

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Daun Pegagan (*Centella asiatica*)

1. Klasifikasi tanaman pegagan (*Centella asiatica*)

Tanaman pegagan (*Centella asiatica*) termasuk jenis tumbuhan liar yang merambat dan mampu hidup di berbagai lingkungan tropis serta subtropis. Keberadaannya banyak dijumpai di tempat-tempat yang basah dan kaya nutrisi, misalnya sawah, pinggir jalan. Pegagan memiliki klasifikasi maupun taksonomi sebagai berikut (Sulistio, 2021) :

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Dikotiledon
Ordo	: Umbellales
Famili	: Apiaceae
Genus	: <i>Centella</i>
Spesies	: <i>Centella asiatica</i> (L.) Urban
Sinonim	: <i>Hydrocotyle asiatica</i>



Sumber: (foto di ambil di persawahan)

Gambar 1 Tanaman Pegagan

2. Morfologi Pegagan (*Centella asiatica*)

Pegagan merupakan tanaman obat herba dari keluarga Apiaceae yang hidup menjalar dengan tinggi sekitar 10 hingga 30 cm. Tanaman ini memiliki batang yang tumbuh menjalar di permukaan tanah maupun di bawah permukaan tanah, serta membentuk stolon bercabang dengan panjang sekitar 10–80 cm. Pada beberapa bagian stolon, dapat tumbuh akar yang kemudian berkembang menjadi anakan baru. Daunnya berbentuk seperti kipas atau ginjal, berwarna hijau, licin di permukaan maupun punggungnya, serta memiliki tepi yang sedikit melengkung ke atas bergerigi dan kadang juga berambut halus (Fernenda, 2022).

Tulang daun berpusat di pangkal dan menjalar hingga ke ujungnya, dan tangkai daun menyerupai pelepah. Sisik daun yang terletak di pangkal sangat pendek, halus dan tidak berambut. Bunga pegagan berukuran sangat kecil, muncul dari ketiak daun, dan tersusun dalam bentuk payung berwarna putih hingga kemerahan. Dinding buah cukup tebal dengan kulit keras berwarna kuning, berlekuk dua dan memiliki rusuk yang tampak jelas (Sutardi, 2016).

3. Nama daerah tanaman pegagan (*Centella asiatica*)

Beragam daerah di Indonesia memiliki sebutan masing-masing untuk tanaman pegagan. Di lingkungan (Sunda) tanaman ini dinamai *antan gedé* atau *antan rambat*. Di tanah (Jawa) terdapat beberapa nama seperti *gagan-gagan*, *kerok batok*, *panegowang*, *rending*, dan *calingan rambat*. sementara di (Bali) dikenal sebagai *piduh* atau *taiduh* (Pradono & Darusman, 2011).

4. Manfaat Pegagan (*Centella asiatica*)

Menurut Sutardi (2016), Pegagan merupakan tumbuhan dengan sejumlah manfaat bagi kesehatan, tanaman ini juga digunakan untuk menjaga kesehatan kulit dan mempercepat perbaikan luka, tanaman menunjukkan aktivitas antioksidan, antijamur, dan antibakteri.

5. Kandungan Pegagan (*Centella asiatica*)

Menurut Fernenda (2022), kandungan senyawa kimia dalam tanaman pegagan meliputi saponin, flavonoid, steroid, terpenoid, tanin, serta alkaloid. Senyawa steroid dan tanin tergolong triterpenoid, sementara flavonoid dan tanin termasuk kelompok fenol. Berikut masing-masing kemampuan antibakteri kandungan senyawa kimia dalam pegagan;

- a. Flavonoid menghambat pembentukan asam nukleat, mengganggu kerja membran sel, serta menghambat proses metabolisme energi.
- b. Aktivitas tanin sebagai antibakteri terkait dengan kemampuannya menonaktifkan adhesi pada sel mikroba, mengganggu mekanisme transpor protein, serta menekan aktivitas enzim. Tanin juga dapat menembus membran karena kemampuannya mengendapkan protein dan mengurangi jumlah enzim yang tersedia.
- c. Senyawa steroid bekerja melalui interaksi dengan membran lipid sehingga lebih rentan terhadap zat yang dapat menyebabkan kebocoran alam lisosom bakteri.
- d. Selain itu, daun pegagan mengandung saponin yang menurunkan daya serap membran bakteri dan memicu perubahan pada struktur serta fungsi membran sel. Pemutusan ikatan turut memperparah kerusakan membran.

- e. Terpenoid bersifat antibakteri dengan cara berinteraksi dengan protein transmembran pada dinding sel bakteri bagian luar, sehingga menghambat pembentukan protein tersebut. Kerusakan pada membran dapat menghambat hingga mematikan bakteri.
- f. Alkaloid mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan gram negatif, dan efektivitasnya ditentukan oleh aktivitas senyawa alkaloid itu sendiri. Alkaloid juga memanfaatkan tingkat keasaman lingkungan untuk menghentikan perkembangan bakteri.

Hasil penelitian Habibah (2024), mengungkapkan bahwa ekstrak kombinasi daun pegagan (*Centella asiatica*) dan suruhan (*Peperimoia Pellucida L. Kunth*) memiliki kemampuan antibakteri untuk melawan *Propionibacterium acnes* karena kemampuan sampel ekstrak untuk menghentikan pertumbuhan bakteri tersebut.

B. Senyawa Metabolit Sekunder Sebagai Antibiotik

Menurut Hartati (2015), metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, dan terpenoid memiliki aktivitas antibakteri melalui mekanisme merusak membran sel dan penghambatan metabolisme bakteri. Meskipun tidak berfungsi langsung dalam pertumbuhan, perkembangan, atau reproduksi tanaman, metabolit sekunder memiliki peran vital dalam pertahanan tumbuhan terhadap bakteri, jamur, amoeba, serangga, serta hewan logam, pengaturan hormon, dan bertindak sebagai efektor dalam proses diferensiasi tumbuhan karena banyaknya kandungan senyawa antimikroba yang terkandung dalam ekstrak tumbuhan. Ekstrak tumbuhan merupakan sumber yang berpotensi melawan sumber patogen antibakteri. Aktivitas antimikroba dari ekstrak ini telah dievaluasi untuk menentukan kelayakan penggunaannya untuk pengobatan. Pada umumnya, bakteri

gram positif lebih sensitif terhadap ekstrak antibakteri dibandingkan bakteri gram negatif. Perbedaan tingkat sensitivitas ini dipengaruhi oleh struktur dinding sel. Bakteri gram positif memiliki lapisan peptidoglikan yang tidak efektif mencegah penetrasi senyawa lipofilik. Sebaliknya, bakteri gram negatif memiliki lapisan luar lipopolisakarida yang berfungsi sebagai penghalang efektif terhadap masuknya zat lipofilik (Hong, 2015).

Berikut ini merupakan beberapa senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antibakteri:

1. Flavonoid

Flavonoid termasuk senyawa aromatik yang memiliki aktivitas antioksidan (Zarah, 2018). Sebagai besar flavonoid bersifat antioksidan, antiinflamasi, serta antitumor, dan juga memiliki aktivitas antibakteri. Mekanisme antibakteri flavonoid melibatkan pembentukan kompleks dengan protein melalui ikatan non spesifik seperti ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik bahkan melalui ikatan kovalen. Mekanisme ini memungkinkan flavonoid menghambat adhesi, sistem enzim, serta protein yang berperan dalam transpor membran sel. Selain itu, sifat lipofiliknya dapat mengganggu stabilitas dan fungsi membran (Othman *et al.*, 2019).

2. Tanin

Tanin merupakan senyawa polifenol dengan gugus hidroksil yang kompleks (Eldin dkk., 2016). Senyawa ini mampu membentuk kompleks yang kuat dan berinteraksi dengan protein maupun berbagai makromolekul lainnya. Salah satu fungsi utama tanin pada tumbuhan yaitu sebagai mekanisme pertahanan terhadap gangguan yang disebabkan oleh hewan. Tanin juga dikenal sebagai senyawa anti

nutrisi. Tanin dapat berikatan dengan protein dan membentuk kompleks protein melalui ikatan kovalen maupun non-kovalen. Selain itu, tanin juga dapat berinteraksi dengan polisakarida, sehingga memberikan efek antimikroba (Hersila, 2023).

3. Alkaloid

Alkaloid merupakan kelompok sekunder dengan struktur molekul yang kompleks dan sangat bervariasi. Seperti halnya senyawa fenol, alkaloid dapat ditemukan di berbagai bagian tanaman meskipun beberapa jenis hanya muncul pada bagian tertentu. Selain berasal dari tumbuhan alkaloid juga ditemukan pada sejumlah organisme laut. Senyawa alkaloid telah terbukti memiliki aktivitas antimikroba. Aktivitas tersebut bekerja melalui berbagai mekanisme salah satunya penghambatan proses pembelahan sel-sel. Mekanisme ini terjadi melalui penghentian kerja enzim dihidrofolat reduktase, yang pada akhirnya menghambat sintesis asam nukleat. Alkaloid juga dapat merusak membran bakteri. Misalnya alkaloid jenis polimer yang bersifat kationik maupun merusak membran luar bakteri Gram negatif dan menyebabkan depolarisasi membran pada bakteri gram positif (Othman, 2019).

4. Terpenoid

Terpenoid merupakan kelompok terbesar dari metabolit sekunder yang mencakup berbagai tipe senyawa. Berdasarkan jumlah unit isopren, terpenoid dibedakan menjadi hemiterpen, monoterpen, seskuiterpen, diterpen, triterpen, monoterpen, politerpen. Variasi struktur terpenoid sangat luas mulai dari hemiterpen dengan lima karbon aldehid senyawa seperti karet yang terdiri atas ribuan unit isopren (Hartati, 2015).

Secara kimia, terpenoid dapat mengandung gugus alkohol, aldehid, fenol, keton, eter, maupun hidrokarbon. Aktivitas antibakteri terpenoid sangat dipengaruhi oleh tipe minyak esensial atau strain bakteri yang digunakan. Hasil studi terdahulu menunjukkan bahwa terpenoid dengan inti aromatik dan gugus polar mampu menunjukkan aktivitas antimikroba melalui mekanisme sel, seperti merusak membran dan mengubah fungsi saluran ion. Perubahan tersebut meningkatkan permeabilitas membran, sehingga menyebabkan keluarnya zat penting dari dalam sel serta penghambatan enzim target (Mierza dkk., 2023).

5. Saponin

Saponin merupakan salah satu jenis glikosida yang banyak ditemukan pada berbagai tanaman. Senyawa ini tersusun atas aglikon berupa steroid atau triterpenoid yang berkaitan dengan satu atau lebih unit gula. Saponin termasuk kelompok metabolit alami yang bersifat kompleks dengan massa molekul yang tinggi, dan diklasifikasikan menjadi dua tipe utama, yaitu saponin steroid dengan 27 atom karbon dan saponin triterpenoid dengan 30 atom karbon (Adi, 2017).

Senyawa ini diketahui memberikan berbagai manfaat bagi kesehatan. Dari segi aktivitas biologis, saponin memiliki efek antiinflamasi, pereda nyeri, antijamur. Walaupun banyak studi menunjukkan potensi positif saponin penggunaan yang kurang tepat tetap dapat menimbulkan dampak merugikan (Novtasari, 2016).

C. Simplisia

1. Pengertian Simplisia

Simplisia merupakan bahan alam yang digunakan sebagai obat herbal atau tradisional dalam bentuk aslinya tanpa melalui proses pengolahan kimia, fisik, maupun biologis (Manalu, 2016).

Secara umum simplisia dapat dikelompokkan menjadi tiga jenis yaitu (Maslahah, 2024):

Simplisia nabati, simplisia hewani, simplisia pelikan atau mineral. Simplisia nabati ini mencakup tumbuhan secara keseluruhan, bagian spesifik tumbuhan, eksudat tumbuhan, atau kombinasi dari ketiganya. Eksudat merupakan cairan atau isi sel yang keluar dari jaringan tumbuhan baik secara alami maupun melalui rangsangan tertentu. Dalam masyarakat simplisia nabati sering disebut sebagai tanaman obat yaitu tumbuhan yang memiliki manfaat untuk pencegahan maupun mengobati penyakit (Maslahah, 2024).

D. Metode Ekstraksi Senyawa Bahan Alam

1. Pengertian ekstraksi

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. Ekstraksi bertujuan menarik atau memisahkan senyawa aktif dari suatu campuran maupun bahan simplisia. Berbagai metode ekstraksi telah dikembangkan, dimana setiap metode mempunyai keunggulan dan keterbatasan masing-masing. Pemilihan metode ekstraksi perlu mempertimbangkan beberapa aspek, antara lain karakteristik senyawa yang akan diekstraksi, jenis pelarut yang digunakan, serta ketersediaan peralatan. Dan selain itu, struktur senyawa, suhu, dan tekanan juga merupakan faktor penting yang harus diperhatikan dalam proses ekstraksi. Salah satu pelarut yang banyak digunakan yaitu alkohol karena kemampuannya dalam mengekstraksi senyawa secara menyeluruh. Metode ekstraksi yang umum diterapkan meliputi maserasi, perkolasi, refluks, soxhletasi, infusa, dekokta, destilasi, ekstraksi lawan arah (*countercurrent*),

ultrasonik, ekstraksi berbantuan gelombang mikro (*microwave assisted extraction/MAE*), serta ekstraksi gas superkritis (*supercritical gas extraction/SGE*) (Safitri *et al*, 2018).

Metode ekstraksi dikelompokkan menurut ada atau tidaknya proses pemanasan, dan terbagi menjadi dua macam yaitu ekstraksi dengan cara panas dan cara dingin. Pada prinsipnya, ekstraksi cara dingin tidak memerlukan pemanasan saat proses ekstraksi dilakukan, dengan tujuan melindungi senyawa yang dicari agar tidak rusak. Adapun ekstraksi cara panas melibatkan pemanasan selama proses ekstraksi, yang bertujuan mempercepat efisiensi ekstraksi (Safitri *et al.*, 2018).

Menurut Sakti dkk. (2024), menjelaskan pengertian ekstraksi sebagai berikut: ekstraksi merupakan proses penarikan senyawa aktif dari alam menggunakan pelarut tertentu berdasarkan perbedaan kelarutan senyawa. Pada penelitian ini digunakan metode maserasi karena metode ini sederhana, tidak memerlukan pemanasan tinggi, dan sesuai untuk mengekstrak senyawa aktif dari daun pegagan yang bersifat termolabil. Secara umum, proses ekstraksi terjadi melalui perpindahan senyawa aktif dari simplisia ke dalam pelarut hingga tercapai keseimbangan konsentrasi.

2. Jenis-jenis ekstraksi

Menurut Mukhriani (2011), secara umum jenis metode ekstraksi dibedakan menjadi metode cara dingin dan metode cara panas. Pada penelitian ini digunakan metode cara dingin yaitu maserasi, yang dilakukan dengan merendam serbuk simplisia dalam pelarut pada suhu kamar tanpa pemanasan. Metode ini sesuai digunakan untuk senyawa yang tidak tahan panas (*termolabil*) serta mudah dan sederhana dalam pelaksanaannya.

3. Hal yang diperhatikan saat maserasi

Menurut Widwastuti dkk (2022), terdapat beberapa aspek yang perlu diperhatikan dalam pelaksanaan proses ekstraksi, yaitu:

a. Jumlah simplisia yang diekstraksi

Jumlah simplisia mempengaruhi volume pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi.

b. Tingkat kehalusan simplisia

Semakin halus bentuk simplisia, semakin besar luas permukaan kontak dengan pelarut, sehingga proses penarikan senyawa berlangsung lebih efektif.

c. Jenis pelarut yang digunakan

Pemilihan pelarut dipengaruhi oleh tingkat kepolaran. Berdasarkan prinsip “*like dissolves like*” pelarut dengan kepolaran serupa lebih mudah melarutkan senyawa dengan sifat yang sama.

d. Lama waktu ekstraksi

Lamanya ekstraksi sangat menentukan banyaknya senyawa yang berhasil dipindahkan ke dalam pelarut.

E. *Acne vulgaris* (jerawat)

1. Definisi *acne vulgaris*

Acne vulgaris, atau yang sering di sebut jerawat adalah jenis jerawat yang di tanda dengan peradangan kronis yang terjadi pada kelenjar minyak yang dikenal pula sebagai kelajar sebacea penghasil sebum dari sel lemaknya, yang pada akhirnya menimbulkan inflamasi kulit. Prosesnya bermula dari timbulnya mikrokomedo pada area lesi *acne vulgaris* komedo putih maupun hitam. *Acne*

vulgaris umumnya ditemukan dilokasi yang memiliki banyak kelenjar minyak termasuk wajah punggung, leher, serta bahu (Sifatullah, 2021).

2. Patogenesis *acne vulgaris*

Movita (2013), menyatakan bahwa terdapat 4 faktor yang dapat mempengaruhi timbulnya jerawat, yaitu:

- a. Aktivitas kelenjar sekresi sebaseus yang hiperaktif memicu produksi lemak oleh kelenjar sebaseus pada kulit. Namun, ketika sintesis lemak berlangsung secara berlebihan karena kerja kelenjar sebaseus yang berlebihan, jumlah lemak di kulit meningkat dan kulit menjadi berminyak. Penyumbatan di pori-pori pun dapat terjadi jika sintesis lemak tidak proporsional, dan banyak kondisi penyumbatan tersebut bisa menimbulkan inflamasi serta pembentukan jerawat.
- b. Peningkatan produksi sebum disebabkan oleh naiknya kadar hormon androgen yang terjadi selama masa pubertas, yang umumnya di mulai pada usia 8-9 tahun.
- c. Proliferasi *Propionibacterium acnes*, sebum yang terus diproduksi akan meningkat jumlahnya, sehingga memberikan kondisi yang mengandung bagi bakteri *Propionibacterium acnes* untuk menginfeksi dan berkoloni. Enzim lipase mampu memecah sebum menjadi digliserida, monogliserida, dan asam lemak bebas yang kemudian dimanfaatkan dalam metabolisme *Propionibacterium acnes*.
- F. Reaksi inflamasi, peradangan dapat terjadi ketika *Propionibacterium acnes* menghancurkan dinding folikel sehingga menyebar ke lapisan dermis sekelilingnya. *Acne vulgaris* kemudian menstimulasi sistem imun karena bakteri tersebut melepas faktor kemotaktik yang menarik beberapa sel imun seperti monosit dan limfosit. Pada unit pilosebaceus bakteri *Propionibacterium acnes*

1. Klasifikasi bakteri *Propionibacterium acnes*

Bakteri *Propionibacterium acnes* mempunyai klasifikasi sebagai berikut:

Kingdom : *Bacteria*

Phylum : *Actinobacteria*

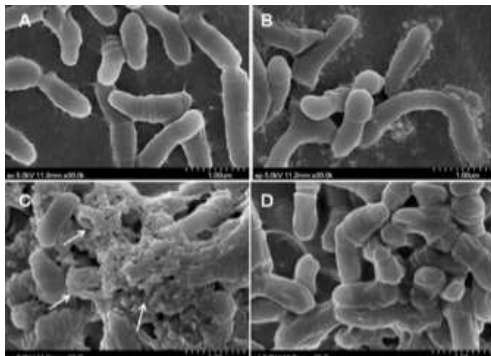
Class : *Actinobacteridae*

Order : *Actinomycetales*

Family : *Propionibacteriaceae*

Genus : *Propionibacterium*

Spesies : *Propionibacterium acnes*



Sumber (Ryu, 2015).

Gambar 2 Bakteri *Propionibacterium acnes*

2. Morfologi bakteri *Propionibacterium acnes*

Propionibacterium acnes (yang saat ini dikenal dengan sebutan *Cutibacterium acnes*) merupakan bakteri gram-positif anaerob yang banyak ditemukan di folikel rambut pada kulit berminyak. Sebagai flora normal yang bersifat komensal, bakteri ini sebenarnya tidak berbahaya, namun dapat memicu jerawat inflamasi ketika jumlahnya meningkat secara berlebihan atau ketika ia menginvasi dan mendominasi unit kelenjar minyak. Perubahan kondisi kulit dapat mengubah

bakteri yang semula tidak menimbulkan masalah menjadi patogen. Bakteri ini memanfaatkan sekresi dari kelenjar keringat dan sebacea sebagai sumber nutrisi. Selain itu *Propionibacterium acnes* menimbulkan respons inflamasi melalui aktivitas kemotaktik serta memproduksi enzim lipolitik yang mengubah sebagian sebum menjadi material padat sehingga menyumbat saluran kelenjar sebacea (Wardaniati & Pratiwi, 2017).

3. Patogenesis bakteri *propionibacterium acnes*

Propionibacterium acnes termasuk bakteri oportunistik yang berperan penting dalam patogenesis *acne vulgaris* melalui pemicu proses inflamasi pada folikel pilosebacea. Bakteri ini menghasilkan berbagai enzim hidrolitik yang dapat merusak jaringan serta memicu peradangan. Selain itu, aktivitas bakteri dapat mempengaruhi komposisi sebum sehingga mendukung terbentuknya lesi jerawat (Movita, 2015).

Propionibacterium acnes dipilih sebagai antibakteri uji dalam penelitian ini karena perannya yang signifikan dalam patogenesis jerawat serta meningkatnya laporan resistensi terhadap beberapa antibiotik, sehingga diperlakukan pencarian alternatif senyawa antibakteri baru Miratunisa, 2015 (dalam Rahmatiyah, Nurul, Agus 2023).

G. Antibakteri dan mekanisme kerja antibakteri

1. Definisi antibakteri

Antibakteri merupakan senyawa kimia atau agen biologis yang berfungsi untuk menghambat aktivitas atau mematikan mikroorganisme, terutama yang berpotensi menyebabkan penyakit pada manusia. Antibakteri dibedakan menjadi 2 kelompok utama yaitu bakteristatik dan bakterisidal (Romadhonsyah, 2019).

2. Sifat antimikroba

Putri (2024), menyatakan bahwa sifat antibakteri dapat dibedakan menjadi dua kelompok utama, yaitu bakteristatik dan bakterisidal:

a. Bakteristatik

Bakteri ini digunakan untuk menggambarkan kemampuan suatu senyawa dalam menghentikan atau memperlambat pertumbuhan bakteri. Dengan adanya hambatan ini bakteri yang sudah ada tidak dapat berkembang biak ataupun menyebar lebih jauh. Bakteristatik merupakan kemampuan suatu senyawa dalam menghambat atau memperlambat pertumbuhan bakteri.

b. Bakterisidal

Sementara itu, bakterisidal mengacu pada kemampuan suatu zat untuk mematikan bakteri secara langsung.

3. Mekanisme kerja antimikroba

Menurut Pratiwi (2017), efikasi agen antimikroba dalam mengeliminasi patogen didasarkan pada tiga mekanisme fundamental yang menargetkan komponen vital seluler. Secara sistematis, mekanisme tersebut dapat dijelaskan sebagai berikut:

1. **Destruksi Struktur Eksternal:** Penghambatan sintesis dinding sel mengakibatkan kegagalan struktural yang memicu lisis osmotik, sementara gangguan pada integritas membran sel menyebabkan kebocoran konstituen intraseluler esensial (seperti ion dan protein) yang bersifat mematikan bagi bakteri.
2. **Intervensi Biosintesis dan Metabolisme:** Agen antimikroba dapat melakukan penghambatan metabolisme seluler yang menghentikan jalur enzimatik vital untuk pertumbuhan. Selain itu, gangguan pada sintesis protein secara langsung

melumpuhkan kemampuan sel dalam melakukan regenerasi dan pemeliharaan fungsi fisiologisnya.

3. Supresi Replikasi Genetik: Mekanisme terakhir fokus pada penghambatan sintesis asam nukleat (DNA dan RNA). Intervensi pada tingkat molekuler ini mencegah proses transkripsi dan replikasi, sehingga siklus pembelahan serta reproduksi bakteri terhenti secara total.

Secara keseluruhan, mekanisme ini bekerja baik secara bakteriostatik maupun bakterisida dengan cara mengganggu homeostasis dan kontinuitas genetik sel bakteri (Wardaniati & Pratiwi, 2017).

H. Pengujian antibakteri

1. Metode pengujian antibakteri

Intan (2021), menyatakan bahwa aktivitas antimikroba diukur melalui zona pertumbuhan mikroorganisme sensitif di sekitar larutan antibiotik, yang mencerminkan konsentrasi hambatnya. Pengujian potensi ini umumnya dilakukan dengan dua pendekatan, yaitu metode difusi dan metode dilusi sebagai berikut:

a. Metode difusi

1) Metode *disk diffusion* (tes Kirby & Bauer)

Uji *disk diffusion* (Kirby-Bauer) dilakukan dengan meletakkan piring yang mengandung antimikroba pada lempeng agar yang sudah ditanami mikroorganisme, memungkinkan agen tersebut berdifusi ke dalam media. Area yang tampak bening (jernih) mengidentifikasikan kemampuan agen antimikroba untuk menghentikan pertumbuhan mikroorganisme pada permukaan media tersebut (Prima, 2019):

a) Zona Radikal (Area Bebas Bakteri)

Zona radikal adalah area bebas bakteri yang terbentuk di sekeliling cakram. Diameter zona ini memberikan nilai kuantitatif untuk potensi antibakteri, yang mengukur sejauh mana seyawa uji mampu mencegah pertumbuhan bakteri di sekitarnya.

b) Zona pertumbuhan terhambat

Zona pertumbuhan terhambat mengacu pada daerah di sekitar cakram dimana antibakteri hanya membatasi atau menekan pertumbuhan bakteri, namun tidak membunuhnya secara total. Dengan kata lain, bakteri masih dapat berkembang biak di wilayah ini meskipun tingkat pertumbuhannya berkurang secara signifikan karena adanya zat antibakteri.

Diameter zona hambat yang terbentuk digunakan sebagai indikator untuk menentukan tingkat aktivitas antibakteri ekstrak. Kategori kekuatan daya hambat ditetapkan berdasarkan kriteria yang dikemukakan oleh Ifora dkk (2022), yaitu diameter kurang 5 mm termasuk kategori lemah, 5 hingga kurang dari 10 mm kategori sedang, 10-20 mm kategori kuat, dan lebih dari 20 mm kategori sangat kuat (Tabel 1).

Tabel 1
Kategori Zona Hambat Antibakteri

Diameter Zona Hambat	Kategori Zona Hambat
<5 mm	Lemah
5- <10mm	Sedang
10-20mm	Kuat
>20mm	Sangat kuat

2. Faktor yang berpengaruh pada pengujian antibakteri

Menurut Sabathani (2018), beberapa faktor yang mempengaruhi hasil pengujian antibakteri meliputi:

- a. pH lingkungan
- b. Komponen medium
- c. Kestabilan zat uji
- d. Ukuran inokulum
- e. Lama inkubasi
- f. Sterilisasi alat, media dan ruangan
- g. Waktu pemasangan cakram
- h. Suhu inkubasi