

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Umum *Tree Tea Oil*

2.1.1 Taksonomi Tanaman

Tea tree oil diproduksi dari tanaman *Melaleuca alternifolia* dalam perkebunan skala besar di New South Wales dan Queensland, Australia. Diberi nama “Tea Tree” karena tanaman ini awalnya digunakan untuk membuat teh aromatik (European Medicines Agency, 2013). Taksonomi tanaman *Melaleuca alternifolia* adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Myrtales
Famili : Myrtaceae
Genus : *Melaleuca*
Spesies : *Melaleuca alternifolia*
(Depkes RI, 2006)

2.1.2 Morfologi Tanaman

1) Batang

Bentuk batang tegak dan bulat. Konsistensinya keras dengan permukaan halus dan berwarna putih abu-abu.

2) Daun

Tipe daun tunggal berseling dan berwarna hijau. Panjang daun 2-3 cm, dengan lebar 0,1-0,2 cm. pertulangan daun membujur, daging daun tipis dan permukaannya halus.

3) Bunga

Tipe bunga majemuk dan tidak bertangkai. Mahkota bunga sebanyak 5 helai, berbentuk bulat telur dan berwarna putih.

4) Akar

Tipe akar tunggang dan berwarna coklat.

(Depkes RI, 2006)



Gambar 2. 1 *Melaleuca alternifolia* (alibaba.com)

2.1.3 Tea Tree Oil

Australia merupakan produsen terbesar minyak *Melaleuca alternifolia* atau biasa disebut *tea tree oil*, namun banyak spesies yang bisa ditemukan di dunia, seperti spesies *Melaleuca armillaris*, *M. acuminata* dan *M. styphelioides* yang bisa ditemukan di Tunisia, spesies *M. ericifolia*, *M. leucadendra* bisa ditemukan di Mesir, dan spesies *M. quinquenervia* bisa ditemukan di Amerika Serikat. Meskipun begitu, yang paling sering digunakan dan diperjual-belikan di dunia adalah minyak *Melaleuca alternifolia* (Falci *et al.*, 2015).

Tea tree oil, minyak yang berasal dari tanaman *Melaleuca alternifolia*, ini sudah digunakan untuk pengobatan oleh Suku Aborigin sejak berabad-abad lalu dan sudah diidentifikasi sebagai antibiotik oleh *New South Wales chief chemist* tahun 1920. Sejak dekade lalu, *tea tree oil* ditemukan memiliki aktivitas antijamur, antibakteri, antivirus dan antiinflamasi (Australia Tea Tree Industry Association, 2007).

2% minyak essensial diperoleh dari daun *Melaleuca alternifolia* melalui ekstraksi dengan pelarut organik lipofilik atau dengan destilasi uap. *Tea tree oil* ini tidak berwarna atau berwarna kuning pucat, memiliki bau khas dan memiliki kandungan terpen yang tinggi (lebih dari 50-60%), memiliki BJ 0,89, tidak larut dalam air tetapi larut dalam sebagian besar pelarut organik (Saller *et al.*, 1998).

Proses ekstraksi dengan destilasi uap selama 2 jam dengan suhu 100°C . uap yang naik disaring melalui kondensor. Kemudian uap akan mengalami penurunan suhu yang drastis, sehingga akan menjadi tetes embun minyak dan air. Minyak dan air akan melewati ruang pemisahan sehingga didapatkan *tea tree oil* murni (Apothecary Extracts, 2013).

2.1.4 Kandungan *Tea Tree Oil*

Tea tree oil memiliki kandungan utama terpinen-4-ol (37,7%), γ -terpinen (21,25%), α -terpinen (10.5%), dan terpinolen (3.65%) (Ninomiya, 2013). Tahun 1985 standart kandungan tea tree oil ditetapkan di Australia, kemudian pada tahun 1996 ditetapkan sebagai standart internasional. Standart tersebut menyebutkan bahwa kandungan terpinen-4-ol tea tree oil 30% atau lebih dan maksimal 15% cineol (Khan & Abourashed, 2010).

Tabel II. 1 Kandungan Senyawa Kimia *Melaleuca alternifolia*

Nama Senyawa Kimia	Persentase
α -pinene	1-6
Sabinene	0-3,5
α -terpinene	5-13
Limonene	0,5-1,5
ρ -cymene	0,5-8
1,8, cineole	0-15
γ -terpinene	10-28
Terpineolene	1,5-5
Terpinen-4-ol	30-48
α -terpineol	1,5-8
Aromadendrene	0-3
Ledene	0-3
δ -candinene	0-3
Globulol	0-1
Viridiflorol	0-1

Dikutip dari Australia Government, 2007

2.1.5 Khasiat *Tea Tree Oil*

Tea tree oil sudah diketahui memiliki manfaat untuk kesehatan, yaitu antibakteri, antiseptik, analgesik, antiinflamasi, insektisidal, anti kanker dengan hasil yang sangat menarik dan memiliki potensi untuk dikembangkan kembali (Campli *et al.*, 2012 dan Li *et al.*, 2013). Penelitian terbaru menunjukkan efektivitas *tea tree oil* untuk melawan parasit protozoa seperti *Leishmania major*, tapi tidak untuk parasit nematoda (Rincón *et al.*, 2014).

Penelitian mengatakan *tea tree oil* mempunyai aktivitas spesifik dalam penggunaan topikal, seperti untuk terapi jerawat, luka bakar dan infeksi kulit lainnya. Oleh karena itu, manfaatnya yang luas dibidang farmasi dan kosmetik sudah dipertimbangkan (Ramadass & Thiagarajan, 2015).

Potensi aktivitas antibakteri *tea tree oil* dalam sediaan topikal dengan MIC 0,06-0,5% untuk bakteri spectrum luas, kecuali untuk *Pseudomonas aeruginosa* dengan MIC 2-8%. Kemampuan *Tea tree oil* sama dengan kemampuan antibakteri sintetik untuk melawan bakteri *Staphylococcus aureus* (Thomas *et al.*, 2016).

Kemampuan aktivitas antibakteri dari *tea tree oil* dibandingkan dengan asam karbolat atau fenol, menunjukkan hasil 11 kali lipat lebih aktif dengan uji koefisien Rideal-Walker (RW). Dengan demikian *tea tree oil* disarankan menjadi pilihan terapi (Salvatori *et al.*, 2017).

Studi *in vitro* menunjukkan keefektifan *tea tree oil* untuk menghambat beberapa bakteri kulit yang umum. Komponen senyawa kimia dalam *tea tree oil* (terpinen-4-ol, α -terpineol, α -pinen, dan cineol) memiliki efek untuk menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Propionibacterium acnes* (Raman *et al.*, 1995).

Penelitian yang telah dilakukan menyarankan untuk menggunakan 5% *tea tree oil* secara topikal untuk pengobatan antibakteri dan menunjukkan khasiat dari *tea tree oil* melawan *Staphylococcus aureus* (Enshaleh *et al.*, 2007).

2.1.6 Mekanisme Antibakteri *Tea Tree Oil*

Komponen utama antibakteri pada senyawa yang terkandung dalam *tea tree oil* adalah terpinen-4-ol. Namun, selain itu senyawa linalool, dan α -terpineol juga memberikan efek antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (May J *et al.*, 2000).

Tea tree oil menunjukkan aktivitas antibakteri dengan mengganggu permeabilitas membran sehingga menyebabkan sel tersebut mati. Bisa membunuh *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* (Lahkar *et al.*, 2013).

Mekanisme terpinen-4-ol untuk membunuh bakteri yaitu dengan merusak dinding sel bakteri, ditunjukkan dengan hilangnya materi inti sel dan K^+ , mengganggu keseimbangan garam dalam sel, dan adanya penghambatan respirasi glukosa dalam pengamatan mikroskop elektron setelah dilakukan pemberian *tea tree oil* secara *in vitro* pada bakteri *Staphylococcus aureus* (Gustafson *et al.*, 1998).

Penelitian yang dilakukan oleh Christoph *et al.*, (2001), menyatakan bahwa *tea tree oil* memberikan efek bakteriolitik dan bakteriosidal pada sitoplasma bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.

2.2 Tinjauan tentang *Staphylococcus aureus*



Gambar 2. 2 *Staphylococcus aureus* (healthtype.com)

2.2.1 Klasifikasi *Staphylococcus aureus*

Domain	: Bacteria
Kingdom	: Eubacteria
Phylum	: Firmicutes

Class : Bacilli
Order : Bacillales
Family : Staphylococcus
Species : *Staphylococcus aureus*
(Brooks, 1995)

2.2.2 Morfologi dan Identifikasi *Staphylococcus aureus*

a. Ciri khas

Sel berbentuk kokus dengan diameter 1 μm . Tersusun dalam bentuk kluster yang tidak teratur. Merupakan kokus tunggal, berpasangan, tetrad, dan bentuk rantai juga terlihat dibiakan cair, spesies mikrokokus sering menyerupai. Koloni *Staphylococcus aureus* dapat berwarna kuning, merah, atau jingga (Brooks dkk., 2005).

b. Biakan

Staphylococcus aureus tumbuh dengan baik pada berbagai media bakteriologi dibawah suasana aerobik atau mikroaerofilik. Tumbuh cepat pada temperatur 37⁰C namun membentuk pigmen yang terbaik pada temperatur kamar (20-35⁰C). Koloni pada media yang padat berbentuk bulat, lembut, dan mengkilap. Biasanya membentuk koloni abu-abu hingga kuning emas. Jika pada media cair tidak ada pigmen yang dihasilkan secara anaerobik (Brooks dkk., 2005).

c. Karakteristik pertumbuhan

Staphylococcus aureus dapat meragikan karbohidrat dengan membentuk asam laktat tetapi tidak menghasilkan gas. *Staphylococcus aureus* relatif resisten terhadap pengeringan panas (tahan pada suhu 50⁰C selama 30 menit) dan NaCl 9% tetapi mudah dihambat oleh bahan kimia tertentu seperti heksaklorofen 3% (Jawetz *et al.*, 2007).

d. Patogenesis

Kemampuan patogenik dari *Staphylococcus aureus* adalah pengaruh gabungan antara faktor ekstraseluler dan toksin bersama dengan sifat daya sebar invasif. Pada satu sisi semata-mata diakibatkan oleh ingesti enterotoksin, pada sisi lain adalah bakterimia dan abses pada berbagai organ. Peranan berbagai bahan ekstraseluler pada patogenesis berasal

dari sifat masing-masing bahan. *Staphylococcus aureus* yang patogenik dan yang invasif menghasilkan koagulase dan cenderung menghasilkan pigmen kuning dan menjadi hemolitik. Sedangkan yang non-patogenik dan non-invasif cenderung menjadi non-hemolitik (Brooks dkk., 2005).

e. Patologi

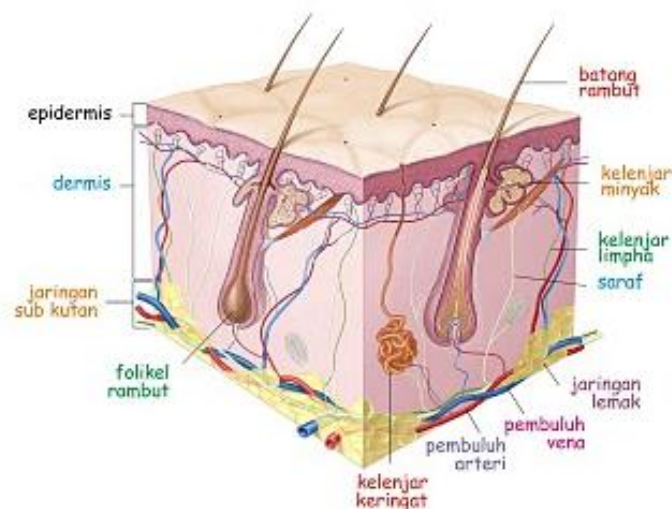
Staphylococcus aureus dapat menyebabkan terjadinya berbagai jenis infeksi mulai dari infeksi kulit, keracunan makanan sampai dengan infeksi sistemik. Infeksi kulit yang biasanya disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* yaitu impetigo, selulitis, folikulitis, dan abses (Salmenlina, 2002).

2.3 Tinjauan tentang Kulit

2.3.1 Definisi Kulit

Kulit merupakan salah satu organ pada tubuh manusia. Kulit memiliki luas sekitar $1,5 \text{ m}^2$, dan beratnya 15% dari berat badan. Kulit merupakan organ tubuh yang terletak paling luar dan merupakan proteksi terhadap organ-organ yang terdapat dibawahnya dan membangun sebuah barrier yang memisahkan organ-organ internal dengan lingkungan luar dan turut berpartisipasi dalam banyak fungsi tubuh yang vital. Kulit juga diperlukan untuk regulasi panas, sensasi, dan membuat vitamin D (Tabri & Firmansyah, 2016).

2.3.2 Struktur Kulit



Gambar 2. 3 Struktur kulit (dosenpendidikan.com)

Menurut Kalangi (2013), kulit terdiri atas 2 lapisan utama yaitu epidermis dan dermis. Epidermis merupakan jaringan epitel yang berasal dari ektoderm, sedangkan dermis berupa jaringan ikat agak padat berasal dari mesoderm. Di bawah dermis juga terdapat jaringan ikat longgar yaitu hipodermis (subkutis), yang pada beberapa tempat terutama terdiri dari jaringan lemak.

1. Epidermis

Epidermis merupakan lapisan paling luar kulit dan terdiri atas epitel berlapis gepeng dengan lapisan tanduk. Epidermis hanya terdiri dari jaringan epitel, tidak mempunyai pembuluh darah maupun limfa; oleh karena itu semua nutrisi dan oksigen diperoleh dari kapiler pada lapisan dermis.

Epidermis terdiri atas 5 lapisan yaitu, dari dalam keluar, stratum basal, stratum spinosum, stratum granulosum, stratum lusidum, dan stratum korneum.

Stratum basal terletak paling dalam dan terdiri atas satu lapis sel yang tersusun berderet-deret diatas membran basal dan melekat pada dermis di bawahnya. Sel-selnya kuboid atau silindris. Intinya besar, jika dibandingkan ukuran selnya, dan sitoplasmanya basofilik. Pada lapisan ini terlihat gambaran mitotik sel, poliferasi selnya berfungsi untuk regenerasi epitel. Sel-sel pada lapisan ini bermigrasi kearah permukaan untuk memasok sel-sel pada lapisan yang lebih superfisial.

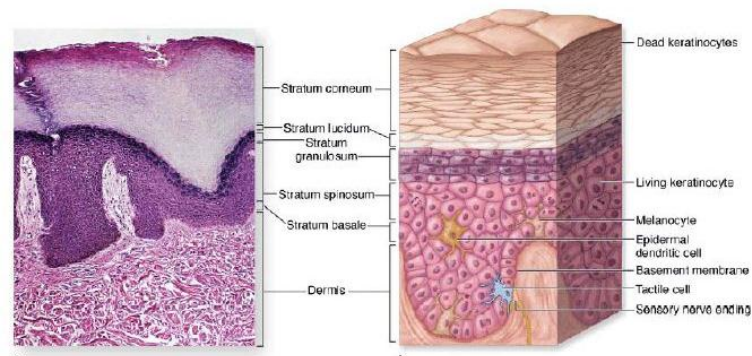
Stratum spinosum terdiri atas beberapa lapis sel yang besar-besar berbentuk poligonal dengan inti lonjong dan sitoplasmanya kebiruan. Pada dinding sel yang berbatasan dengan sel di sebelahnya akan terlihat taju seolah-olah menghubungkan sel satu dengan lainnya melalui pengamatan dengan pembesaran obyektif 45x. pada taju ini terdapat desmosom yang melekatkan sel satu sama lain pada lapisan ini. Semakin ke atas bentuk sel semakin gepeng.

Stratum granulosum terdiri atas 2-4 lapis sel gepeng yang mengandung banyak granula basofilik yang disebut granula keratohialin. Jika dilihat dengan mikroskop elektron merupakan partikel amorf tanpa

membran tetapi dikelilingi ribosom. Mikrofilamen melekat pada permukaan granula.

Stratum lusidum dibentuk oleh 2-3 lapisan sel gepeng yang tembus cahaya, dan agak eosinofilik. Tak ada inti maupun organel pada sel-sel lapisan ini. Ada sedikit desmosom, tetapi pada lapisan ini adhesi kurang sehingga pada tampilannya tampak garis celah yang memisahkan stratum korneum dari lapisan lain di bawahnya.

Stratum korneum terdiri atas banyak lapisan sel-sel mati, pipih dan tidak berinti serta sitoplasmanya digantikan oleh keratin. Sel yang paling permukaan merupakan sisik zat tanduk terdehidrasi yang selalu terkelupas.



Gambar 2. 4 Struktur epidermis kulit (Mescher AL, 2010)

2. Dermis

Dermis terdiri atas stratum papilaris dan stratum retikularis, batas antara kedua lapisan tidak tegas, serat antaranya saling menjalin.

Stratum papilaris tersusun lebih longgar, ditandai oleh adanya papila dermis yang jumlahnya bervariasi antara 50-250/mm². Jumlahnya terbanyak dan lebih dalam pada daerah dimana tekanan paling besar, seperti telapak kaki. Sebagian besar papila mengandung pembuluh-pembuluh kapiler yang memberi nutrisi pada epitel di atasnya. Papila lainnya mengandung badan aktif saraf sensoris yaitu badan Meissner. Tepatnya di bawah epidermis serat-serat kolagen tersusun rapat.

Stratum retikularis ini lebih tebal dan dalam. Berkas-berkas kolagen kasar dan sejumlah kecil serat elastin membentuk jalinan yang padat ireguler. Pada bagian lebih dalam, jalinan lebih terbuka, rongga-

rongga diantaranya terisi jaringan lemak, kelenjar keringat dan sebacea, serta folikel rambut. Serat otot polos juga ditemukan pada tempat tertentu. Pada kulit wajah dan leher, serat otot skelet menyusupi jaringan ikat pada dermis. Otot-otot ini berperan untuk ekspresi wajah. Lapisan reticular menyatu dengan hypodermis/fasia superfisial di bawahnya yaitu jaringan ikat longgar yang banyak mengandung sel lemak.

3. Hipodermis (Subkutis)

Sebuah lapisan subkutan di bawah retikularis dermis disebut hypodermis. Berupa jaringan ikat lebih longgar dengan serat kolagen halus teorientasi terutama sejajar terhadap permukaan kulit, beberapa diantaranya menyatu dengan dermis. Sel-sel lemak dilapisan ini lebih banyak daripada pada lapisan dermis, namun jumlahnya tergantung jenis kelamin dan keadaan gizi. Lemak subkutan cenderung mengumpul di daerah tertentu, seperti pada paha dapat mencapai ketebalan 3 cm atau lebih. Lapisan lemak ini disebut pannikulus adiposus.

2.4 Tinjauan tentang Antibakteri

Antibakteri adalah suatu senyawa yang mampu menghambat pertumbuhan maupun pembunuhan mikroorganisme (Jawetz *et al.*, 1986). Kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri masing-masing dikenal sebagai kadar hambat minimal (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM). Antibakteri tertentu aktivitasnya dapat meningkat menjadi bakterisid bila kadar antibakterinya ditingkatkan melebihi KHM. Pemusnahan mikroba dengan mikroba yang bersifat bakteristatik masih tergantung dari kesanggupan reaksi daya tahan tubuh hospes. Peran lamanya kontak antara mikroba dalam kadar efektif juga sangat menentukan untuk mendapatkan efek (Setiabudy dkk., 1995).

Antibakteri dibagi menjadi lima kelompok berdasarkan mekanisme kerjanya, yaitu:

1. Antibakteri yang menghambat metabolisme sel bakteri

Pada mekanisme ini diperoleh efek bakteristatik. Antibakteri yang termasuk dalam golongan ini adalah sulfonamide, trimethoprim, asam p-aminosalisilat, dan sulfon. Kerja antibakteri ini adalah menghambat

pembentukan asam folat, bakteri membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya dan bakteri memperoleh asam folat dengan mensintesis sendiri dari asam para amino benzoate (PABA). Antibiotik bekerja bersaing dengan PABA dalam pembentukan asam folat, ada juga yang bekerja dengan menghambat enzim dihidrofolat reduktase (Setiabudy dkk., 1995).

2. Antibakteri yang menghambat sintesis dinding sel bakteri

Dinding sel bakteri terdiri dari peptidoglikan, sintesis peptidoglikan akan dihalangi oleh adanya antibiotik seperti penisilin, sefalosporin, basitrasin, vankomisin, dan sikloserin. Sikloserin akan menghambat reaksi paling dini dalam proses sintesis dinding sel sedang yang lainnya menghambat di akhir sintesis peptidoglikan, sehingga mengakibatkan dinding sel menjadi tidak sempurna dan tidak mempertahankan pertumbuhan sel secara normal sehingga tekanan osmotik dalam sel bakteri lebih tinggi daripada tekanan di luar sel maka kerusakan dinding sel bakteri akan menyebabkan lisis, yang merupakan dasar efek bakterisidal pada bakteri yang peka (Setiabudy dkk., 1995).

3. Antibakteri yang mengganggu membran sel bakteri

Sitoplasma dibatasi oleh membran sitoplasma yang merupakan penghalang dengan permeabilitas yang selektif. Membran sitoplasma akan mempertahankan bahan-bahan tertentu di dalam sel serta mengatur aliran keluar masuknya bahan-bahan lain. Jika terjadi kerusakan pada membran ini akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel (Pelczar dan Chan, 2008).

4. Antibakteri yang menghambat sintesis protein sel bakteri

Kehidupan sel bergantung pada terpeliharanya molekul-molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan alamiah. Jika kondisi atau substansi yang dapat mengakibatkan terdenaturasinya protein dan asam nukleat dapat merusak sel tanpa dapat diperbaiki kembali. Suhu tinggi dan konsentrasi pekat beberapa zat kimia dapat mengakibatkan koagulasi yang bersifat *irreversible* terhadap komponen seluler yang vital ini (Pleczar dan Chan, 2008).

5. Antibakteri yang menghambat sintesis atau merusak asam nukleat Protein, DNA, dan RNA berperan penting dalam proses kehidupan normal sel bakteri. Apabila terjadi gangguan pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel (Pleczar dan Chan, 2008).

Menurut Madigan *et al.*, (2000), berdasarkan sifat toksisitas selektif, senyawa antibakteri mempunyai 3 macam efek terhadap pertumbuhan bakteri, yaitu:

1. Bakteriostatik

Bakteriostatik memberikan efek dengan cara menghambat pertumbuhan tetapi tidak membunuh. Senyawa ini seringkali menghambat sintesis protein atau mengikat ribosom.

2. Bakteriosidal

Bakteriosidal memberikan efek membunuh bakteri tapi tidak terjadi lisis atau pecah.

3. Bakteriolitik

Bakteriolitik menyebabkan sel lisis sehingga jumlah sel berkurang atau terjadi kekeruhan setelah penambahan antibakteri.

2.5 Tinjauan tentang Uji Aktivitas Antibakteri

2.5.1 Metode Pengujian Antibakteri

Aktivitas antibakteri ditentukan oleh spektrum kerja, cara kerja, dan ditentukan pula oleh konsentrasi minimum untuk inhibisi (KMI) serta potensi pada KMI. Suatu antibakteri dikatakan mempunyai aktivitas tinggi apabila KMI terjadi pada kadar antibiotik yang rendah tetapi mempunyai daya bunuh atau daya hambat yang besar. Pada percobaan *in vitro* dengan metode lempeng agar dapat dilihat pada besar diameter hambatan pertumbuhan mikroba di sekeliling antibiotik. Bila antibiotik pada kadar yang rendah dapat memberikan diameter hambatan yang luas dan bening di sekeliling antibiotik, antibiotik tersebut berpotensi tinggi terhadap mikroba uji yang digunakan (Wattimena *et al.*, 1991).

Menurut Pratiwi (2008), uji antimikroba adalah sebagai berikut:

1. Metode difusi

- a. *Metode disc diffusion* untuk menentukan aktivitas agen antimikroba. Piringan yang berisi agen antimikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media agar.
- b. *Metode E-test* digunakan untuk mengestimasi MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) atau KHM (Kadar Hambat Minimum), yaitu konsentrasi minimal suatu agen antimikroba untuk dapat menghambat pertumbuhan mikroba. Pada metode ini digunakan strip plastik yang mengandung agen antimikroba dari kadar terendah hingga tertinggi dan diletakkan pada permukaan media agar yang telah ditanami mikroorganisme. Pengamatan dilakukan pada area jernih yang ditimbulkan yang menunjukkan kadar agen antimikroba yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada media agar.
- c. *Ditch plate technique*, pada metode sampel uji berupa agen antimikroba yang diletakkan pada parit yang dibuat dengan cara memotong media agar dalam cawan petri pada bagian tengah secara membujur dan mikroba uji (maksimal 6 macam) digoreskan ke arah parit yang berisi agen antimikroba.
- d. *Cup-plate technique*, pada metode ini serupa dengan metode *disc diffusion*, dimana dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi bakteri agen antimikroba yang diuji.
- e. *Gradient-plate technique*, pada metode ini konsentrasi agen antimikroba pada media agar secara teoritis bervariasi dari 0 hingga maksimal. Media agar dicairkan dan larutan uji ditambahkan. Campuran kemudian dituang ke dalam cawan petri dan diletakkan dalam posisi miring. Nutrisi kedua dituang di atasnya dan diinkubasi 24 jam untuk memungkinkan agen antimikroba berdifusi dan permukaan media mengering. Mikroba uji (maksimal 6 macam) digoreskan pada arah mulai dari konsentrasi tinggi hingga rendah.

Hasil diperhitungkan sebagai panjang total pertumbuhan mikroorganisme maksimum yang mungkin dibandingkan dengan panjang pertumbuhan hasil goresan. Perlu diperhatikan dari hasil perbandingan yang didapat lingkungan padat dan cair, faktor difusi agen antimikroba dapat mempengaruhi keseluruhan hasil pada media padat.

2. Metode dilusi

Metode dilusi dibedakan menjadi 2, yaitu:

a. Metode dilusi cair

Metode ini mengukur MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) atau KHM (Kadar Hambat Minimum) dan MBC (*Minimum Bactericidal Concentration*) atau KBM (Kadar Bunuh Minimum). Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Larutan uji agen antimikroba pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa ada pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM. Selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan mikroba uji ataupun agen antimikroba dan diinkubasi selama 18-24jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai KBM.

b. Metode dilusi padat

Metode ini serupa dengan metode dilusi cair, namun menggunakan media padat (solid). Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji.

2.5.2 Kontrol Positif Antibakteri

Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian untuk uji aktivitas antibakteri sediaan emulgel *Tea tree oil* adalah salep fucidin. Berdasarkan penelitian Goldman (2011), menunjukkan bahwa 2% fucidin mampu melawan *Staphylococcus aureus*.

Didukung dengan penelitian Gail Mkele (2009), sediaan topikal asam fucidat dapat melawan bakteri *Staphylococcus aureus*, *streptococcus*, dan *Neisseria* spp.

2.6 Tinjauan tentang Emulgel

2.6.1 Definisi Emulgel

Emulsi adalah suatu sistem dimana terdiri atas sedikitnya dua fase cair yang tidak tercampurkan. Sistem ini tidak stabil secara termodinamika dan dapat distabilkan dengan bahan pengemulsi (Sinko, 2012). Emulgel merupakan tipe emulsi minyak dalam air (m/a) atau air dalam minyak (a/m) yang dicampur dengan basis gel (*gelling agent*) (Anwar dkk., 2014). *Gelling agent* yang terdapat dalam sistem emulsi ini memungkinkan formulasi menjadi stabil dengan menurunkan tegangan permukaan (Panwar *et al.*, 2011).

2.6.2 Kelebihan dan Kekurangan Emulgel

Keuntungan sediaan emulgel adalah sebagai berikut:

1. Menghindari terjadinya *first past metabolism*.
2. Kemudahan penggunaan sediaan.
3. Meningkatkan kepatuhan pasien.
4. Dapat segera dihentikan pemakaiannya jika dibutuhkan.
5. Sesuai untuk obat yang memiliki waktu paruh pendek maupun obat keras.
6. Untuk penghantaran obat spesifik.

Kekurangan sediaan emulgel adalah sebagai berikut:

1. Kesulitan mengabsorpsi obat dengan ukuran partikel yang besar.
2. Tidak cocok untuk obat dengan permeabilitas yang buruk.
3. Dapat menyebabkan iritasi.

(Joshi *et al.*, 2011)

2.6.3 Evaluasi Sediaan Emulgel

Evaluasi sediaan dilakukan untuk mengetahui apakah sediaan yang dibuat telah sesuai dengan kriteria yang ditentukan dan mencapai hasil yang maksimal (Barry, 1983).

Evaluasi sediaan emulgel meliputi:

1. Organoleptis
2. Uji pH
3. Viskositas
4. Daya sebar
5. Stabilitas
6. Uji tipe emulsi

(Ansiya, 2014 dan Yenti dkk., 2014)

2.6.6 Formulasi Emulgel

Formulasi berdasarkan acuan pada formula emulgel klotrimazol dalam 100 gram (Yassin, 2014), dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel II. 2 Formula Acuan Emulgel Klotrimazol

Nama Bahan	Fungsi	Penggunaan (%)
Clotrimazole	Bahan aktif	1
Carbopol 934	Gelling agent	1
Liquid paraffin	Fase minyak	5
Tween 20	Emulgator	1
Span 20	Emulgator	1,5
Propilen glikol	Humektan	5
Ethanol	Pelarut	2,5
Metil paraben	Pengawet	0,03
Propil paraben	Pengawet	0,01
Purified water to	Pelarut	100

Dilakukan modifikasi dengan mengubah zat aktif dan beberapa bahan tambahannya. Formula hasil modifikasi terdapat pada tabel berikut:

Tabel II. 3 Formula Emulgel *Tea Tree Oil*

Nama Bahan	Fungsi	Penggunaan (%)	Rentang (%)
CMC Na	Gelling agent	2,5	3-6
Tween 80	Emulgator	5	1-15
Propilen glikol	Humektan	5	5-80
BHT	Anti oksidan	0,1	0,02-0,5
Nipagin	Pengawet	0,1	0,01-0,6
Nipasol	Pengawet	0,12	0,12-0,18
Na-EDTA	Chelating agent	0,05	0,005-0,1
Aquadest	Pelarut	Ad 100	-

2.6.7 Tinjauan Bahan

a. CMC Na (Rowe *et al.*, 2009)

Sinonim : Carboxy methyl cellulose

Pemerian : Serbuk atau butiran, putih atau putih gading, tidak berbau, higroskopis.

Kelarutan : Mudah mendispersi dalam air, membentuk suspensi koloidal, tidak larut dalam etanol 95%, eter dan pelarut organik lain.

Penggunaan : *Gelling agent* rentang pemakaian 3-6%

b. Tween 80 (Rowe *et al.*, 2009)

Sinonim : Polysorbate 80

Rumus molekul : $C_{32}H_{60}O_{10}$

Berat molekul : 604.811

Pemerian : Kental seperti minyak, jernih, berwarna kuning bau asam lemak khas.

Kelarutan : Mudah larut dalam air, etanol 95%, etil asetat dan menthol, sukar larut dalam paraffin cair dan minyak biji kapas.

Penggunaan : Emulgator dengan rentang 1-15%.

c. Propilen glikol (Rowe *et al.*, 2009)

Sinonim : Methyl ethylene glikol, metil glikon

Rumus molekul : $C_3H_8O_2$

Berat molekul : 76.09

Pemerian : Tidak berwarna, kental, cairan praktis tidak berbau, rasa manis dan sedikit tajam menyerupai gliserin.

Kelarutan : Larut dengan aseton, kloroform, etanol 95%, gliserin dan air, larut dalam 6 bagian eter, tidak larut dalam minyak mineral dapat melarutkan beberapa minyak.

Penggunaan : Humektan dengan pemakaian $\approx 15\%$.

d. BHT (Rowe *et al.*, 2009)

Sinonim : Agidol; BHT; 2,6-bis(1,1-dimetiletil)-4-metilpenol; butil hidroksi toluen; butil hidroksi toluenum; Dalpac; dibutilat hidroksi toluena; 2,6-di-tert-butyl-p-cresol; 3,5-di-tert-butyl-4-hidroksi toluena; E321; Embanox BHT; Impruvol; Ionol CP; Nipanox BHT; OHS28890; Sustane; Tenox BHT; Topanol; Vianol

Rumus molekul : $C_{15}H_{24}O$

Berat molekul : 220.35

Pemerian : Putih atau kuning pucat, Kristal padat atau serbul, berbau fenol lemah.

Kelarutan : Praktis tidak larut air, gliserin, propilen glikol, larutan alkali hidroksida dan asam mineral encer. Larut dalam aseton, benzene, etanol 95%, eter, metanol, toluene, minyak, minyak atsiri dan minyak mineral.

Penggunaan : Anti oksidan dengan rentang 0.02-0.5%

e. Nipagin (Rowe *et al.*, 2009)

Sinonim : Asam 4-hidroksibenzoat metal ester, metal ρ -hidroksibenzoat

Rumus molekul : $C_8H_8O_3$

Berat molekul : 152.15

Pemerian : Kristal tidak berwarna atau Kristal serbuk berwarna putih, tidak berbau atau hampir tidak berbau dan sedikit rasa membakar.

Kelarutan : Pada suhu 25⁰C larut dalam s bagian etanol, 3 bagian etanol 95%, 6 bagian etanol 50%, 200 bagian etanol 10%, 10 bagian eter, 60 bagian gliserin, 2 bagian methanol, praktis tidak larut dalam minyak mineral, 5 bagian propilen glikol, 400 bagian air 25⁰C dan 30 bagian air 80⁰C.

Penggunaan : Pengawet dengan rentang 0.12-0.18%

f. Nipasol (Rowe *et al.*, 2009)

Sinonim : 4-hidroxybenzoic acid propyl ester, propagin; propil paraben; propil p-hidroksibenzoat.

Rumus molekul : C₁₀H₁₂O₃

Berat molekul : 180.20

Pemerian : Kristal putih, tidak berbau, dan tidak berasa.

Kelarutan : Larut dalam aseton, ester, 1,1 bagian etanol, 5,6 bagian etanol 50%, 250 bagian gliserin, 3330 bagian mineral oil, 70 bagian minyak kacang, 3,9 bagian propilen glikol, 110 bagian propilen glikol 50%, 4350 bagian air 15⁰C, 2500 bagian air, 225 bagian air 80⁰C.

Penggunaan : Pengawet dengan rentang pemakaian 0.01-0.6%

g. Na-EDTA (Rowe *et al.*, 2009)

Sinonim : Disodium edetate, disodium EDTA, edetic acid, garam disodium.

Pemerian : Kristal putih, bubuk tidak berbau, berasa sedikit seperti cuka.

Kelarutan : larut dalam air 1:11.

Kegunaan : Chelating agent.

h. Aquadest (Rowe *et al.*, 2009)

Sinonim : Aqua, aqua purificata, hidrogen oksida

Berat molekul : 18,02

Struktur kimia : H₂O

Pemerian : Air digunakan untuk minum, air pada industri farmasi yang digunakan adalah air murni, air steril, air steril untuk injeksi, air steril untuk irigasi, air steril untuk inhalasi, air merupakan cairan yang encer, tidak berwarna, tidak berbau rasa cairan.

