediaan gel dalam perlakuan formula uji sebesar <math>11,20 \pm 0,020</math> mm pada hari ke-2 dan <math>12,89 \pm 0,020</math> mm pada hari ke-5 dengan kriteria zona hambat kuat namun untuk pelepasan zat aktif masih dinilai kurang dibandingkan dengan gel ekstrak etanol daun pegagan (tanpa submikro partikel).</p>
<p><b>Keywords:</b> pegagan leaf, antibacterial, inhibitory zone diameters, gel, <i>Propionibacterium acnes</i></p>	<p><b>ABSTRACT:</b> Pegagan (<i>Centella asiatica</i> (L.) Urban) leaves have high flavonoid content which can act as antibacterial. This study aims to formulate submicroparticles gel dosage form and determine it's antibacterial ability when compared ethanol extract of pegagan leaf which is not formed in the form of submicroparticles. The submicro gel of pegagan leaf ethanol extract was made in formulas F1, F2, F3 and F4 and there was formula 5 made with the best concentration of <i>gelling agent</i> and the active substance was not formed in submicroparticles. The results of evaluation physical properties according factorial design analysis and stability of optimum gel formula showed that best formula was F3 with characteristic average of pH, dispersion, adhesion and viscosity, respectively, which were 4.79; 6.9 cm; 169.67 seconds; 3149.967 cPs. The results of stability test by centrifugation and cycling test showed no organoleptic changes, no phase separation and significantly different pH. The activity test showed that submicro particle gel of ethanol extract of pegagan leaves could inhibit <i>Propionibacterium acnes</i> bacteria. The inhibition zone caused by the gel preparation in the test control treatment was <math>11.20 \pm 0.020</math> mm on the 2nd day and <math>12.89 \pm 0.020</math> mm on the 5th day with the inhibition zone criteria being strong however, the release of the active substance is still considered less than that of the pegagan leaf ethanol extract gel (without submicroparticles).</p>

### 1 PENDAHULUAN

Jerawat merupakan penyakit kulit yang terjadi karena adanya peradangan yang disertai penyumbatan pada saluran kelenjar minyak dalam kulit. Penyebab terjadinya jerawat dapat disebabkan

oleh adanya bakteri seperti *Propionibacterium acnes*. Obat jerawat di pasaran banyak terbuat dari bahan kimia. Sediaan bahan alam dianggap lebih aman untuk digunakan dan memiliki dampak-dampak negatif lebih sedikit dibandingkan dengan penggunaan bahan kimia salah satunya dengan penggunaan ekstrak daun pegagan sebagai sediaan gel ber-

\* Corresponding Author: email: [elsafitria@mipa.unsri.ac.id](mailto:elsafitria@mipa.unsri.ac.id)

basis bahan alam [1]. Salah satu tanaman obat untuk meningkatkan aktivitas antioksidan, antiinflamasi, neuroprotektif, prokolinerjik, dan antikolinergik yaitu Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) [2]. Berdasarkan penelitian sebelumnya [3] bahwa tanaman Pegagan mengandung senyawa flavonoid total 0,556% b/b dan kandungan total fenol sebesar 0,825% serta nilai  $IC_{50}$  kuat sebesar 20,43 ppm [4] yang mampu memberikan efek antioksidan. Senyawa antioksidan dalam daun pegagan akan menghambat aktivitas radikal bebas dalam tubuh secara memotong reaksi oksidasi berantai radikal bebas [5]. Bentuk sediaan gel mulai dikembangkan, terutama dalam produk kosmetika dan produk farmasi. Sediaan gel lebih baik digunakan pada pengobatan jerawat daripada krim karena gel dengan pelarut yang polar lebih mudah dibersihkan dari permukaan kulit setelah pemakaian dan tidak mengandung minyak yang dapat meningkatkan keparahan jerawat. Gel juga memiliki kelebihan seperti tampilan yang jernih, adanya efek dingin saat digunakan, daya lekat tinggi, tidak menyumbat pori dan mencegah iritasi pada kulit. Kombinasi pemakaian *gelling agent* Karbopol 940 dan HPMC dapat menjadikan sediaan gel dengan sifat fisika-kimia gel yang lebih baik dibandingkan dengan pemakaian salah satu *gelling agent* saja. Pemakaian kombinasi *gelling agent* ini dapat mengurangi nilai kekurangan yang ada pada masing-masing *gelling agent* tersebut seperti pemakaian Karbopol 940 yang terlalu tinggi konsentrasinya dapat menyebabkan pH yang terlalu asam sehingga dapat mengiritasi kulit dan pemakaian HPMC yang terlalu tinggi konsentrasinya dapat menyebabkan gel menjadi kaku serta permeasi obat menjadi sulit menembus lapisan kulit [6]. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan formulasi gel submikro partikel ekstrak daun pegagan dengan variasi konsentrasi Karbopol 940 dan HPMC sebagai *gelling agent*. Sediaan gel yang dihasilkan kemudian dilakukan evaluasi berupa uji evaluasi sediaan gel, penetapan formula gel submikro partikel optimum, uji stabilitas fisik sediaan, dan uji aktivitas antibakteri terhadap *P. acnes* secara *in vitro*. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan secara *in vitro* yang terbagi menjadi 4 kelompok perlakuan dengan pengujian aktivitas antibakteri berupa pengukuran diameter zona hambat dengan metode sumuran.

## 2 BAHAN DAN METODE

### 2.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan mulai dari bulan Januari 2022 sampai dengan April 2022. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi, Laboratorium Teknologi Farmasi, Laboratorium Farmasetika,

Laboratorium Farmakologi dan Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya Inderalaya, Sumatera Selatan.

### 2.2 Alat dan Bahan

#### Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain viskometer (Grace Instrument M3400), Rotary Evaporator (IKA® HB 10), timbangan analitik ketelitian 0,0001 g (Sartorius®), pH meter (Lutron® pH Electrode PE-03), blender (Philips®), kulkas alat-alat gelas (Pyrex®), autoklaf (Equitron®), Inkubator (In-SciencePro® Xlab 04), lemari pendingin (DragonLab®), kaca preparat, oven (IMU55L), magnetic stirrer (IKA® C-MAG), hot plate (Tuff HPS-5507D), spin bar, pH meter (Thermo Scientific Eutech pH 5+®), pipet mikro (DragonLab®), dan Sonikator (Bio-base®).

#### Bahan

Bahan-bahan yang digunakan yaitu submikro partikel partikel partikel *Poly-(Lactic-Co-Glycolic Acid)* pembawa ekstrak etanol daun pegagan, HPMC (Bratachem®), Karbopol 940 (CV. Total Equipment Pharmacy®), propilen glikol (Bratachem®) metil paraben (Bratachem®), propil paraben (Bratachem®), etanol 96% (Dira Sonita®), etil asetat (Dira Sonita®), aquadest (Dira Sonita®), indukan bakteri *Propionibacterium acnes* (Biomeriux®), Klindamisin HCl (PT.Dexa Medica®), Nutrient Agar (Merck®), Nutrient Broth (Merck®), Larutan Mc.Farland, Larutan gentian violet, Cairan lugol (Nauli Alkes Store®), Safranin (Nitra Kimia®), NaCl 0,9%.

### 2.3 Prosedur Penelitian

#### Preparasi Ekstrak

Daun pegagan ditimbang sebanyak 1 kg dan dilakukan sortasi basah. Sampel kemudian dicuci dengan menggunakan air mengalir. Daun pegagan dikeringkan dengan menggunakan oven dengan suhu 50°C sampai kering. Simplisia kering kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender hingga menjadi serbuk [7]. Simplisia daun pegagan diekstraksi dengan metode maserasi. Serbuk simplisia daun pegagan sebanyak 500 g dimasukkan ke dalam suatu wadah, pelarut menggunakan etanol 96% sebanyak 3,5 liter, didiamkan selama 24 jam, diaduk agar penyerapan zat aktif daun pegagan lebih maksimal. Hasil ekstrak-

si setelah 24 jam disaring menggunakan kertas saring, selanjutnya dilanjutkan karakteristik ekstrak.

### Preparasi Bahan Pembuat Submikro Partikel

Preparasi bahan pembuat submikro partikel pada kegiatannya meliputi preparasi PLGA, preparasi PVA, preparasi dispersi ekstrak etanol daun pegagan dan pembuatan submikro partikel ekstrak etanol daun pegagan.

### Pembuatan Gel Submikro Partikel Ekstrak Daun Pegagan

#### Formulasi Gel

Formula gel yang digunakan pada penelitian ini sebanyak 4 formula yang didapatkan melalui design faktorial  $2^2$  dengan penggunaan dua faktor yaitu Karbopol 940 dan HPMC 60-SH pada dua level rendah dan tinggi dan 1 formula pembanding [8]. Selanjutnya dilakukan evaluasi sediaan gel dan uji stabilitas fisik sediaan.

### Uji Aktivitas Antibakteri

Uji Aktivitas Antibakteri meliputi sterilisasi alat dan bahan, pembuatan medium, pembuatan larutan 0,5 MC Farland, pembuatan stok bakteri *Propionibacterium acnes*, pembuatan suspensi bakteri *Propionibacterium acnes*, dan percobaan uji aktivitas antibakteri dimana pada uji ini perlakuan dibagi menjadi 4 kelompok ditunjukkan pada Tabel 2.

Perlakuan kontrol negatif dilakukan dengan membuat sediaan gel plasebo. Perlakuan kontrol positif dibuat dengan cara membuat sediaan gel pembawa Klindamisin dengan konsentrasi yang sudah ditetapkan. Cawan petri pertama dibuat 3 lubang sumuran untuk perlakuan kontrol negatif. Kemudian cawan petri kedua diperlakukan sama seperti cawan petri 1 untuk perlakuan kontrol positif. Cawan petri 3 kemudian dibuat masing masing 3 sumuran untuk perlakuan uji masing- masing formula. Cawan petri 4 dilakukan sama seperti cawan petri pertama untuk kontrol pembanding. Sumuran dibuat untuk melihat diameter zona hambat yang dihasilkan masing masing perlakuan. Sumuran dibuat dengan cara menusukkan ujung pangkal pipet tetes yang telah disterilkan pada media agar bakteri kemudian diangkat sehingga terciptanya lubang sumuran seukuran 6 mm kemudian 50 mg gel dimasukkan ke dalam sumuran yang telah dibuat. Setelah itu masing-masing perlakuan di inkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 48 jam. Masing masing perlakuan dibuat 3 sumuran untuk melihat diameter zona hambat yang dihasilkan masing masing perlakuan [9].

### 2.4 Analisis Data

Analisis data terhadap evaluasi sediaan gel dilakukan dengan perhitungan desain faktorial menggunakan Program *Design Expert 12*<sup>®</sup>. Analisis data dilakukan dengan menghitung nilai koefisien masing-masing faktor yaitu karbopol dan HPMC hingga didapatkan persamaan hubungan antara faktor dan respon. Berdasarkan persamaan tersebut akan dapat diamati pengaruh masing-masing faktor dan kombinasi kedua faktor terhadap hasil evaluasi sediaan gel. Program *Design Expert 12*<sup>®</sup> juga digunakan untuk analisis data terhadap pengaruh konsentrasi Karbopol 940 dan HPMC terhadap hasil dari evaluasi sediaan gel untuk menetapkan efektifitasnya. Analisis data terhadap diameter zona hambat dengan menggunakan aplikasi *SPSS*<sup>®</sup> adalah uji normalitas data yang dilakukan dengan *Shapiro wilk* untuk melihat normalitas distribusi data. Apabila data terdistribusi normal, maka pengujian selanjutnya dilanjutkan dengan *ANOVA One Way*. Dari pengujian tersebut, kemudian dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Test* apabila nilai *p value*  $<0,05$ .

## 3 HASIL DAN PEMBAHASAN

### 3.1 Ekstraksi

Ekstraksi daun pegagan menggunakan pelarut etanol 96%. Hal ini dikarenakan pelarut etanol 96% bersifat selektif, tidak beracun, dan bersifat universal yang cocok untuk mengekstrak semua golongan senyawa metabolit sekunder, mempermudah dalam proses penguapan. Setelah didapatkan filtrat hasil maserasi kemudian dilakukan teknik evaporasi atau penguapan dengan menggunakan rotary evaporator. Hal ini bertujuan untuk mempermudah proses penguapan dengan memperkecil tekanan dengan vakum sehingga saat temperatur di bawah titik didih etanol 96% maka etanol 96% dapat menguap dan memperoleh senyawa yang diinginkan. Suhu yang digunakan dalam proses ini adalah  $70^{\circ}\text{C}$  dengan tujuan agar tidak merusak senyawa bioaktif yang terdapat pada filtrat apabila menggunakan suhu yang tinggi. Hasil dari evaporasi didapatkan ekstrak berwarna hijau pekat dan kental dengan bobot 45,78 g dan didapatkan persentase rendemen ekstrak sebesar 9,156%.

### 3.2 Karakteristik Ekstrak

Hasil karakterisasi ekstrak etanol daun pegagan tertera pada Tabel 3. Uji organoleptis ekstrak etanol daun pegagan dilakukan melalui pengamatan dengan panca indra secara langsung berwujud kental, berwarna hijau kehitaman pekat, berbau khas me-

nyengat dan memiliki rasa pahit. Hasil kadar air sebesar  $8 \pm 1\%$  dan susut pengeringan sebesar  $8,71 \pm 0,96\%$  pada ekstrak etanol daun pegagan yang menunjukkan bahwa kadar air dan susut pengeringan tersebut memenuhi standar Depkes RI. Kadar sari larut etanol ekstrak daun pegagan sebesar  $83,33 \pm 5,77\%$  yang berarti memenuhi syarat kadar sari larut etanol tidak kurang dari  $70,5\%$ , sedangkan kadar sari larut air ekstrak etanol daun pegagan sebesar  $43,33 \pm 4,71\%$  yang berarti memenuhi syarat kadar sari larut air tidak kurang dari  $31\%$ . Hasil kadar abu dari ekstrak etanol daun pegagan sebesar  $2,83 \pm 1,25\%$  yang berarti memenuhi syarat kadar abu total yaitu tidak lebih dari  $16,6\%$ . Hasil kadar abu tidak larut asam ekstrak etanol daun pegagan sebesar  $0,54 \pm 0,24\%$  yang berarti memenuhi syarat kadar abu tidak larut asam yaitu tidak lebih dari  $0,7\%$ .

### 3.3 Hasil Pembuatan Submikro Partikel Ekstrak Etanol Daun Pegagan

Ekstrak etanol daun pegagan dibuat menjadi bentuk submikro partikel yang berukuran  $200 - 500$  nm dengan tujuan untuk meningkatkan kemampuan penetrasi zat aktif menuju ke stratum basalis. Submikro partikel ekstrak daun etanol daun pegagan dibuat dengan menggunakan *Poly-(Lactic-Co-Glycolic Acid)* sebagai polimer dan *Poly-Vinyl-Alkohol* yang berfungsi sebagai stabilizer. Zat aktif submikro partikel ekstrak etanol daun pegagan dibuat dengan komposisi yang sama dengan formula terbaik dari penelitian Destiana [11] dengan %EE sebesar  $93,6809\% \pm 0,2694$ . 65 Submikro partikel ini dibuat dengan menggunakan metode *emulsion solvent evaporation* dengan keuntungan yaitu tidak *toxic*, memiliki laju reaksi yang cepat, dan menghasilkan ukuran partikel yang kecil [12].

### 3.4 Hasil Formulasi Gel Submikro Partikel Ekstrak Etanol Daun Pegagan

Sediaan gel submikro partikel ekstrak etanol daun pegagan dibuat terlebih dahulu dengan pengembangan *gelling agent* kombinasi HPMC 60-SH dan Karbopol 940. Kombinasi kedua *gelling agent* ini dilakukan juga untuk menutupi kekurangan HPMC 60-SH yang dapat membuat gel menjadi kaku. Penggabungan metil paraben dan propil paraben bertujuan sebagai pengawet pada sediaan gel. Pelarut propilen glikol dipilih sebagai humektan karena propilen glikol menjaga kehilangan air pada gel sehingga gel menjadi lebih stabil. Hal ini dapat terjadi karena terdapat ikatan hidrogen antara gugus  $-OH$  pada struktur yang berinteraksi dengan air [13]. TEA dipilih sebagai pengalkali yang berfungsi untuk menetralkan keasaman dari Karbopol 940. Sediaan gel sub-

mikro partikel ekstrak etanol daun pegagan akan memiliki dua matriks pelindung. Matriks pertama dimana zat aktif ekstrak pegagan akan dienkapsulasi oleh PLGA dengan *stabilizer* PVA di bagian luarnya. Submikro partikel ini kemudian terdispersi ke dalam matriks kedua yaitu matriks gel yang berisi *carbopol* yang telah menjerap bagian air yang banyak. Submikro partikel dapat terdispersi ke dalam matriks sediaan gel dikarenakan bagian terluar dari submikro partikel merupakan PVA yang sifatnya polar sehingga dapat terdispersi ke dalam matriks gel yang berisi air dengan sifat polar [13].

### 3.5 Evaluasi Sediaan Gel

Data hasil evaluasi sediaan gel tertera pada Tabel 4. Uji organoleptis ini sangat penting dilakukan karena keterkaitan terhadap pemakaian sediaan gel yang telah dibuat, diketahui bahwa keempat formula memiliki warna, bau dan tekstur yang baik. Warna kuning pucat yang terdapat di dalam gel tersebut didapatkan dari submikro partikel pembawa ekstrak etanol daun pegagan. Hasil uji homogenitas pada sediaan gel submikro pembawa partikel ekstrak etanol daun pegagan pada keempat formula menunjukkan tidak memiliki butiran kasar ketika dioleskan pada kaca objek transparan. Uji pH juga penting karena sangat berkaitan dengan keamanan sediaan ketika diaplikasikan ke kulit manusia. Berdasarkan Tabel 4. keempat formula menghasilkan pH sesuai dengan rentang pH kulit manusia yaitu  $4,5-6,5$  atau sesuai dengan pH kulit [14]. Hal ini menunjukkan bahwa keempat formula memenuhi syarat. Pada daya sebar berdasarkan Tabel 4. formula 2 sampai 4 memiliki daya sebar yang termasuk kedalam rentang yaitu  $5-7$  cm namun formula 1 tidak memenuhi syarat rentang dari daya sebar. Hal ini dikarenakan nilai daya sebar berpengaruh dari konsentrasi gelling agent yang digunakan. Uji daya lekat dilakukan dengan tujuan untuk menggambarkan seberapa besar sediaan melekat pada kulit. Uji viskositas dilakukan dengan tujuan untuk melihat kekentalan dari sediaan. Semakin tinggi nilai viskositas, maka semakin tinggi tingkat kekentalan sediaan. Viskositas gel yang baik adalah yang memenuhi standar viskositas dengan rentang  $2000-4000$  cP [15].

### 3.6 Optimasi Formula Sediaan Gel Menggunakan Desain Faktorial

Optimasi dan analisis data evaluasi formula sediaan gel submikro partikel ekstrak etanol daun pegagan menggunakan metode desain faktorial melalui permodelan *Design Expert 12*<sup>®</sup>. Permodelan tersebut digunakan untuk memprediksi penentuan formula optimum sediaan gel submikro partikel ekstrak eta-

nol daun pegagan dengan pendekatan DoE (*Design of Experiment*). Kriteria respon yang ingin dicapai ialah sediaan gel submikro partikel ekstrak etanol daun pegagan mencapai semua nilai ambang batas kriteria (pH, daya sebar, daya lekat dan viskositas). Nilai *desirability* yang didapatkan dari *Design Expert 12*<sup>®</sup> ini sebesar 0,985. Menurut Raissi & Farsani [16], jika *desirability* semakin mendekati nilai 1, maka program untuk menghasilkan formula yang diinginkan semakin sempurna. Optimasi *numerical* dilakukan untuk dapat menggambarkan hasil optimasi. Data *numerical* menunjukkan hasil optimum pada formula dengan konsentrasi Karbopol 940 sebesar 0,5% dan HPMC 60-SH sebesar 1%, dapat dilihat ditabel 5 dan 6.

### 3.7 Uji Stabilitas Sediaan

Uji Stabilitas Sediaan dilakukan untuk mengetahui kemampuan gel dalam mempertahankan sifat fisiknya sehingga selama penyimpanan sifat fisik diharapkan tidak berubah atau masih dalam batas yang dapat diterima. Pengujian stabilitas sediaan gel kali ini menggunakan uji sentrifugasi dan *cycling test*.

#### Uji Sentrifugasi

Pengujian stabilitas sediaan bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya perubahan sifat fisik sediaan gel. Uji sentrifugasi dilakukan untuk melihat apakah sediaan gel terjadi pemisahan fase atau tidak. Hasil dari uji sentrifugasi tersebut terhadap sediaan gel formula optimum didapatkan bahwa sediaan gel tidak mengalami pemisahan fase. Hal tersebut disebabkan dari sifat HPMC 60-SH yang hidrofilik polimer memiliki kemampuan penyerapan air yang sangat baik sehingga HPMC 60-SH tersebut bisa mengembang. Sedangkan Karbopol 940 mempunyai kemampuan untuk menyerap air sehingga tidak terjadi penurunan daya ikat antara basis air dan sediaan gel submikro partikel.

#### Cycling Test

Metode *cycling test* memiliki 2 tahap, yakni heating dan cooling yang dilakukan selama 6 siklus. Hasil pengujian dengan metode ini menunjukkan bahwa sediaan memiliki sifat fisik yang mendekati sama pada saat awal dan akhir pengujian. Tidak terjadi sineresis, perubahan warna, aroma, bentuk serta nilai pH yang tidak terjadi kenaikan signifikan selama pengujian 12 hari (6 siklus).

Sineresis merupakan peristiwa terbentuknya dua fase pada sediaan yang timbul akibat keluarnya air dalam struktur gel. Cairan yang keluar akan berada diatas permukaan gel. Sineresis tidak terjadi pada

formula optimum sediaan gel, hal ini disebabkan karena penggunaan gelling agent yang digunakan mampu untuk mempertahankan kekuatan ikatan matriks gel sehingga pelarut yang terdapat didalamnya tidak keluar ke permukaan gel. Secara pengujian *cycling test*, organoleptis yang teramati seperti pada Tabel 7. tidak mengalami perubahan pada sediaan gel saat sebelum pengujian dan sesudah pengujian. Nilai pH dari formula optimum berdasarkan hasil analisis statistik menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna ( $p < 0,05$ ). Perubahan pH akibat terjadinya penurunan dan kenaikan suhu selama pengujian. pH setelah pengujian mengalami kenaikan namun kenaikan yang terjadi tidak terlalu signifikan sehingga tidak dapat memicu terjadinya sineresis. Kenaikan pH yang terjadi juga masih dalam rentang pH kulit sehingga masih aman untuk diaplikasikan ke permukaan kulit. Kenaikan pH yang terjadi besar kemungkinan disebabkan oleh adanya penyerapan kelembaban dari lingkungan sekitar gel. Penyerapan kelembaban yang sifatnya lebih basa dapat mempengaruhi pH sediaan gel menjadi lebih basa.

### 3.8 Aktivitas Antibakteri Sediaan Serum Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes* secara *In-Vitro*

Uji daya hambat dilakukan untuk mengetahui besarnya pelepasan zat aktif dengan mengukur diameter zona hambat pertumbuhan bakteri. Pengujian efektivitas antibakteri sediaan gel ekstrak etanol daun nangka dilakukan dengan menggunakan metode sumuran. Pemilihan metode sumuran dengan beberapa kelebihan, diantaranya mudah dilakukan, peralatan yang sederhana dan biaya yang relatif murah. Metode sumuran dilakukan dengan membuat lubang pada media yang telah memadat dan telah diinokulasi bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, selanjutnya dilakukan injeksi sediaan gel yang akan diuji kedalam lubang. Setelah dilakukan inkubasi, dilakukan pengamatan ada tidaknya daerah hambat di sekeliling lubang. Dalam komponen pengujian, perlakuan yang digunakan terdiri atas 4 kontrol yaitu kontrol positif, kontrol negatif, kontrol uji dan kontrol pembandingan. Kontrol positif menggunakan Gel Klindamisin 1% dengan tujuan untuk membandingkan aktivitas sediaan uji yang mengandung ekstrak etanol daun pegagan dengan sediaan gel yang terdapat di pasaran. Kontrol negatif menggunakan basis gel submikro partikel yang tidak ditambahkan dengan ekstrak dengan tujuan untuk melihat apakah basis yang digunakan dalam sediaan memiliki aktivitas antibakteri atau tidak. Kontrol uji dilakukan dengan menggunakan sediaan formula optimum gel submikro partikel ekstrak etanol daun pegagan sedangkan

untuk kontrol pembanding sendiri terdiri atas sediaan gel ekstrak etanol daun pegagan tanpa submikro partikel. Penggunaan kontrol pembanding memiliki tujuan untuk membandingkan seberapa besar pengaruh sediaan gel submikro partikel ekstrak etanol daun pegagan dengan gel ekstrak etanol daun pegagan ketika dilakukan uji antibakteri. Hasil pengukuran diameter zona hambat sediaan gel dapat dilihat pada Tabel 8.

Berdasarkan Tabel 8. diatas, dapat dilihat bahwa sediaan gel pada masing-masing kontrol memiliki sifat antibakteri. Kontrol positif yang digunakan menghasilkan diameter hambat dengan kriteria kuat pada hari ke-2 dan sangat kuat pada hari ke-5 karena menghasilkan diameter hambat besar dari 19 mm dan 22 mm. Klindamisin digunakan sebagai kontrol positif karena klindamisin adalah salah satu antibiotik yang digunakan sebagai obat antijerawat terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* yang memiliki mekanisme kerja menghambat sintesis protein bakteri. Kontrol uji dan kontrol pembanding sama sama memiliki daya antibakteri kuat pada hari ke-2 dan hari ke-5. Hal tersebut terjadi karena pengaruh dari struktur dinding sel bakteri *Propionibacterium acnes* dengan gram positif mengandung polisakarida dan asam teikoat. Asam teikoat merupakan polimer fosfat yang larut dalam air, yang berfungsi sebagai transport ion positif keluar dan masuk. Karena sifat larut air ini menunjukkan bahwa dinding sel bakteri bersifat lebih polar. Senyawa flavonoid, tanin dan saponin merupakan senyawa yang bersifat polar sehingga lebih mudah menembus lapisan dinding sel bakteri yang bersifat polar dengan membentuk kompleks dengan asam teikoat. Flavonoid bekerja sebagai antibakteri dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti keluarnya cairan intraseluler pada bakteri [17]. Data hasil pengujian selanjutnya dianalisis dengan menggunakan SPSS<sup>®</sup> 25. Uji normalitas dengan metode *Shapiro-Wilk* diperoleh nilai signifikan  $>0,05$ . Hal ini menunjukkan bahwa hasil pengujian efektivitas antibakteri terdistribusi normal. Selanjutnya pada uji ANOVA *one way* diperoleh nilai signifikan  $<0,05$ . Hal ini menunjukkan bahwa terdapat pengaruh yang signifikan terhadap penambahan konsentrasi ekstrak dengan rata-rata hasil pengujian efektivitas antibakteri. Kemudian dilanjutkan dengan analisis *Post-Hoc Duncan* untuk mengetahui kelompok perlakuan yang memiliki pengaruh signifikan terhadap hasil perlakuan. Berdasarkan hasil analisis diperoleh nilai signifikan  $<0,05$ . Hal ini menunjukkan bahwa terdapat pengaruh yang signifikan pada hasil pengujian diameter hambat sediaan terhadap penambahan konsentrasi ekstrak etanol daun pegagan.

## 4 KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa variasi konsentrasi *gelling agent* Karbopol 940 dan HPMC 60-SH berpengaruh terhadap aktivitas antibakteri sediaan gel berdasarkan analisis Desain Faktorial. Semakin rendah konsentrasi *gelling agent* yang digunakan menyebabkan flavonoid dari dalam gel lebih lambat berpenetrasi menembus membran. Variasi konsentrasi *gelling agent* Karbopol 940 dan HPMC 60-SH dapat mempengaruhi sediaan gel submikro partikel ekstrak etanol daun pegagan terhadap evaluasi sifat fisik sediaan gel yang terdiri atas organoleptis, homogenitas, pH, daya sebar, daya lekat dan viskositas. Serta untuk stabilitas fisik formula optimum sediaan sediaan gel submikro partikel ekstrak etanol daun pegagan berdasarkan uji stabilitas sentrifugasi dan cycling test tidak terjadi pemisahan fase dan tidak adanya perbedaan yang bermakna. Formula optimum sediaan gel submikro partikel ekstrak etanol daun pegagan pada uji aktivitas antibakteri menghasilkan diameter zona hambat optimum pada hari kedua dan hari kelima dengan kategori daya hambat kuat namun untuk pelepasan zat aktifnya dinilai kurang dibandingkan dengan gel ekstrak etanol daun pegagan (tanpa submikro partikel).

## REFERENSI

- [1] Tabrizi, H., Mortazavi, S. A. and Kamalinejad, M. 2003. An in vitro evaluation of various Rosa damascena flower extracts as a natural antisolar agent. International Journal of Cosmetic Science, 25: 259–265.
- [2] Joshi, H. and M. Parle. 2006. Brahmi Rasayana Improves Learning and Memory in mice. eCAM. 3(1):79-85.
- [3] Sutardi. 2008, Kandungan Bahan Aktif Tanaman Pegagan dan Khasiatnya Untuk Meningkatkan Sistem Imun Tubuh, Litbang Pertanian, 35: 121-130.
- [4] Widayani, M., Ulfa, M., Wirasisya, D.G. 2019, Efek Penghambatan Radikal Bebas Infusa dan Ekstrak Etanol Herba Pegagan (*Centella Asiatica* (L.) Urb) Dengan Metode DPPH, J. Pijar MIPA, vol(14): 100-106.
- [5] Winarsi, H. 2007, Antioksidan Alami & Radikal Bebas; Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan, Gramedia, Jakarta.
- [6] Arikumalasari, J., I GNA, D., & NPAD, W. 2013, Optimasi HPMC Sebagai Gelling Agent Dalam Formula Gel Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). Jurnal Farmasi Udayana, 2(3).
- [7] Rahmaniati M, A., Ulfah, M., & Mulangsari, D. A. K. 2018, Standarisasi Parameter Non Spesifik Ekstrak Etanol Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.)) di Dua Tempat Tumbuh, Jurnal Inovasi Teknik Kimia, 3(1); 67-71.

[8] Widyastuti, Farizal. 2014, Formulasi Gel Minyak Nilam dan Uji Daya Hambatnya Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Scientia*, 4(2): 60-65.

[9] Sikawin, Bryce Maria Brigitha, Paulina V.Y. Yamlean, Sri Sudewi. 2018, Formulasi sediaan gel antibakteri ekstrak etanol tanaman sereh (*Cymbopogon citratus* (DC). Stapf) dan uji aktivitas antibakteri (*Staphylococcus aureus*) secara *in vitro*, *Pharmacon*, 7 (3) : 302 – 310.

[10] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2008, Farmakope Herbal Indonesia, Edisi I, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, Indonesia.

[11] Destiana, Rika. 2022, “Preparasi dan Karakterisasi Submikro Partikel POLY- (LACTIC-CO-GLYCOLIC ACID) (PLGA) Pembawa Ekstrak Etanol Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) dengan Variasi Konsentrasi PLGA”, Skripsi, Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Inderalaya, Indonesia

[12] Hernández-Giottonini, K. Y., Rodríguez-Córdova, R. J., Gutiérrez-Valenzuela, C. A., Peñuñuri-Miranda, O., Zavala-Rivera, P., Guerrero-Germán, P., & Lucero-Acuña, A. 2020, PLGA Nanoparticle Preparations by Emulsification and Nanoprecipitation Techniques: Effects of Formulation Parameters, *RSC Advances*, 10(8), 4218–4231.

[13] Rowe, R.C., Sheskey, P. J. & Quinn, M.E. 2009, Handbook of Pharmaceutical Excipients, 6th edition, Pharmaceutical Press, London, UK.

[14] Naibaho, O. H., Yamelan, P. V. Y., & Wiyono, W. 2013, Pengaruh Basis Salep Terhadap Formulasi Sediaan Salep Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* L) pada Kulit Punggung Kelinci yang Dibuat Infeksi *Staphylococcus aureus*, *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2(2), 27-33.

[15] Kaur, L. P., Garg, R., & Gupta, G. D. 2010, Development and Evaluation of Topical Gel of Minoxidil from Different Polymer Bases in Application of Alopecia, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2(3), 43-47.

[16] Raissi, S. & Farsani, R. E. 2009, “Statistical Process Optimization through MultiResponse Surface Methodology,” *World Academy of Sciences, Engineering and Technology*, Vol. 51, pp. 267-271.

[17] Nuria, M.C., Faizatun, A. & Sumantri. 2009, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhi* ATCC 1408, *Mediagro*, 5(2): 26 – 37.

**LAMPIRAN (TABEL)**

Tabel 1. Formulasi gel submikro partikel

Bahan	Jumlah Bahan dalam Formulasi				
	F1	F2	F3	F4	F5
Submikro partikel PLGA ekstrak etanol daun pegagan	25 mL	25 mL	25 mL	25 mL	-
Ekstrak etanol daun pegagan	-	-	-	-	* 158 mg
Karbopol 940	0,5 %	0,75 %	0,5 %	0,75 %	**
HPMC 60-SH	0,5 %	0,5 %	1 %	1%	**
Trietanolamin	3 gtt	3 gtt	3 gtt	3 gtt	3 gtt
Propilen glikol	15 mL	15 mL	15 mL	15 mL	15 mL
Metil paraben	0,18 g	0,18 g	0,18 g	0,18 g	0,18 g
Propil paraben	0,02 g	0,02 g	0,02 g	0,02 g	0,02 g
Aquadest	ad 100 mL	ad 100 mL	ad 100 mL	ad 100 mL	ad 100 mL

Keterangan:

\*Disesuaikan dengan hasil efisiensi penjerapan submikro partikel

\*\*Diambil dari formulasi optimum diantara F1, F2, F3, F4

Tabel 2. Kelompok perlakuan

No.	Kelompok	Perlakuan
1	Kontrol Negatif	Gel pembawa submikro partikel placebo
2	Kontrol Positif	Gel pembawa klindamisin 1%
3	Kontrol Uji	Formula optimum gel submikro partikel pembawa ekstrak etanol daun pegagan
4	Kontrol Pembeding	Formula gel pembawa ekstrak etanol daun pegagan

Tabel 3. Hasil karakteristik ekstrak etanol daun pegagan

Karakteristik Ekstrak	Hasil Uji ± SD	Syarat [10]
Wujud	Kental	-
Warna	Hijau Kehitaman Pekat	-
Aroma	Khas	-
Susut Pengeringan (%)	8,71 ± 0,96	<10
Kadar Air (%)	8 ± 1	<10
Kadar Sari Larut Etanol (%)	83,33 ± 5,77	>70,5
Kadar Sari Larut Air (%)	43,33 ± 4,71	>31
Kadar Abu Total (%)	2,83 ± 1,25	≤16,6
Kadar Abu Tidak Larut Asam (%)	0,54 ± 0,24	≤0,7

Tabel 4. Evaluasi sediaan gel

Pengujian	Formula			
	I	II	III	IV
Organoleptis	Warna: kuning pucat Bau: hampir tidak berbau Tekstur: kental			
Homogenitas	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
pH	4,48 ± 0,013	4,53 ± 0,029	4,79 ± 0,048	4,32 ± 0,037
Daya Sebar (cm)	4,87 ± 0,205	6,5 ± 0,216	6,9 ± 0,245	5,33 ± 0,125
Daya Lekat (detik)	108 ± 3,742	149,33 ± 3,682	169,67 ± 7,409	169,6667 ± 7,409
Viskositas (cPs)	2778,508 ± 91,593	2020,733 ± 127,817	3149,967 ± 75,763	2407,05 ± 109,186

Tabel 5. Kriteria Optimasi

Name	Goal	Lower Limit	Upper Limit	Lower Weight	Upper Weight	Importance
Karbopol 940	Is in range	0.5	0.75	1	1	3
HPMC	Is in range	0.5	1	1	1	3
pH	Is in range	4.5	6.5	1	1	3
Daya Sebar	Is in range	5	7	1	1	3
Daya Lekat	Maximize	104	180	0.1	1	3
Viskositas	Is in range	2000	4000	1	1	3

Tabel 6. Pemilihan Formula Optimum berdasarkan Sistem

No.	Karbopol 940	HPMC	pH	Daya Sebar	Daya Lekat	Viskositas	Desirability	
1	0.500	1.000	4.793	6.900	169.667	3149.967	0.985	Selected
2	0.500	0.991	4.788	6.863	168.550	3143.239	0.984	
3	0.507	1.000	4.779	6.853	168.279	3127.719	0.983	
4	0.520	1.000	4.755	6.773	165.902	3089.603	0.980	
5	0.500	0.935	4.753	6.635	161.639	3101.604	0.973	
6	0.750	0.500	4.533	6.500	149.333	2020.733	0.950	
7	0.750	0.503	4.532	6.494	149.197	2022.760	0.949	
8	0.750	0.512	4.528	6.471	148.691	2030.278	0.948	

Tabel 7. Hasil uji cycling test

Formula	Parameter	Hasil Pengamatan	
		Sebelum	Sesudah
Optimum	Organoleptis	Kuning pucat, kental, bau khas ekstrak	Kuning pucat, kental, bau khas ekstrak
	Sineresis	Tidak terjadi pemisahan	Tidak terjadi pemisahan
	pH	5,677 ± 0,005	5,97 ± 0,014

Tabel 8. Hasil Diameter Zona Hambat

Perlakuan	Rata-rata Diameter Zona Hambat (mm) $\pm$ SD		Kriteria Kekuatan Antibakteri (Davis and Scout, 1971)	
	Hari ke-2	Hari ke-5	Hari ke-2	Hari ke-5
Kontrol Negatif	$0 \pm 0^a$	$0 \pm 0^a$	-	-
Kontrol Positif	$19,88 \pm 0,021^d$	$22,78 \pm 0,021^d$	Kuat	Sangat Kuat
Kontrol Uji	$11,20 \pm 0,020^b$	$12,89 \pm 0,020^b$	Kuat	Kuat
Kontrol Pemanding	$16,56 \pm 0,125^c$	$18,10 \pm 0,020^c$	Kuat	Kuat