

**UJI AKTIVITAS DAYA HAMBAT SEDIAAN FILM
PATCH S-NITROSOGLUTATHIONE TERHADAP
*Propionibacterium acnes***

**INHIBITORY ACTIVITY TEST OF
S-NITROSOGLUTATHIONE PATCH FILM
PREPARATION AGAINST *Propionibacterium acnes***

**PUTRI MAHFUZAH
N011191049**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

**UJI AKTIVITAS DAYA HAMBAT SEDIAAN FILM *PATCH*
S-NITROSOGLUTATHIONE TERHADAP *Propionibacterium acnes***

**INHIBITORY ACTIVITY TEST OF S-NITROSOGLUTATHIONE *PATCH*
FILM PREPARATION AGAINST *Propionibacterium acnes***

SKRIPSI

**untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana**

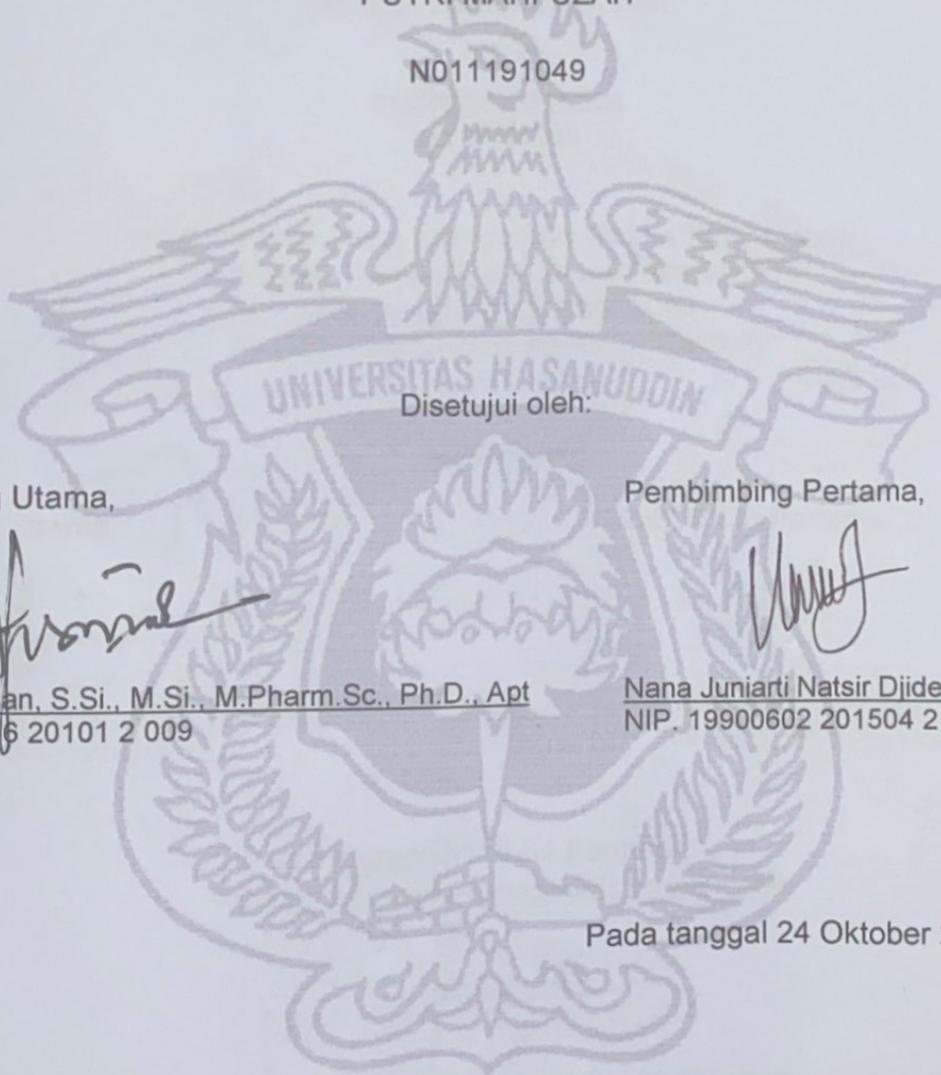
**PUTRI MAHFUZH
N011191049**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

UJI AKTIVITAS DAYA HAMBAT SEDIAAN FILM PATCH
S-NITROSOGLUTATHIONE TERHADAP *Propionibacterium acnes*

PUTRI MAHFUZAH

N011191049



Disetujui oleh:

Pembimbing Utama,

Nurhasni Hasan, S.Si., M.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt
NIP. 19860116 20101 2 009

Pembimbing Pertama,

Nana Juniarti Natsir Djide, S.Si., M.Si., Apt.
NIP. 19900602 201504 2 002

Pada tanggal 24 Oktober 2023

SKRIPSI
UJI AKTIVITAS DAYA HAMBAT SEDIAAN FILM PATCH
S-NITROSOGLUTATHIONE TERHADAP *Propionibacterium acnes*

INHIBITORY ACTIVITY TEST OF S-NITROSOGLUTATHIONE PATCH
FILM PREPARATION AGAINST *Propionibacterium acnes*

Disusun dan diajukan oleh :

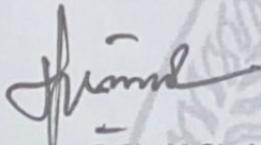
PUTRI MAHFUZH
N011191049

telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
pada tanggal 3 Oktober.2023
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

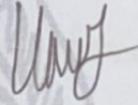
Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pertama,

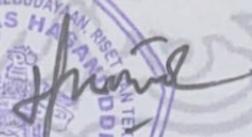


Nurhasni Hasan, S.Si., M.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.
NIP. 19860116 20101 2 009



Nana Juniarti Natsir Djide, S.Si., M.Si., Apt.
NIP. 19900602 201504 2 002

Ketua Program Studi S1 Farmasi,
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin




Nurhasni Hasan, S.Si., M.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.
NIP. 19860116 20101 2 009

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

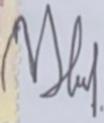
Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini benar-benar adalah hasil karya saya sendiri, tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa pernyataan saya ini tidak benar, maka skripsi dan gelar yang diperoleh batal demi hukum.

Makassar, 24 Oktober 2023

Yang menyatakan,




Putri Mahfuzah
N011191049

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah, tiada kata yang lebih patut diucapkan oleh seorang hamba yang beriman selain ucapan puji syukur ke hadirat Allah SWT, Tuhan Yang Maha Mengetahui, pemilik segala ilmu, karena atas petunjuk-Nya maka skripsi ini dapat diselesaikan.

Sungguh banyak kendala yang penulis hadapi dalam rangka penyusunan skripsi ini, namun berkat dukungan dan bantuan berbagai pihak, akhirnya penulis dapat melewati kendala-kendala tersebut. Oleh karena itu, penulis dengan tulus menghaturkan banyak terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada:

1. Ibu Nurhasni Hasan, S.Si., M.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt. selaku pembimbing utama dan Ibu Nana Juniarti Natsir Djide, S.Si., M.Si., Apt. selaku pembimbing pendamping dengan ikhlas dan sabar telah meluangkan waktu, tenaga, serta ilmu dan arahan dalam penelitian dan membimbing penulis dalam penyusunan skripsi ini.
2. Ibu Prof. Dr. apt. Elly Wahyudin, DEA. dan Ibu Prof. Dr. apt. Latifah Rahman, DESS. selaku tim penguji yang telah meluangkan waktu dan memberikan saran yang membangun dalam penyusunan skripsi ini.
3. Bapak Drs. Syaharuddin, M.Si., Apt. selaku dosen pembimbing akademik penulis atas segala ilmu dan arahan selama penulis menempuh menjalani studi.
4. Dekan dan para Wakil Dekan, serta seluruh staf dosen dan pegawai Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin atas ilmu, motivasi, bantuan,

dan segala fasilitas yang diberikan kepada penulis selama menempuh studi hingga menyelesaikan penelitian ini.

5. Kedua orang tua penulis tercinta, Ayah H. Abdulrahman, dan Ibu Hj. Rahmiyati yang senantiasa memberikan dukungan, doa, kasih sayang dan segala motivasi sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian ini
6. Ketiga saudara dan saudari penulis, Muhammad Yusuf, Salsa Milyana dan Muhammad Aqil Fattah, serta kakak ipar Diana Mulyana yang telah memberikan doa, dukungan serta perhatian kepada penulis.
7. Ketiga tante penulis, Nurjulias Mayanti, Zaimar, dan Halijah, serta nenek Rahimah yang senantiasa memberikan doa dan kasih sayang sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian ini.
8. Teman-teman seperjuangan, sehati, sejiwa, yakni Nurfadilla Wafiah, Khairah Riski Guntur, Mahira Miftahunnisa, Nurul Raizha Faradillah Syafiqah, Andi Tenrisanna Haedar, Fitriyani, Taffya Salsabil Nurmadjidah Harahap, Rissa Ardita Friandini, dan Rifqa Inayah Agus yang selalu memberikan dukungan dan semangat, serta tempat meluangkan berbagi keluh-kesah, suka maupun duka selama proses perkuliahan dan dalam penyusunan skripsi ini.
9. Teman-teman Korps Asisten Mikrobiologi Farmasi khususnya “MICRO DEXI” atas segala dukungan, ilmu, dan bantuan yang telah banyak diberikan kepada penulis.

10. Teman-teman angkatan 2019 (DEX19EN), Tari DEXI, serta BEM KEMAFAR-UH Kabinet Kolaboratif dan Kabinet Dinamis atas dukungan, ilmu, serta kebersamaan selama penulis menempuh studi di Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin.

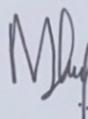
11. Saudari Nurfadilla Wafiah, Mahira Miftahunnisa, Yusril Dwimeddy Tunggeleng dan Shabrina Vashtinia Putri Tryanda yang telah sabar membantu dan mendukung selama proses penyusunan skripsi, penelitian hingga sidang skripsi.

12. Seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu namun sangat berpengaruh dalam proses penyelesaian skripsi.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan adanya saran maupun tanggapan dari berbagai pihak sehingga dapat menjadikan skripsi ini ke arah yang lebih baik.

Semoga karya ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan. Aamiin

Makassar, 24 Oktober 2023



Putri Mahfuzah

ABSTRAK

PUTRI MAHFUZAH. *Uji Aktivitas Daya Hambat Sediaan Film Patch S-Nitrosoglutathione terhadap Propionibacterium acnes* (Dibimbing Oleh Nuhasni Hasan dan Nana Juniarti Natsir Djide).

Jerawat merupakan salah satu penyakit kulit yang sering terjadi dan disebabkan oleh beberapa faktor, salah satunya adalah pertumbuhan flora normal yang berlebih seperti *Propionibacterium acnes*. Film *patch* merupakan salah satu jenis sediaan anti jerawat yang dapat digunakan. Dalam penelitian ini, Eudragit® RL-PO digunakan sebagai polimer dan *S-Nitrosoglutathione* (GSNO) sebagai zat aktif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi Eudragit® RL-PO pada sediaan film *patch* GSNO terhadap aktivitas daya hambat melawan *P. acnes*. Uji aktivitas daya hambat menggunakan metode difusi agar. Penelitian ini menggunakan empat formula film *patch* dengan rasio Eudragit® RL-PO : GSNO yaitu F1 (5%:1%), F2 (10%:1%), F3 (15%:1%), dan F4 (15%: 0%). Hasil penelitian menunjukkan konsentrasi hambat minimum (KHM) GSNO terhadap *P. acnes* adalah 50 µg/mL. Uji aktivitas daya hambat menunjukkan bahwa F1 merupakan formula yang mempunyai aktivitas daya hambat paling besar diantara formula dengan diameter sebesar 11,46 ± 0,35 mm. Oleh karena itu, variasi konsentrasi Eudragit® RL-PO mempengaruhi aktivitas daya hambat terhadap *P. acnes*.

Kata Kunci: Film *patch*, *S-Nitrosoglutathione*, *Propionibacterium acnes*, KHM, Aktivitas Daya Hambat

ABSTRACT

PUTRI MAHFUZAH. *Inhibitory Activity Test of S-Nitrosoglutathione Patch Film Preparation Against Propionibacterium acnes* (Supervised by Nurhasni Hasan and Nana Juniarti Natsir Djide).

Acne is a skin disease that often occurs and is caused by several factors, one of which is the excessive growth of normal flora, such as *Propionibacterium acnes*. A film patch is one type of anti-acne preparation that can be used. In this study, Eudragit® RL-PO was used as the film-forming polymer and S-Nitrosoglutathione (GSNO) as the active pharmaceutical ingredient. This study aimed to determine the effect of varying concentrations of Eudragit® RL-PO in GSNO film patch preparations on inhibitory activity against *P. acnes*. The inhibitory activity test used the agar diffusion method. This study used four film patch formulas with Eudragit® RL-PO : GSNO ratios, namely F1 (5%:1%), F2 (10%:1%), F3 (15%:1%), and F4 (15%:0%). The results showed that the minimum inhibitory concentration (MIC) of GSNO against *P. acnes* was 50 µg/mL. The inhibitory activity test showed that F1 was the formula that has the greatest inhibitory activity, with a diameter of 11,46 ± 0,35 mm. Therefore, variations in the concentration of Eudragit® RL-PO affect the inhibitory activity against *P. acnes*.

Keywords: Patch film, S-Nitrosoglutathione, *Propionibacterium acnes*, MIC, Inhibitory Activity Test

DAFTAR ISI

	Halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	vii
ABSTRAK	xi
ABSTRACT	xi
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	3
I.3 Tujuan Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
II.1 <i>Propionibacterium acnes</i>	5
II.1.1 Klasifikasi <i>P. acnes</i>	5
II.1.2 Morfologi <i>P. acnes</i>	5
II.1.3 Patogenitas <i>P. acnes</i>	6
II.2 Jerawat	7
II.2.1 Definisi Jerawat	7
II.2.2 Epidemiologi Jerawat	7
II.2.3 Patogenesis Jerawat	7
II.2.4 Manifestasi Klinis Jerawat	8

II.3	Nitrit Oksida (NO)	8
II.4	<i>S-Nitrosoglutathione</i> (GSNO)	9
II.5	Eudragit® RL-PO	10
II.6	Film <i>Patch</i>	11
II.7	Metode Uji Aktivitas Antibakteri	11
II.7.1	Metode Difusi	11
II.7.1.1	Metode Difusi Agar	12
II.7.1.2	Metode Gradien Antimikroba (<i>E-test</i>)	12
II.7.1.3	Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT)-bioautografi	13
II.7.2	Metode Dilusi	13
II.7.2.1	Metode Dilusi Cair	14
II.7.2.2	Metode Dilusi Padat	14
BAB III METODE KERJA		16
III.1	Alat dan Bahan	16
III.2	Metode Kerja	16
III.2.1	Sterilisasi Alat	16
III.2.2	Sintesis GSNO	17
III.2.3	Formula dan Pembuatan Sediaan Film <i>Patch</i> GSNO	17
III.2.4	Pembuatan Medium Pertumbuhan Bakteri	18
III.2.4.1	Pembuatan Medium <i>Mueller Hinton Agar</i> (MHA)	18
III.2.4.2	Pembuatan Medium <i>Mueller Hinton Broth</i> (MHB)	18
III.2.5	Peremajaan Bakteri Uji	18
III.2.6	Penyiapan Suspensi Bakteri Uji	19

III.2.7 Uji Aktivitas Antibakteri	19
III.2.7.1 Penyiapan Larutan Stok GSNO	19
III.2.7.2 Penentuan Nilai KHM GSNO Menggunakan Metode Mikrodilusi	19
III.2.7.3 Penentuan Diameter Daya Hambat dengan Metode Difusi Agar	21
III.2.8 Analisis Data	21
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	22
IV.1 Hasil Penentuan KHM GSNO Menggunakan Metode Mikrodilusi	22
IV.2 Hasil Diameter Daya Hambat dengan Metode Difusi Agar	24
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	28
V.1 Kesimpulan	28
V.2 Saran	28
DAFTAR PUSTAKA	29
LAMPIRAN	34

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Formula sediaan film <i>patch</i> GSNO	17
2. Hasil penentuan KHM GSNO terhadap <i>P. acnes</i> menggunakan metode mikrodilusi	23
3. Hasil aktivitas daya hambat sediaan film <i>patch</i> GSNO terhadap <i>P. acnes</i> menggunakan metode difusi agar	39

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>Propionibacterium acnes</i> dengan pewarnaan Gram	6
2. Struktur GSNO	9
3. Reaksi pembentukan s-nitrosoglutathione dari glutathione dan sodium nitrit	10
4. Struktur eudragit® RL-PO	11
5. Grafik statistika uji aktivitas daya hambat sediaan film <i>patch</i> GSNO	25
6. Hasil penentuan nilai KHM GSNO terhadap <i>P. acnes</i> menggunakan <i>microplate 96 well</i>	38
7. Aktivitas daya hambat sediaan film <i>patch</i> GSNO terhadap <i>P. acnes</i> ; (A) replikasi 1, (B) replikasi 2, dan (C) replikasi 3; Keterangan: AB (Kontrol Positif), KS (Kontrol Bahan), F1, F2, F3, dan F4	39
8. Sintesis GSNO	42
9. Pembuatan medium	42
10. Penyiapan suspensi bakteri	42
11. Formula film <i>patch</i> GSNO	43

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema kerja penelitian	34
2. Skema kerja uji KHM menggunakan metode mikrodilusi	35
3. Skema pada sumuran	36
4. Komposisi medium	37
5. Hasil penentuan nilai KHM GSNO terhadap <i>P. acnes</i>	38
6. Hasil uji aktivitas daya hambat sediaan film <i>patch</i> GSNO terhadap <i>P. acnes</i>	39
7. Data hasil analisis statistika	40
8. Dokumentasi penelitian	42

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Jerawat merupakan salah satu penyakit kulit yang sering terjadi pada usia remaja (15-18 tahun) dengan prevalensi sebesar 80-85% (Resti dan Hendra, 2015). Ada beberapa faktor yang dapat menimbulkan terjadinya jerawat, seperti penyumbatan pada folikel pilosebacea yang menyebabkan sebum tidak keluar dan menumpuk sehingga terjadi pembengkakan folikel (komedo). Selain itu, salah satu penyebab lain yang banyak ditemukan ialah adanya pertumbuhan flora normal secara berlebihan seperti *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) yang mampu menyebabkan inflamasi jaringan akibat pemecahan asam lemak bebas dari jaringan kulit oleh enzim lipase bakteri (Tsai *et al.*, 2009; Miratunnisa *et al.*, 2015).

Berbagai terapi dalam pengobatan jerawat telah dilakukan. Salah satunya adalah penggunaan antibiotik. Namun penggunaan antibiotik seperti tetrasiklin, eritromisin, doksisisiklin dan klindamisin dalam menghambat *P. acnes*, dapat menimbulkan efek samping iritasi serta risiko resisten antibiotik (Dermawan, 2015). Oleh karena itu, diperlukan alternatif pengobatan jerawat yang efektif. Salah satu antibiotik baru yang dikembangkan dalam pengobatan jerawat adalah *S-Nitrosoglutathione*.

S-Nitrosoglutathione (GSNO) merupakan salah satu NO donor (RSNO) yang disintesa dari glutathione dan asam nitrat (Cisneros *et al.*, 2021).

GSNO dalam pH asam, termasuk pada pH kulit wajah (4,5 – 6,5) akan melepaskan produk NO dan membentuk spesies nitrogen reaktif (peroksinitril, nitrogen dioksida, dan dinitrogen trioksida) yang berinteraksi dengan berbagai protein, DNA, serta enzim sehingga mengakibatkan kematian sel pada bakteri (De *et al.*, 2019; Broniowska *et al.*, 2013). Berdasarkan penelitian Plegrino (2018), KHM GSNO terhadap *Pseudomonas aeruginosa* sebesar 0,5 µg/mL namun, belum ada penelitian yang melaporkan nilai KHM GSNO terhadap *P. acnes*. Oleh karena itu, perlu dilakukan uji KHM GSNO terhadap *P. acnes*.

GSNO dibanding dengan RSNO lainnya, memiliki keuntungan berupa toksisitas yang rendah, modulasi pelepasan NO dan inkorporasi ke polimer yang mudah (Poh dan Scott, 2022). Namun, GSNO memiliki kekurangan yaitu mudah terhidrolisis oleh cahaya. Sehingga, GSNO perlu diformulasikan dalam bentuk sediaan yang lebih sesuai.

Film *patch* merupakan salah satu sistem penghantaran secara transdermal yang efektif. Sistem penghantaran ini, cocok untuk zat aktif yang mudah terhidrolisis oleh cahaya (Hanbali *et al.*, 2019). Film *patch* paling cocok digunakan dalam pengobatan jerawat karena dapat menutupi jerawat agar tidak terkontaminasi dengan kotoran. Selain itu, film *patch* juga dapat mengontrol pelepasan obat, serta memberikan kontak yang kuat pada lapisan kulit. Hal ini menunjukkan bahwa film *patch* mampu menghantarkan GSNO dalam menghambat *P. acnes* yang cocok

digunakan dalam pengobatan jerawat (Dupont, 2010; Cherukuri *et al.*, 2017).

Pengujian aktivitas daya hambat dapat dilakukan dengan beberapa metode salah satunya adalah metode difusi agar. Metode difusi agar memiliki keuntungan yaitu tidak memerlukan peralatan khusus, dapat menguji banyak mikroorganisme dan agen antimikroba, praktis, ekonomis, serta mudah dalam menginterpretasikan hasil yang diperoleh (Jorgensen dan Turnidge, 2016). Berdasarkan uraian di atas, maka perlu dilakukan uji aktivitas daya hambat sediaan film *patch* GSNO terhadap *P. acnes*.

I.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Berapa KHM dari GSNO dalam menghambat pertumbuhan *P. acnes*?
2. Bagaimana pengaruh variasi konsentrasi Eudragit® RL-PO pada formula sediaan film *patch* GSNO dalam aktivitas daya hambat terhadap *P. acnes*?

I.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan uraian rumusan masalah di atas, maka tujuan pada penelitian ini adalah:

1. Menentukan KHM GSNO yang dapat menghambat pertumbuhan *P. acnes*.

2. Mengetahui pengaruh variasi konsentrasi Eudragit® RL-PO pada formula sediaan film *patch* GSNO dalam aktivitas daya hambat terhadap *P. acnes*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 *Propionibacterium acnes*

Propionibacterium acnes (*P. acnes*) adalah mikroflora yang berada di tubuh manusia seperti kulit, rongga mulut, rongga hidung, rongga telinga, usus besar, hingga saluran pada telinga luar. *P. acnes* umumnya tumbuh di sekitar folikel sebacea kulit yang jika tumbuh secara berlebihan akan menyebabkan terjadinya jerawat (Mollerup *et al.*, 2016).

II.1.1 Klasifikasi *P. acnes* (Bruggeman, 2010)

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Actinobacteria
Kelas	: Actinobacteridae
Ordo	: Actinomycetales
Keluarga	: Propionibacteriaceae
Genus	: Propionibacterium
Spesies	: <i>Propionibacterium acnes</i>

II.1.2 Morfologi *P. acnes*

Bakteri *P. acnes* merupakan bakteri Gram positif. Bakteri ini mempunyai bagian yang berbentuk batang, nonmotil, tidak membentuk spora namun, memiliki kapsul. Secara morfologi, bakteri *P. acnes* memiliki panjang 3 – 5 μm dan lebar sebesar 0,4 – 0,7 μm (Nasution, 2022).

Bakteri *P. acnes* merupakan flora normal pada kulit yang bersifat anaerob fakultatif. Suhu optimal dalam pertumbuhan *P. acnes* yakni 30°C – 37°C, sedangkan pH pertumbuhannya berkisar 6 – 7 (AcHermann *et al.*, 2014).



Gambar 1. *Propionibacterium acnes* dengan pewarnaan Gram (Abate, 2013).

II.1.3 Patogenitas *P. acnes*

Bakteri *P. acnes* dapat menjadi penyebab infeksi pada kulit (jerawat). Patogenitasnya berkaitan dengan produk eksoseluler bioaktif yang akan berinteraksi secara langsung dengan sistem imun pada tubuh. Bakteri *P. acnes* menghasilkan rangsangan untuk melepaskan IL-1, IL-8, TNF- α dan membuat komplemen menjadi aktif. *P. acnes* akan mengganggu proses kerja stratum corneum serta memanfaatkan sebum yang telah terproduksi oleh folikel menjadi makanan. Bakteri *P. acnes* dapat membentuk asam lemak bebas melalui hidrolisis trigleriserida kelenjar sebacea oleh lipasenya sehingga, asam lemak inilah yang akan menyebabkan inflamasi jaringan saat berinteraksi dengan sistem kekebalan tubuh dan menyebabkan terbentuknya jerawat (Beylot *et al.*, 2013).

II.2 Jerawat

II.2.1 Definisi Jerawat

Jerawat adalah penyakit kulit yang terbentuk di unit pilosebacea yang bersifat multifaktorial (komedo, papula, pustula, nodul serta kista). Kemunculan jerawat merupakan bentuk kelainan kulit yang sering ditemui dan dapat disertai dengan kemunculan lesi inflamasi, khususnya di bagian wajah (Sibero *et al.*, 2019).

II.2.2 Epidemiologi Jerawat

Jerawat adalah penyakit kulit yang umum terjadi di masa remaja, pada interval usia 15-18 tahun. Kemunculan jerawat umumnya ditandai dari masa terjadinya pubertas/prapubertas atau remaja yang memiliki rentang usia 12 – 15 tahun. Beberapa faktor yang dapat menyebabkan terbentuknya jerawat yaitu perubahan hormon akibat menstruasi, kondisi stress akibat perasaan emosional, hingga aktivitas yang merusak lesi jerawat yang dilakukan secara terus-menerus (Sjarif, 2020).

II.2.3 Patogenesis Jerawat

Patogenesis yang paling berpengaruh dalam pertumbuhan jerawat didasarkan pada empat unsur utama, yakni meningkatnya produksi sebum, hiperkonifikasi duktus pilosebacea, kolonisasi mikroflora kulit (*P. acnes*), dan terjadinya proses inflamasi. Tetapi, penelitian terbaru menyebutkan proses patogenesis yang ada terjadi karena keberadaan hormonal (T, DHT), enzim – enzim (5 alfa reduktase, 3 beta dan 5 beta dehidrogenase), dan beberapa sitokin spesifik (IL-1, IL-8, IL-12, TNF- α) (Sjarif, 2020).

II.2.4 Manifestasi Klinis Jerawat

Jerawat umumnya tumbuh pada daerah yang memiliki kelenjar pilosebacea paling banyak seperti di bagian wajah, bahu, serta dada dan punggung bagian atas (Nugroho dan Widayati, 2013). Peradangan yang terjadi pada folikel pilosebacea dapat mengakibatkan terbentuknya papula, pustula di area yang memiliki kelenjar sebacea paling banyak. Kemunculan jerawat dapat berlangsung dengan beberapa bentuk yaitu komedo putih dan hitam, papula, pustula, nodul, hingga kista (Ulfah, 2020).

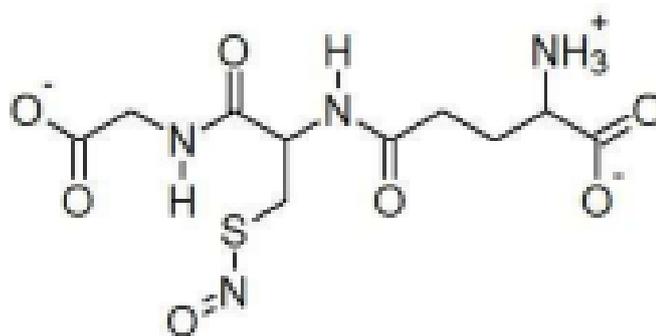
Gejala jerawat yang berbentuk papul yang disertai dengan penyumbatan sebum pada bagian tengahnya disebut komedo. Perbedaan komedo hitam dan komedo putih terletak pada komponen melanin yang ada. Pada komedo hitam atau komedo yang terbuka terdapat unsur melanin, sedangkan komedo putih atau komedo yang tertutup tidak mengandung unsur melanin. Papula ialah kondisi yang menyebabkan kulit menonjol dari dalam akibat kepadatan dari lemak, sementara itu pustula merupakan vesikel yang memiliki pus pada bagian dalamnya (Nugroho dan Widayati, 2013).

II.3 Nitrit Oksida (NO)

Nitrit oksida (NO) adalah molekul yang dapat melawan infeksi dengan memberikan efek antimikroba bergantung pada konsentrasinya. Pada konsentrasi rendah, NO berfungsi sebagai molekul pensinyalan aktivitas sel imun sedangkan, pada konsentrasi tinggi, NO berikatan dengan DNA, protein dan lipid, sehingga menghambat atau membunuh target patogen (Schairer *et al.*, 2012).

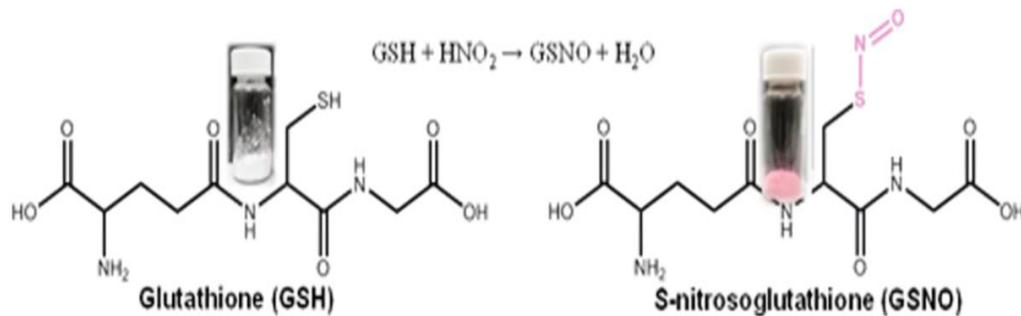
II.4 *S*-Nitrosoglutathione (GSNO)

S-Nitrosoglutathione (GSNO) adalah salah satu jenis donor Nitrit Oksida (NO) yang berfungsi sebagai agen antimikroba berspektrum luas. Pada sintesis kimia yang terjadi, GSNO dapat disintesis dari reaksi antara *glutathione* (GSH) dan sodium nitrit (NaNO₂) dalam suasana asam. Reaksi ini terjadi dengan hasil yang tinggi dan efisien cepat, dimana dengan mencampur GSH dengan NaNO₂ dan akan membentuk warna merah muda. Selain itu, GSNO juga dapat diendapkan dengan aseton dan dimurnikan sebagai padatan (Broniowska *et al.*, 2013).



Gambar 2. Struktur GSNO (Jahnova *et al.*, 2019).

Mekanisme yang terjadi pada pembentukan GSNO dari NO merupakan reaksi tidak langsung, dimana penambahan NO ke GSH akan membentuk tionitrosida sebagai perantara dalam oksidasi langsung lambat tiol oleh NO untuk membentuk disulfida. GSNO dibanding dengan RSNO lainnya, memiliki keuntungan berupa toksisitas yang rendah, modulasi pelepasan NO dan inkorporasi ke polimer yang mudah (Poh dan Scott, 2022).



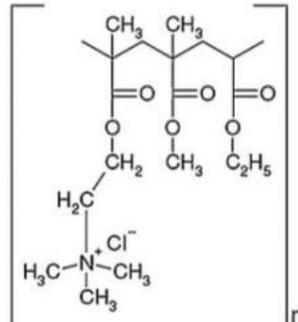
Gambar 3. Reaksi pembentukan s-nitrosoglutathione dari glutathione dan sodium nitrit (Dass *et al.*, 2019).

GSNO dalam pH asam, termasuk pada pH kulit wajah (4,5 – 6,5) akan melepaskan produk NO dan membentuk spesies nitrogen reaktif (peroksinitril, nitrogen dioksida, dan dinitrogen trioksida) yang berinteraksi dengan berbagai protein, DNA, serta enzim sehingga mengakibatkan kematian sel pada bakteri (De *et al.*, 2019).

II.5 Eudragit® RL-PO

Eudragit® RL-PO adalah zat padat dalam bentuk bubuk putih dengan bau seperti amina yang samar. Eudragit® RL-PO digunakan sebagai polimer untuk mempertahankan pelepasan obat dalam berbagai sistem pengiriman obat seperti nanopartikel, tablet dan tambalan mukoadhesif, dispersi padat, film, dll (Rowe dkk., 2012).

Eudragit® RL-PO merupakan polimer yang memiliki keuntungan yakni dapat menunjukkan pelepasan obat yang baik. Selain itu, Eudragit® RL-PO dapat membentuk lapisan film yang lebih baik dibandingkan Eudragit® RS-PO, serta memiliki permeabilitas yang baik dan menunjukkan pelepasan pH independent (Rowe *et al.*, 2012).



Gambar 4. Struktur eudragit® RL-PO (Pirayavaraporn *et al.*, 2013).

II.6 Film Patch

Film *patch* adalah salah satu sistem penghantaran obat dari film yang diaplikasikan pada kulit dalam pelepasan terkontrol. Beberapa keuntungan film *patch* yaitu tidak memberikan rasa sakit pada saat digunakan, cocok digunakan untuk pengobatan jerawat agar tidak terkontaminasi dengan kotoran, serta memberikan kontak yang kuat pada kulit (Cherekuri *et al.*, 2017).

Film *patch* merupakan salah satu rute transdermal yang memiliki keuntungan antara lain penggunaan yang mudah, menjaga bioavailabilitas, serta dapat menghindari *first pass effect* sehingga obat yang mencapai sirkulasi sistemik menjadi jauh berkurang (Wardani dan Saryanti, 2021). Pada pembuatan film *patch*, polimer merupakan komponen penyusun utama dengan sistem matriks. Polimer Eudragit® RL-PO memiliki kemampuan untuk membentuk nanodispersi dengan ukuran submikron dan mempunyai stabilitas yang baik (Omari *et al.*, 2004).

II.7 Metode Uji Aktivitas Antibakteri

Pada metode pengujian aktivitas antibakteri, terdapat dua metode yang terbagi secara umum yaitu metode difusi dan metode dilusi (Balouiri *et al.*,

2016).

II.7.1 Metode Difusi

II.7.1.1 Metode Difusi Agar

Metode difusi agar merupakan metode yang memiliki keuntungan ekonomis, tidak menggunakan peralatan khusus, dapat menguji banyak anti mikroba, dan kemudahan dalam menginterpretasikan hasil yang diperoleh (Balouiri *et al.*, 2016).

Metode ini dilakukan dengan penggunaan cawan petri yang berisikan media agar yang diinokulasikan inokulum mikroorganisme uji. Setelah itu, sampel uji yang berada di kertas cakram diletakkan di permukaan media agar. Kemudian, cawan petri diinkubasikan di kondisi yang sesuai. Sampel yang berisikan agen antimikroba akan berdifusi ke dalam agar dan menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang terlihat dari zona bening yang berada pada sekitar kertas cakram (Balouiri *et al.*, 2016).

II.7.1.2 Metode Gradien Antimikroba (*E-test*)

Metode gradien antimikroba (*E-test*) merupakan teknik penggabungan antara prinsip metode difusi dan dilusi pada penentuan nilai KHM. Penerapan metode ini dapat dimanfaatkan pada proses penentuan nilai KHM dari antifungi ataupun antibakteri. Selain itu, metode *E-test* juga digunakan sebagai upaya melihat interaksi kombinasi yang terbentuk pada dua agen antimikroba yang diujikan. Penentuan nilai KHM dapat dilihat pada perpotongan yang terjadi pada strip dan elips dari proses penghambatan pertumbuhan bakteri (Balouiri *et al.*, 2016).

II.7.1.3 Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT)-bioautografi

Bioautografi merupakan suatu metode yang menggunakan kromatografi lapis tipis untuk melakukan deteksi terhadap senyawa antibakteri yang belum teridentifikasi. Metode KLT-bioautografi terdiri dari beberapa metode yakni sebagai berikut.

a. Metode Kontak

Metode kontak merupakan metode yang jarang digunakan. Penggunaan metode ini dilakukan dengan cara, menginokulasi bakteri uji di media agar kemudian, agen antiabkteri pada plat KLT ditempel pada permukaan media agar tersebut. Lalu, kromatogram dipindahkan dari permukaan media agar setelah beberapa menit atau jam dan dilanjutkan dengan inkubasi. Setelah diinkubasi, dilakukan pengamatan pada zona bening yang terbentuk pada area sekitar agar dimana telah diletakkan kromatogram bahan uji sebelumnya (Idroes, 2019).

b. Metode Langsung

Metode langsung merupakan metode yang paling banyak digunakan. Penggunaan metode ini dilakukan melalui proses, penyemprotan atau perendaman pada kromatogram melalui suspensi bakteri uji yang dicampurkan dengan media cair, kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 25°C dalam kondisi lembab. Selanjutnya, kromatogram disemprot dengan garam tetrazolium dan di inkubasi kembali selama 3-4 jam di suhu 37°C untuk mendapatkan hasil dari diameter daya hambat yang terbentuk dengan jelas (Idroes, 2019).

c. Metode Imersi

Metode imersi merupakan metode kombinasi dari metode kontak dan metode langsung. Metode ini dilakukan dengan cara kromatogram bahan uji ditutupi dengan menggunakan media agar lalu diinkubasi. Setelah proses inkubasi selesai, pewarnaan akan dilakukan dengan pemanfaatan garam tetrazolium (Dewanjee *et al.*, 2015).

II.7.2 Metode Dilusi

II.7.2.1 Metode Dilusi Cair

Terdapat dua metode pada Metode dilusi cair, yakni sebagai berikut.

a. Makrodilusi

Metode makrodilusi merupakan metode yang dilakukan menggunakan media cair dalam volume yang besar yakni minimal 2 mL. Kemudian, tabung diinokulasikan dengan bakteri uji dan dilakukan inkubasi di kondisi yang sesuai (Balouiri *et al.*, 2016).

Kerugian metode makrodilusi dibandingkan dengan mikrodilusi yakni dibutuhkan banyak reagen dan bahan uji serta tidak praktis dalam pengujian aktivitas antibakteri (Balouiri *et al.*, 2016).

b. Mikrodilusi

Metode mikrodilusi merupakan metode pengujian aktivitas antibakteri yang paling dasar. Penggunaan metode ini dapat dilakukan menggunakan pengukuran secara kuantitatif dan kualitatif. Nilai KHM pada metode ini, dinyatakan sebagai konsentrasi terendah dari agen antibakteria yang mampu menjadi hambatan pada pertumbuhan mikroorganisme uji. Keuntungan metode

mikrodilusi dibandingkan dengan makrodilusi adalah lebih sensitif dan tidak membutuhkan banyak agen antibakteri uji (Balouiri *et al.*, 2016).

Penggunaan metode mikrodilusi melalui beberapa proses, yaitu melakukan persiapan untuk proses pengenceran yang berkelipatan dua pada media pertumbuhan yang menggunakan *microplate*. Setiap *well microplate* diinokulasikan bakteri uji serta dilakukan inkubasi dengan jangka waktu 24 jam di suhu 37°C. Penetapan nilai KHM pada suatu antribakteri dapat menggunakan reagen warna seperti reagen garam tetrazolium dan resazurin (Balouiri *et al.*, 2016).

II.7.2.2 Metode Dilusi Padat

Metode dilusi padat adalah metode yang cocok diterapkan bersamaan dengan metode *E-test*, khususnya pada pengujian antibakteri Gram negatif dan Gram positif. Metode dilusi padat dibanding metode dilusi cair, kontaminasi mikroba dapat dideteksi dengan lebih mudah. Tetapi, metode ini dilakukan dalam jangka waktu yang lama (Balouiri *et al.*, 2016).