

Formulasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Transdermal Patch Fraksi Etil Asetat Daun Singkong (*Manihot esculenta* Crantz.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

by 08061382025089 Ratika Puteri

Submission date: 15-Mar-2024 08:40AM (UTC+0700)

Submission ID: 2320767984

File name: ntz._Terhadap_Bakteri_Staphylococcus_aureus_-_Ratika_Puteri.docx (160.06K)

Word count: 8966

Character count: 59165

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Jerawat atau disebut juga *acne vulgaris* ialah kerusakan yang paling sering dijumpai pada wajah, dada dan punggung (Aryani *et al.*, 2017). Jerawat dapat disebabkan oleh aktivitas kelenjar minyak yang berlebihan dan diperburuk oleh infeksi bakteri. Salah satu bakteri penyebab jerawat yaitu *Staphylococcus aureus* (Sarlina *et al.*, 2017). Pemberian antibiotik digunakan sebagai salah satu cara efektif untuk mengobati jerawat. Antibiotik yang biasa digunakan untuk pengobatan jerawat adalah klindamisin, tetrasiklin dan eritromisin. Tetapi penggunaan antibiotik yang tidak tepat dapat menyebabkan resistensi (Meilina *et al.*, 2018). Oleh karena itu, diperlukan pengembangan obat antibakteri dari bahan alami seperti tanaman. Salah satu tanaman yang berkhasiat sebagai antibakteri adalah singkong.

Daun singkong banyak mengandung senyawa murni dari jenis flavonoid, salah satunya adalah rutin (Solikhah *et al.*, 2019). Senyawa rutin yang terkandung dalam daun singkong memiliki pengaruh dalam penghambatan bakteri *Staphylococcus aureus*. Berdasarkan hasil penelitian Kurnia (2019) aktivitas antibakteri fraksi etil asetat daun singkong dengan konsentrasi 1% sudah dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dengan zona hambat sebesar 8 mm. Senyawa flavonoid memiliki banyak manfaat dalam bidang kesehatan, tetapi memiliki bioaktivitas yang rendah (Rupasinghe *et al.*, 2013). Oleh sebab itu diperlukan pengembangan penghantaran obat yang dapat meningkatkan bioaktivitas senyawa flavonoid. Salah

satu pilihan sediaan yaitu dengan sistem penghantaran obat melalui kulit, yaitu *transdermal patch* (Singh *et al.*, 2014).

Transdermal patch merupakan sediaan untuk terapi melalui kulit dalam bentuk *patch* yang mengantarkan obat hingga mencapai efek sistemik (Singh dan Morris, 2019). Salah satu hal penting dari sediaan *patch* ini adalah kemampuannya tidak hanya untuk mengobati jerawat, tetapi juga melindungi jerawat dari kontaminan yang bisa memperburuk kondisi jerawat (Ulfa *et al.*, 2023). Polimer merupakan komponen utama sediaan *transdermal patch*. Penggunaan polimer pada penelitian ini yaitu kitosan dan natrium alginat. Kombinasi polimer ini dapat meningkatkan efisiensi penghantaran zat aktif dalam ekstrak melalui jalur transfolikular. Penggunaan polimer seperti natrium alginat dan kitosan sangat umum digunakan karena kedua polimer tersebut bersifat tidak beracun, biokompatibel, *biodegradable* sehingga aman untuk digunakan dalam berbagai aplikasi (Sandi *et al.*, 2018).

Hasil penelitian dari Nurhanif (2022) menjelaskan bahwa *patch* dengan CaCl_2 sebagai *crosslinker* menghasilkan karakteristik yang lebih baik dibandingkan yang tidak menggunakan CaCl_2 . Oleh sebab itu diperlukan penambahan kalsium klorida sebagai agen *crosslinking*. Pengaruh konsentrasi CaCl_2 juga telah dilakukan oleh Ibrahim (2019) hasil penelitiannya menjelaskan bahwa CaCl_2 dengan konsentrasi 0,2% memiliki penurunan daya tarik, sehingga sifat fisik dapat dimodifikasi dari konsentrasi CaCl_2 yang digunakan. Penggunaan kalsium klorida sebagai agen *crosslinking* dapat meningkatkan kekuatan ikatan pada *patch* dengan natrium alginat melalui pembentukan kompleks khelat antara ion kalsium dan anion karboksilat.

Sehingga penambahan CaCl_2 ke dalam formulasi dapat meningkatkan kekuatan *patch* serta mempengaruhi karakteristik *patch*.

¹ Berdasarkan uraian diatas, maka pada penelitian ini daun singkong akan digunakan sebagai zat aktif pada formulasi *transdermal patch* menggunakan kalsium klorida sebagai *crosslinker* ¹ dengan 3 variasi konsentrasi berbeda, yang bertujuan untuk mengetahui karakteristik *transdermal patch*, stabilitas *transdermal patch*, serta efektivitas *patch* ⁵ fraksi etil asetat daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz.) sebagai zat antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, sehingga perlu dirancang penelitian tentang formulasi dan uji aktivitas antibakteri *transdermal patch* fraksi etil asetat daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh variasi konsentrasi kalsium klorida terhadap karakteristik sediaan *transdermal patch* fraksi etil asetat daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz.)?
2. Bagaimana stabilitas dari formula terbaik sediaan *transdermal patch* fraksi etil asetat daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz.)?
3. Bagaimana efektivitas dari formula terbaik sediaan *transdermal patch* fraksi etil asetat daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz.) sebagai zat ⁴ antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Menentukan pengaruh variasi konsentrasi kalsium klorida terhadap karakteristik *transdermal patch* ⁵ fraksi etil asetat daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz.)

2. Menentukan stabilitas dari formula terbaik sediaan *transdermal patch* fraksi etil asetat daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz.)
3. Menentukan efektivitas dari formula terbaik sediaan *transdermal patch* fraksi etil asetat daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz.) sebagai zat antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi mengenai daun singkong dan pengaruh kalsium klorida terhadap karakteristik dan stabilitas sediaan *transdermal patch* menggunakan fraksi etil asetat daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz.). Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi rujukan dalam pengembangan sediaan *transdermal patch* yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Singkong (*Manihot esculenta* Crantz.)

Tanaman singkong (*Manihot esculenta* Crantz.) merupakan tanaman daerah tropis yang termasuk ke dalam famili *Euphorbiaceae*. Tanaman singkong termasuk tanaman yang mudah tumbuh dan dianggap sebagai tanaman multifungsi. Di Indonesia, singkong merupakan bahan makanan yang populer dan banyak dikonsumsi oleh masyarakat (Derso dan Mahamud, 2018).

Klasifikasi *Manihot esculenta* Crantz menurut Tuhenay (2018) sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Dycotyledonae
Ordo	: Euphorbiales
Famili	: Euphorbiaceae
Genus	: Manihot
Species	: <i>Manihot esculenta</i> Crantz.

2.2 Morfologi

Singkong mempunyai batang yang berdiameter sedang (12–25 mm). Batang berwarna kuning kehijauan dan tidak bercabang. Permukaan tangkai daun pada bagian atas dan bawah berwarna merah, dari pangkal sampai ujung berwarna hijau kekuningan dan memiliki ukuran yang panjang (16–20 cm). Singkong memiliki daun pelindung atau braktea dengan warna pangkal sampai bagian ujung berwarna hijau, berbentuk segitiga dengan ujung meruncing, berjumlah dua helai berhadapan disisi kanan kiri pangkal tangkai daun (Restiani *et al.*, 2014).

Warna daun muda (pucuk) pada ubi ini berwarna hijau muda, sedangkan daun dewasa hijau tua, bagian tiap daun (cuping daun) berukuran lebar ($p/l < 5$ cm) dengan jumlah tiap daun 5,6 dan 7 helai, berbentuk lanset ujung daun meruncing. Pertulangan daun pada permukaan atas dan bawah bagian pangkal, tengah serta ujung berwarna kuning. Bunga pada singkong muncul saat 9 bulan setelah tanam. Umbi berbentuk silindris (*cylindrical*) dengan ketebalan korteks sedang (2–3 mm), berwarna krem, kulit luar umbi berwarna coklat tua, bagian dalam berdaging berwarna putih, rasa umbi tidak pahit dan pengupasan kulit tidak sulit (Restiani *et al.*, 2014).

2.3 Kandungan Kimia dan Manfaat

Daun singkong mengandung berbagai sekunder metabolit seperti flavonoid, triterpenoid, saponin, tanin dan vitamin C (Nurdiana, 2013). Daun singkong diketahui memiliki kandungan flavonoid yang tinggi. Flavonoid merupakan metabolit sekunder dihasilkan oleh tanaman dan memiliki banyak fungsi, salah

satunya yaitu sebagai antibakteri (Mustaricihie *et al.*, 2019). Flavonoid termasuk dalam senyawa fenolik dengan struktur kimia C6-C3-C6 (Redha, 2010).

Flavonoid adalah senyawa yang dapat larut dalam air. Senyawa flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenolik yang dapat diekstraksi menggunakan etanol 96% (Warditiani *et al.*, 2015). Flavonoid adalah senyawa metabolit yang melimpah dalam tanaman. Fungsi flavonoid memiliki signifikansi besar dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Fungsi-fungsi tersebut termasuk menarik perhatian hewan untuk proses penyerbukan dan penyebaran biji, merangsang fiksasi nitrogen oleh bakteri *Rhizobium*, meningkatkan pertumbuhan tabung serbuk sari, serta resorpsi nutrisi dan mineral dari proses penuaan daun (Kurnia, 2019). Flavonoid paling banyak terdapat pada daun singkong adalah rutin (Fachriyah *et al.*, 2023).

Rutin berupa serbuk hablur halus berwarna kuning pucat dan mengandung tidak kurang dari 95% dan tidak lebih dari 100,5% $C_{27}H_{30}O_{16}$ dihitung terdapat zat anhidrat. Rutin adalah salah satu jenis flavonoid yang termasuk dalam golongan flavonol. Flavonoid adalah senyawa fenolik yang banyak ditemukan dalam berbagai tanaman dan memiliki beragam manfaat kesehatan. Struktur kimia rutin termasuk ke dalam golongan flavonoid kuersetin dengan ikatan gula rutinosa. Senyawa rutin memiliki nama lain kuersetin-3-rutinosa. Rutin diketahui mempunyai aktivitas sebagai antibakteri, melindungi kerusakan organ tubuh dan antioksidan (Rachmawati *et al.*, 2019).

2.4 Ekstraksi

Ekstraksi adalah pemisahan atau pengambilan satu komponen yang terdapat di dalam suatu bahan padat atau cairan dengan menggunakan bantuan pelarut berdasarkan perbedaan kelarutan antara pelarut dan zat terlarut. Pemisahan terjadi atas dasar kelarutan komponen-komponen dalam campuran pelarut dan zat terlarut (Setiawan, 2015). Ada beberapa metode yang dapat dilakukan dalam ekstraksi, salah satu metode yang paling umum digunakan adalah metode maserasi. Metode maserasi merupakan proses perendaman sampel dan pelarut yang sesuai ke dalam suatu wadah *inert* yang ditutup rapat pada suhu kamar. Maserasi merupakan metode ekstraksi konvensional yang sangat sederhana dan murah (Badaring *et al.*, 2020).

Prinsip maserasi yaitu penyarian zat aktif yang dilakukan dengan cara merendam simplisia dalam pelarut yang sesuai selama beberapa hari. Pada saat proses perendaman bahan terjadi pemecahan membran sel dan dinding sel yang disebabkan oleh perbedaan tekanan luar sel dengan bagian dalam sel sehingga metabolit sekunder yang terdapat di dalam sitoplasma akan mengalami pemecahan dan terlarut pada pelarut yang digunakan (Novitasari dan Putri, 2016; Nugroho, 2017). Keuntungan menggunakan metode maserasi adalah peralatan yang sederhana dan relatif murah. Sedangkan kerugiannya antara lain memerlukan waktu yang lama dan pelarut yang digunakan lebih banyak (Rasul, 2018).

Pemilihan pelarut yang tepat dalam metode maserasi akan memberikan efektivitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam pelarut tersebut. Salah satu pelarut yang dapat digunakan adalah etanol 96%. Etanol digunakan sebagai pelarut karena bersifat universal, polar dan mudah didapat. Etanol

96% dipilih karena selektif, tidak toksik, absorpsinya baik dan kemampuan penyariannya yang tinggi sehingga dapat menyari senyawa yang bersifat non-polar, semi polar dan polar. Pelarut etanol 96% lebih mudah masuk berpenetrasi ke dalam dinding sel sampel daripada pelarut etanol dengan konsentrasi lebih rendah, sehingga menghasilkan ekstrak yang pekat (Wendersteyt *et al.*, 2021).

2.5 Fraksinasi

Fraksinasi merupakan suatu proses pemisahan senyawa yang didasarkan pada kelarutan senyawa pada dua macam pelarut yang tidak saling bercampur. Fraksinasi ini biasa dikenal juga dengan istilah ekstraksi cair-cair (Satria *et al.*, 2022). Tujuan fraksinasi adalah untuk memisahkan komponen-komponen senyawa aktif dari ekstrak yang telah dihasilkan. Pemisahan secara partisi cair-cair harus memiliki perbedaan kelarutan antara pelarut dan zat terlarut serta kedua pelarut yang digunakan tidak saling bercampur. Pelarut yang biasa digunakan dalam fraksinasi ialah etil asetat, *n*-heksana dan metanol (Supomo *et al.*, 2021). Senyawa metabolit yang dapat tertarik pada pelarut etil asetat (pelarut semi polar) antara lain flavonoid, saponin dan alkaloid (Anjaswati *et al.*, 2021).

2.6 Kulit

Kulit merupakan organ terbesar dalam tubuh yang melindungi otot dan menjaga homeostasis. Kulit berfungsi sebagai pelindung tubuh dari berbagai trauma serta menjadi penghalang bagi bakteri, virus, dan jamur (Sharma *et al.*, 2013). Kulit dibagi menjadi tiga wilayah utama: lapisan terluar (epidermis), lapisan tengah (dermis), dan lapisan terdalam (hipodermis) (Zakaria, 2020). Lapisan epidermis meliputi stratum

⁶ basal (bagian terdalam dari epidermis), stratum spinosum, stratum granulosum, stratum lucidum dan stratum korneum (bagian terluar epidermis).

Dermis terhubung dengan epidermis pada tingkat membran dasar dan terdiri dari dua lapisan jaringan penghubung, yaitu lapisan papiler dan retikular. Lapisan papiler adalah lapisan atas yang lebih tipis, terdiri dari jaringan penghubung longgar, dan berkontak dengan epidermis. Lapisan retikular adalah lapisan yang lebih dalam, lebih tebal, kurang berisi sel, dan terdiri dari jaringan penghubung padat atau bundel serat kolagen. Dermis menjadi tempat bagi kelenjar keringat, rambut, folikel rambut, otot, neuron sensorik dan pembuluh darah. Lapisan hipodermis terletak di bawah dermis dan juga disebut fascia subkutan. Lapisan tersebut adalah lapisan terdalam dari kulit dan mengandung lobula adiposa bersama dengan beberapa apendiks kulit ⁶ seperti folikel rambut, neuron sensorik dan pembuluh darah (Sharma *et al.*, 2012).

2.6.1 Rute Penetrasi Obat Melalui Kulit

Ada dua kemungkinan rute penetrasi obat melintasi kulit, yaitu jalur transdermal dan jalur transpendeal. Jalur transepidermal melibatkan jalur molekul melewati stratum korneum, struktur yang beragam secara arsitektural, berlapis-lapis dan penghalang multi-seluler. Penetrasi transdermal dapat disebut intra- atau inter-seluler. Rute intra-seluler melalui korneosit, keratinosit yang terdiferensiasi secara terminal, memungkinkan pengangkutan zat terlarut hidrofilik atau polar. Transportasi melalui ruang antar sel memungkinkan difusi zat terlarut lipofilik atau non-polar melalui matriks lipid kontinu. Rute transappendeal melibatkan perjalanan molekul melalui kelenjar keringat dan melintasi folikel rambut (Alkilani *et al.*, 2015). Molekul yang dapat melalui rute transpendeal ¹ ini

biasanya molekul ion dan molekul yang sangat polar, yang sulit terpermeasi pada stratum korneum (Tanwar, 2016; Marwah *et al.*, 2014).

2.7 Jerawat

Jerawat atau *acne vulgaris* merupakan peradangan kronis pada unit folikel kelenjar *sebaceous*. Penyebabnya adalah ciri klinis yang multifaktorial berupa komedo, papula, pustula, nodul dan kista (Sibero *et al.*, 2019). Jerawat adalah penyakit kulit karena adanya penumpukan minyak yang menyebabkan pori-pori kulit wajah tersumbat sehingga memicu aktivitas bakteri dan peradangan pada kulit (Nurjanah *et al.*, 2018). Mekanisme pertama pembentukan *acne vulgaris*, yaitu stimulasi pada kelenjar sebacea yang menyebabkan sebum berlebih biasanya dimulai pada masa pubertas. Kedua, pembentukan jerawat terkait dengan proliferasi keratinosit yang abnormal, adhesi dan diferensiasi cabang bawah folikel folikel (Sifatullah *et al.*, 2021).

Proses penyembuhan jerawat meliputi pengurangan reaksi radang yaitu benjolan berwarna merah dapat berkurang setelah dilakukan perawatan secara baik dan zat-zat aktif yang dibutuhkan telah meresap ke dalam kulit secara sempurna. Proses penyembuhan jerawat menggunakan *patch* dipilih karena biokompatibilitas lembut dan elastis pada kulit. *Patch* dengan zat aktif rutin daun singkong memberikan pendekatan topikal, artinya bahan aktif langsung diterapkan pada area atau permukaan kulit yang membutuhkan perawatan. Pendekatan topikal berfokus pada penanganan masalah pada area yang spesifik. Hal ini memungkinkan bahan aktif untuk bekerja efektif pada masalah kulit tanpa mempengaruhi bagian tubuh lain (Qothrunnada *et al.*, 2021).

2.8 Antibakteri

Antibakteri adalah senyawa yang memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan atau mempengaruhi metabolisme bakteri. Berdasarkan sifat toksisitasnya, senyawa antibakteri memiliki sifat bakterisidal dan bakteriostatik. Antibakteri bakteriostatik hanya menghambat pertumbuhan bakteri tanpa menyebabkan kematian, sementara antibakteri yang bersifat bakterisidal memiliki kemampuan untuk membunuh bakteri. Dalam konsentrasi yang tinggi, senyawa bakteriostatik juga dapat bersifat bakterisidal. Senyawa antibakteri dikategorikan sebagai berspektrum luas jika memiliki kemampuan membunuh bakteri gram positif maupun gram negatif. Sebaliknya, senyawa antibakteri diklasifikasikan sebagai spektrum sempit jika hanya efektif dalam membunuh bakteri gram positif atau gram negatif (Purnamaningsih *et al.*, 2017).

2.8.1 Mekanisme Kerja Antibakteri

Menurut Jawetz (2005) mekanisme kerja antibakteri dapat melalui berbagai cara, diantaranya:

1. Penghambatan sintesis dinding sel

Bakteri mengandung peptidoglikan. Lapisan peptidoglikan ini penting untuk kelangsungan hidup bakteri di lingkungan hipotonik. Struktur dinding sel dapat dirusak dengan menyerang lapisan peptidoglikan. Hilang atau rusaknya lapisan ini akan merusak dinding sel bakteri, sehingga menyebabkan kematian.

2. Penghambatan sintesis protein

Bakteri menggunakan protein sebagai sumber energi untuk pertumbuhan. Sintesis protein dimulai dengan memperoleh bahan baku seperti RNA, asam amino,

dan nukleosida trifosida. Gen bakteri mengalami transkripsi menjadi RNA (mRNA), yang dibaca oleh ribosom 70S. Proses ini, disebut translasi, menghasilkan protein baru. Ribosom 70S terdiri dari subunit 50S dan 30S, krusial dalam sintesis protein. Karena pentingnya proses ini untuk pertumbuhan bakteri, antibiotik dapat menargetkan transkripsi dan translasi, menghentikan produksi protein dan pertumbuhan bakteri.

3. Perubahan fungsi membran plasma

Membran sitoplasma mempertahankan bahan-bahan tertentu didalam sel serta mengatur aliran keluar-masuknya bahan-bahan lain. Membran memelihara integritas komponen-komponen selular, kerusakan pada membran ini akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel.

4. Penghambatan sintesis asam nukleat

DNA, RNA, dan protein memiliki peran penting dalam menjalankan proses kehidupan normal sel. Hal ini berarti bahwa gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan atau fungsi zat-zat tersebut dapat menyebabkan kerusakan keseluruhan pada sel.

2.9 Metode Pengujian Antibakteri

2.9.1 Metode Difusi Cakram

Prinsip dasar dari metode difusi adalah bahwa senyawa antibakteri akan menyebar ke dalam medium padat dimana bakteri uji telah diinokulasi. Tujuan dari metode difusi agar adalah untuk membentuk zona hambatan dengan diameter di sekitar kertas cakram dan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam. Ukuran zona hambatan ini menunjukkan tingkat aktivitas senyawa antibakteri, baik

besar maupun kecilnya, dapat dilihat dari area jernih yang terbentuk (Gerung, 2021). Terdapat 2 cara yang dapat dilakukan dengan metode ini yaitu metode cakram dan metode sumuran. Kelebihan metode difusi meliputi kemudahan pelaksanaan karena tidak memerlukan peralatan khusus dan memberikan keleluasaan yang lebih besar dalam pemilihan senyawa obat yang akan diuji (Nurhayati *et al.*, 2020).

Metode difusi cakram merupakan pengukuran daerah zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram yang digunakan untuk mengetahui aktivitas antimikroba. Metode difusi cakram atau *disc-diffusion* dengan menggunakan kertas cakram sebagai media untuk menyerap bahan antimikroba direndam ke dalam bahan uji. Kelebihan dari metode difusi cakram yaitu proses pengujian cepat, biaya relatif murah, mudah dan tidak memerlukan keahlian khusus. Sedangkan kelemahan dari metode ini yaitu sulit untuk diaplikasikan pada mikroorganisme yang perkembangannya lambat dan zona bening yang terbentuk dipengaruhi pada kondisi inkubasi, inokulum serta ketebalan medium (Handayani *et al.*, 2018; Sarosa *et al.*, 2018).

2.10 Transdermal Patch

Rute *transdermal* telah menjadi salah satu sistem penghantaran obat yang paling sukses dan inovatif untuk penelitian dalam ilmu farmasi (Vishwakarma *et al.*, 2017). Salah satu metode yang paling populer untuk memberikan obat ke kulit untuk menghasilkan efek spesifik pada kulit dengan pelepasan terkontrol adalah menggunakan *transdermal patch*. *Transdermal patch* merupakan bentuk sediaan yang menghantarkan obat melewati kulit untuk menghasilkan efek sistemik dengan

keuntungan kecepatan pelepasan obat yang dapat dikontrol, menghindari *first pass metabolism* dan sediaan ini nyaman digunakan oleh pasien (Kesarwani *et al.*, 2013).

Transdermal patch terdiri dari dua komponen utama, yakni lapisan utama dan lapisan *backing*. Lapisan utama mengandung polimer yang berfungsi menempelkan *patch* pada kulit dan mengandung zat obat yang akan diserap. Sementara itu, lapisan *backing* bersifat *impermeable* untuk melindungi *patch* dan mencegah zat obat keluar ke lingkungan sekitar. Lapisan utama bertanggung jawab atas perekatan *patch* pada kulit dan pelepasan obat, sementara lapisan *backing* berperan dalam melindungi *patch* dan mengontrol pelepasan obat ke kulit (Santi *et al.*, 2022).

2.10.1 Faktor yang Mempengaruhi Sediaan *Transdermal Patch*

Faktor-faktor yang mempengaruhi proses pembuatan sediaan *transdermal* ada dua yaitu dari faktor biologi dan juga fisiologis (Latheeshjlal *et al.*, 2011). Faktor biologi meliputi kondisi dan umur kulit, aliran darah, situs daerah kulit, metabolisme kulit dan perbedaan jenis kulit. Sedangkan faktor fisiologis yaitu suhu dan pH, koefisien difusi, konsentrasi obat, hidrasi kulit, koefisien partisi, ukuran serta bentuk molekul. Terdapat pula beberapa faktor-faktor lain yang mampu mempengaruhi bioavailabilitas obat dari sediaan *transdermal*, yaitu faktor fisiologis dan formula (Prausnitz and Langer, 2009).

Faktor fisiologis yang mempengaruhi bioavailabilitas obat dari sediaan *transdermal* meliputi kondisi dan penyakit kulit, situs anatomi aplikasi pada tubuh, struktur lapisan kulit bagian terluar (*stratum korneum*), proses metabolisme kulit, serta reaksi sensitivitas dan iritasi pada kulit. Selain itu, terdapat faktor lain yang berpengaruh terhadap sediaan *transdermal*, yaitu faktor formulasi. Faktor formulasi

mencakup penggunaan *enhancer* pada formula, media dan membran yang digunakan, serta sifat fisik dan kimia bahan penghantar (Prausnitz dan Langer, 2009).

2.10.2 Komponen *Transdermal Patch*

Komponen dari *transdermal patch* meliputi zat aktif (obat), polimer, *plasticizer*, *crosslinker*, *enhancer* dan *solvent* sehingga proses pelepasan obat yang terkandung dalam sistem matriks pada *patch* tersebut menembus kulit dapat dikontrol (Kathe dan Kathpalia, 2017).

2.11 Bakteri *Staphylococcus aureus*

Menurut Syahrurahman (2010) klasifikasi dari *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut:

Domain : Bacteria
Kingdom : Eubacteria
Ordo : Eubacteriales
Famili : Micrococcaceae
Genus : *Staphylococcus*
Spesies : *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus aureus* adalah patogen komensal yang sering ditemukan pada kulit, hidung dan membran mukosa individu yang sehat (Matthew *et al.*, 2023). *Staphylococcus aureus* adalah bakteri gram positif, berbentuk bulat dengan diameter 0,7-1,2 μm . *Staphylococcus aureus* tumbuh dalam kelompok yang tidak teratur, menyerupai buah anggur dan tidak membentuk spora. Bakteri ini mampu tumbuh dengan baik dalam kondisi anaerob (tanpa oksigen) dan tidak

memiliki kemampuan bergerak. Suhu optimal pertumbuhannya adalah 37°C, tetapi pada suhu kamar (20-25°C) *S. aureus* dapat menghasilkan pigmen. Pigmen yang dihasilkan berkisar dari abu-abu⁴ hingga kuning keemasan dan koloninya berbentuk bundar, halus, menonjol dan berkilau. Lebih dari 90% isolat klinik menunjukkan bahwa *S. aureus* memiliki morfologi yang mencakup kapsul polisakarida atau selaput tipis, yang berperan dalam kemampuannya untuk menyebabkan penyakit (virulensi bakteri) (Karimela *et al.*, 2017).

Staphylococcus aureus adalah penyebab infeksi yang sering kali bersifat piogenik. Infeksi yang disebabkan oleh bakteri ini seringkali ditandai dengan peradangan, nekrosis, pembentukan abses dan dapat menghasilkan berbagai jenis infeksi, seperti jerawat, bisul, atau nanah (Jawetz, 2008). Bakteri ini biasanya tidak bersifat patogen dalam kondisi normal, tetapi ketika terjadi perubahan pada kondisi kulit, bakteri ini dapat menjadi invasif. Nutrisi untuk pertumbuhan bakteri diperoleh dari sekresi kelenjar keringat dan kelenjar sebacea, yang mencakup asam lemak, asam amino, urea, air, dan garam (Karimela *et al.*, 2017).

Mekanisme terjadinya jerawat melibatkan kerusakan pada lapisan stratum korneum dan stratum germinativum oleh bakteri yang mengeluarkan senyawa kimia yang dapat merusak dinding pori kulit (Imasari *et al.*, 2021). *Staphylococcus aureus* mengandung zat antigenik yang sangat penting dalam struktur dinding selnya, yang terdiri dari polisakarida dan protein. Dalam dinding sel, terdapat peptidoglikan, yang merupakan polimer polisakarida dengan sub-unit yang membentuk kerangka luar yang kuat. Peptidoglikan dapat terurai oleh asam kuat atau lisozim (Jawetz *et al.*, 2005).

1 **BAB IV**

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengambilan dan Preparasi Sampel

Daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz.) diperoleh dari Kelurahan Indralaya Indah, Kecamatan Indralaya Utara, Kabupaten Ogan Ilir Sumatera Selatan. Tanaman singkong telah dideterminasi di Laboratorium Botani, Jurusan Biologi, Universitas Lampung, Bandar Lampung. Determinasi perlu dilakukan untuk memastikan keaslian jenis tanaman yang diteliti serta menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan utama penelitian. Hasil determinasi yang diperoleh menyatakan bahwa sampel merupakan singkong yang memiliki nama latin *Manihot esculenta* Crantz. yang termasuk dalam famili *Euphorbiaceae*.

Preparasi sampel dilakukan dengan mengumpulkan daun singkong, kemudian dilakukan sortasi basah, hal ini dilakukan untuk memisahkan sampel dari kotoran-kotoran atau bahan asing yang menempel pada sampel. Daun singkong dilakukan pencucian menggunakan air mengalir dengan tujuan agar dapat menghilangkan pengotor yang ada pada sampel. Proses pengeringan sampel dilakukan dengan mengeringkan sampel dalam rumah kaca Jurusan Biologi, Universitas Sriwijaya. Keuntungan penggunaan rumah kaca pada proses pengeringan ini dapat memberikan lapisan pelindung dari cuaca eksternal seperti hujan, angin kencang atau sinar matahari langsung yang dapat mempengaruhi kualitas sampel (Khalisha *et al.*, 2020). Proses pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air yang ada pada sampel sehingga menghambat pertumbuhan mikroorganisme (Yamin *et al.*, 2017).

Simplisia yang sudah kering selanjutnya dilakukan sortasi kering yang bertujuan untuk memisahkan kembali bagian tanaman atau kotoran yang tidak diinginkan yang masih menempel atau tertinggal pada simplisia daun singkong. Simplisia yang sudah dilakukan sortasi kering selanjutnya dihaluskan dan diayak. Daun singkong yang dihaluskan bertujuan untuk mengurangi ukuran partikelnya agar proses ekstraksi menjadi lebih mudah. Pengayakan bertujuan untuk membuat serbuk simplisia yang digunakan menjadi seragam (Nikmatul *et al.*, 2018).

4.2 Ekstraksi

Ekstraksi daun singkong yang digunakan pada penelitian ini menggunakan metode maserasi. Metode maserasi dipilih karena tidak ada proses pemanasan selama proses ekstraksi berlangsung yang bertujuan untuk menghindari rusaknya senyawa aktif yang terkandung dalam daun singkong (Sudarwati *et al.*, 2019). Ekstraksi yang dilakukan tanpa pemanasan memungkinkan banyak senyawa yang terekstraksi. Selain itu ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan prosedur dan peralatan yang sederhana (Puspitasari dan Prayogo, 2017). Pembuatan ekstrak etanol daun singkong menggunakan perbandingan antara sampel dan pelarut adalah 1:10. Hal ini dikarenakan semakin banyak jumlah pelarut yang digunakan, tekanan yang diberikan pada proses maserasi akan meningkat dan menyebabkan ekstrak yang dihasilkan semakin banyak (Asworo dan Widwiastuti, 2023).

Pelarut yang digunakan pada penelitian ini menggunakan etanol 96%. Hal ini disebabkan karena etanol merupakan pelarut yang sangat baik untuk ekstraksi karena kemampuannya dalam mengekstraksi senyawa baik yang bersifat polar maupun non-polar (Sembiring *et al.*, 2016). Selain itu pelarut etanol 96% dipilih karena

toksitasnya yang rendah. Penggunaan etanol 96% sebagai pelarut cenderung lebih efektif dalam menembus atau meresap ke dalam dinding sel sampel dibandingkan dengan etanol yang memiliki konsentrasi yang lebih rendah. Hal ini menyebabkan ekstrak yang dihasilkan akan lebih pekat (Wendersteyt *et al.*, 2021). Ekstrak etanol daun singkong yang sudah dimaserasi kemudian disaring dan diambil filtratnya. Filtrat yang dihasilkan kemudian dilakukan penguapan menggunakan alat *rotary evaporator* dengan suhu 50°C dan kecepatan 80 rpm. Prinsip kerja *rotary evaporator* adalah dengan menguapkan pelarut ekstraksi sehingga hanya senyawa hasil ekstraksi yang tersisa dan disebut sebagai ekstrak (Reo *et al.*, 2017).

Ekstrak kental yang didapatkan sebesar 512 g dengan persen rendemennya sebesar 17,06%. Perhitungan persen rendemen ekstrak seperti terlihat pada Lampiran 7. Semakin tinggi rendemen, semakin besar jumlah ekstrak yang dihasilkan (Badriyah dan Fariyah, 2022). Hasil rendemen dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya adalah pelarut. Jenis dan tingkat kepolaran pelarut menjadi penentu jenis dan jumlah senyawa yang dapat diekstrak. Pelarut cenderung menarik senyawa yang memiliki tingkat kepolaran yang sama dengan pelarut yang digunakan (Pendit *et al.*, 2016).

4.3 Fraksinasi

Fraksinasi yang dilakukan pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode partisi cair-cair menggunakan corong pisah. Tujuan dari fraksinasi adalah untuk memisahkan komponen-komponen senyawa aktif dari ekstrak yang telah dihasilkan. Proses partisi cair-cair harus menunjukkan perbedaan dalam kelarutan antara pelarut dan zat terlarut, serta kedua pelarut yang digunakan tidak bercampur

satu sama lain (Nuria *et al.*, 2018). Proses fraksinasi dilakukan dengan menggunakan campuran dua pelarut yang memiliki kepolaran yang berbeda (Najihudin *et al.*, 2017). Oleh karena itu pelarut yang digunakan pada penelitian kali ini adalah *n*-heksana dan etil asetat.

Fraksinasi dilakukan secara bertingkat berdasarkan kelarutan dalam pelarut yang memiliki perbedaan polaritas. Proses fraksinasi dimulai dengan penggunaan pelarut non polar, seperti *n*-heksana dalam campuran etanol dengan perbandingan 1:1. Campuran etanol dan *n*-heksana diperoleh fraksi *n*-heksana dan fraksi etanol sisa. Fraksi *n*-heksana yang diperoleh tidak digunakan karena senyawa yang terlarut dalam fraksi *n*-heksana adalah senyawa non polar seperti steroid dan triterpenoid (Sembiring *et al.*, 2016). Fraksi etanol sisa yang diperoleh kemudian difraksinasi kembali menggunakan pelarut etil asetat yang bersifat semi polar. Proses fraksinasi menggunakan campuran fraksi etanol sisa, aquaest dan etil asetat (1:1:1,5). Fraksinasi dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali dengan tujuan memaksimalkan penarikan senyawa. Fraksi etil asetat yang diperoleh, kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C. Fraksi etil asetat yang didapatkan sebesar 63 g dengan persen rendemennya sebesar 12,30%. Perhitungan persen rendemen fraksi seperti terlihat pada Lampiran 7.

4.4 Karakterisasi Fraksi

Proses karakterisasi fraksi dilakukan dengan menggunakan sampel fraksi kental etil asetat ekstrak daun singkong. Karakterisasi dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui apakah fraksi yang digunakan telah memenuhi persyaratan sesuai dengan yang terdapat dalam Farmakope Herbal Indonesia.

Karakterisasi fraksi terdapat dua parameter yaitu parameter spesifik dan parameter non spesifik, parameter spesifik yang meliputi organoleptis, kadar sari larut air dan kadar sari larut etanol. Sedangkan parameter non spesifik meliputi kadar air dan kadar abu total.

4.4.1 Hasil Organoleptis

Pemeriksaan organoleptis fraksi etil asetat daun singkong dilakukan dengan pengamatan langsung terhadap fraksi. Pemeriksaan organoleptis melibatkan penggunaan panca indera untuk mengamati bentuk, warna dan bau dari fraksi tersebut. Hasil uji organoleptis menunjukkan bahwa fraksi etil asetat daun singkong memiliki sifat fisik berupa bentuk cairan kental, warna hijau dan bau khas.

4.4.2 Kadar Air

Penetapan kadar air fraksi etil asetat daun singkong bertujuan untuk mengetahui kandungan atau jumlah air yang terdapat dalam fraksi etil asetat daun singkong (Rosidah *et al.*, 2020). Hasil kadar air yang diperoleh adalah sebesar 7,33% \pm 0,5773. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi etil asetat daun singkong memenuhi persyaratan yaitu <10 % (Harahap *et al.*, 2022). Nilai kadar air yang terlalu tinggi dapat menyebabkan tumbuhnya bakteri, jamur atau mikroorganisme yang dapat menurunkan stabilitas fraksi dan akan menghasilkan kondisi fisik sediaan *patch* yang buruk (Saifudin *et al.*, 2011).

4.4.3 Kadar Abu Total

Pengujian kadar abu total bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya

ekstrak (Azizah dan Salamah, 2013). Semakin tinggi hasil kadar abu maka semakin tinggi kandungan mineral yang terdapat dalam fraksi. Penetapan kadar abu total dilakukan dengan pengabuan fraksi etil asetat daun singkong dalam krus yang dimasukkan ke dalam tanur pada suhu 600°C. Prinsip pengujian kadar abu total yakni mengoksidasi semua zat organik pada suhu tinggi dan kemudian melakukan penimbangan zat yang tersisa setelah proses pembakaran tersebut (Agustina *et al.*, 2020). Hasil kadar abu total yang diperoleh sebesar 2%. Dari hasil yang diperoleh bahwa kadar abu total fraksi etil asetat daun singkong memenuhi persyaratan yaitu $\leq 8\%$ (Harahap *et al.*, 2022).

4.4.4 Kadar Sari Larut Air dan Kadar Sari Larut Etanol

Pengujian kadar sari larut air dan kadar sari larut etanol bertujuan untuk mengetahui jumlah kandungan senyawa yang dapat larut atau terkestraksi oleh air dan etanol dari fraksi etil asetat daun singkong. Hasil yang diperoleh kadar sari larut air sebesar 26,67% \pm 2,886 dan kadar sari larut etanol sebesar 28,34% \pm 2,886. Kadar sari larut air menunjukkan adanya senyawa yang bersifat polar, karena air yang bersifat polar dapat menarik senyawa yang mempunyai polar juga. Sedangkan kadar sari larut etanol menandakan adanya senyawa polar dan non polar. Proses pengujian kadar sari larut air perlu penambahan kloroform terlebih dahulu. Kloroform pada pengujian kadar sari larut air berfungsi sebagai zat antimikroba, karena jika pada saat pengujian hanya menggunakan air saja dapat menyebabkan fraksi rusak karena air merupakan tempat pertumbuhan mikroba sehingga pengujian yang dilakukan tidak maksimal. Sementara, pada pengujian kadar sari larut etanol tidak

menggunakan kloroform, karena etanol sudah memiliki sifat zat antimikroba (Latifa dan Hazar, 2022).

4.5 Skrining Fitokimia Fraksi Etil Asetat Daun Singkong

Skrining fitokimia dilakukan pada sampel fraksi etil asetat daun singkong. Uji skrining fitokimia bertujuan untuk mengetahui senyawa metabolit yang terkandung pada sampel. Metode pengujian skrining fitokimia meliputi pengujian kualitatif dengan menggunakan suatu pereaksi warna. Hasil analisa fitokimia fraksi etil asetat daun singkong menunjukkan hasil bahwa fraksi etil asetat daun singkong positif mengandung flavonoid, saponin, fenolik dan steroid.

Pengujian flavonoid fraksi etil asetat daun singkong dilakukan dengan menambahkan serbuk magnesium dan asam klorida pekat. Hasil pengujian menunjukkan hasil positif karena terbentuknya warna merah. Warna merah tersebut merupakan garam flavilium yang terbentuk karena penambahan asam klorida pekat dan serbuk magnesium (Sulasma *et al.*, 2013). Semakin pekat warna merah yang terbentuk menandakan bahwa semakin tinggi kandungan senyawa flavonoid yang terkandung pada sampel (Mariana *et al.*, 2013).

Identifikasi saponin dilakukan dengan menggunakan *aquadest* dan asam klorida pekat. Pengujian saponin dinyatakan positif karena timbulnya busa dan busa stabil atau tidak hilang setelah penambahan asam klorida pekat. Timbulnya busa pada saat identifikasi senyawa saponin menunjukkan adanya glikosida yang memiliki kemampuan untuk membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Marliana *et al.*, 2005). Saponin mempunyai dua gugus yaitu gugus hidrofilik dan gugus hidrofobik. Penambahan asam klorida pada

identifikasi saponin menyebabkan peningkatan kepolaran senyawa saponin sehingga mengubah letak gugus penyusunnya. Hal tersebut menyebabkan gugus yang bersifat polar (hidrofilik) akan menghadap ke luar dan gugus non polar (hidrofobik) akan menghadap ke dalam dan membentuk struktur yang disebut struktur misel (Simaremare, 2014). Struktur misel yang terbentuk akan membentuk busa yang menandakan bahwa identifikasi fraksi etil asetat daun singkong mengandung senyawa saponin.

Identifikasi senyawa fenolik dilakukan dengan penambahan FeCl_3 1%. Penambahan FeCl_3 akan mengubah warna fraksi menjadi merah, biru tua, ungu, biru kehitaman atau hitam. Hasil pengujian identifikasi senyawa fenolik menunjukkan hasil positif karena terbentuknya warna hitam pada fraksi etil asetat daun singkong. Warna hitam yang terbentuk dikarenakan reaksi antara FeCl_3 dengan gugus hidroksil yang ada pada senyawa fenol (Putri *et al.*, 2018). Pengujian senyawa steroid dilakukan dengan menggunakan pereaksi liberman burchard. Pereaksi Liberman-burchard akan menghasilkan warna merah-ungu. Hasil identifikasi senyawa steroid menunjukkan hasil positif karena terjadi perubahan warna menjadi warna ungu. Perubahan warna ini merupakan hasil reaksi kimia antara triterpenoid dengan H_2SO_4 dalam pelarut asam asetat anhidrat (Kancherla *et al.*, 2019).

4.6 Hasil Penentuan Kadar Rutin Total

4.6.1 Penentuan Panjang Gelombang dan Pembuatan Kurva Baku Rutin

Penentuan kadar rutin total fraksi etil asetat daun singkong menggunakan senyawa rutin standar. Penggunaan senyawa rutin standar sebagai pembanding karena kebanyakan flavonoid yang paling sering ditemukan dalam tanaman dalam

bentuk glikosida seperti kuersetin 3-rutinosida. Penetapan kadar rutin total diawali dengan penentuan panjang gelombang maksimum pada larutan standar rutin. Penentuan Panjang gelombang maksimum dilakukan dengan menggunakan alat spektrofotometer dalam rentang spektrum UV 400-800 nm untuk mengidentifikasi panjang gelombang dengan serapan maksimum (Azizah *et al.*, 2020). Penentuan panjang gelombang serapan maksimum pada penelitian ini diperoleh hasil *scanning* panjang gelombang maksimum sebesar 418 nm dengan absorban maksimum 0,661. Panjang gelombang maksimum yang terdeteksi pada 418 nm digunakan untuk mengukur kurva kalibrasi absorbansi dan untuk pengujian jumlah total rutin fraksi etil asetat daun singkong. Hal ini dikarenakan panjang gelombang tertinggi pada 418 nm menghasilkan absorbansi terbesar, sehingga memberikan respon yang optimal terhadap sampel yang dianalisis.

Kurva baku rutin dibuat dengan membuat larutan induk rutin. Larutan induk yang sudah dibuat kemudian ditambahkan dengan 1,5 mL etanol 96% dan 0,1 mL AlCl_3 10%. Penambahan AlCl_3 10% berfungsi untuk memberikan efek batokromik. Timbulnya efek batokromik dapat menghasilkan warna yang lebih kuning (Hikmawanti *et al.*, 2021). Larutan yang sudah ditambahkan AlCl_3 10% kemudian ditambahkan dengan 0,1 mL natrium asetat 1 M, penambahan natrium asetat bertujuan sebagai penstabil. Larutan tersebut kemudian ditambahkan *aquadest* hingga tanda batas kemudian dikocok sampai homogen dan didiamkan selama 30 menit, hal ini bertujuan agar reaksi antara larutan standar rutin dengan pereaksi-pereaksi yang digunakan dapat berlangsung secara optimal (Azizah *et al.*, 2020). Larutan yang sudah divariasikan konsentrasinya kemudian dilakukan pengukuran

absorbansinya menggunakan spektrofotometer untuk mendapatkan persamaan regresi linier. Persamaan regresi linier yang didapatkan akan digunakan untuk penentuan kadar rutin total pada fraksi etil asetat daun singkong. Persamaan regresi linear yang diperoleh yaitu $y = 0,0094x - 0,1905$ dengan linieritas sebesar 0,9970. Nilai linearitas berperan dalam menggambarkan korelasi antara konsentrasi dan absorbansi yang dianggap semakin baik Ketika nilainya mendekati satu (Sulistiyani *et al.*, 2021).

4.6.2 Hasil Penetapan Kadar Rutin Total

Penetapan kadar rutin total dilakukan dengan menggunakan alat spektrofotometri UV-Vis. Absorbansi sampel diukur pada panjang gelombang 418 nm. Nilai absorbansi yang didapatkan kemudian dimasukkan dalam persamaan $y = 0,0094x - 0,1905$ untuk menentukan kadar total rutin dalam fraksi etil asetat daun singkong. Dari hasil perhitungan menggunakan persamaan regresi linear dan kurva standar, didapatkan konsentrasi total rutin dalam fraksi etil asetat ekstrak daun singkong sebesar 44,4591 mg/g, dengan persentase sebesar 4,44591 %.

4.7 Transdermal Patch

4.7.1 Pembuatan Sediaan

Pembuatan sediaan *transdermal patch* dibuat dengan metode *solvent casting*. Metode *solvent casting* merupakan metode yang efektif untuk pembuatan *patch* dalam skala laboratorium (Auliya *et al.*, 2019). Proses pembuatan dilakukan dengan melarutkan natirum alginat ke dalam pelarutnya yakni *aquadest* (Rowe *et al.*, 2009). Alginat dilarutkan dalam *aquadest* karena *aquadest* merupakan pelarut polar yang dapat melarutkan alginat dengan baik dan menjadi larutan yang homogen (Xiao gong

et al., 2016). Natrium alginat dikombinasikan dengan polimer kitosan. Penggunaan polimer seperti natrium alginat dan kitosan sudah sangat umum digunakan karena kedua polimer tersebut bersifat tidak beracun, biokompatibel, *biodegradable* sehingga aman untuk digunakan dalam berbagai aplikasi. Kitosan dilarutkan ke dalam asam asetat. Asam asetat memiliki keunggulan sebagai pelarut kitosan karena dapat menghasilkan *patch* yang kokoh dengan kekuatan daya tarik yang tinggi (Tambunan dan Chamidah, 2021).

Natrium alginat yang bermuatan negatif, berasal dari gugus karboksil berikatan dengan gugus amino yang bermuatan positif pada kitosan. Kalsium klorida digunakan sebagai *crosslinker* terhadap kitosan-natrium alginat. Penggunaan kalsium klorida digunakan untuk memperkuat ikatan antara polimer kitosan dan alginat sehingga menghasilkan struktur film yang kuat dan fleksibel (Bustos *et al.*, 2023). Variasi konsentrasi kalsium klorida akan mempengaruhi karakteristik *patch* yang dihasilkan. Kalsium klorida dipilih sebagai *crosslinker* karena kemampuan ion Ca^{2+} yang terdapat dalam kalsium klorida dalam berinteraksi dengan natrium alginat mampu membentuk sebuah matriks yang lebih stabil bila dibandingkan dengan *crosslinker* lain seperti ion Fe^{2+} yang ada dalam besi klorida. Ion Ca^{2+} yang berasal dari kalsium klorida membentuk ikatan dengan gugus karboksilat pada natrium alginat, menghasilkan suatu kompleks polielektrolit dengan natrium alginat yang memperkuat interaksinya dengan kitosan (Vijian *et al.*, 2022).

Proses pembuatan *transdermal patch* dibagi menjadi dua larutan. Larutan I dibuat dengan mencampurkan natrium alginat dengan PEG 400 dan larutan mentol kemudian diaduk menggunakan *magnetic stirrer* pada suhu ruang dengan kecepatan

300 rpm. Penggunaan PEG 400 pada pembuatan *patch* berfungsi sebagai *plasticizer* dan mentol berfungsi sebagai *enhancer*. PEG 400 umumnya digunakan sebagai *plasticizer* karena PEG 400 merupakan senyawa yang biokompatibel dan dapat menghasilkan sediaan *patch* yang elastis dan tidak rapuh (Maulana *et al.*, 2021). Penggunaan mentol sebagai *enhancer* telah terbukti meningkatkan permeasi obat dan bila dikombinasikan dengan PEG 400 dapat meningkatkan fluks obat pada *transdermal patch* (Huang *et al.*, 2010). Larutan I yang sudah homogen kemudian ditambahkan dengan kitosan dan CaCl₂ sambil diaduk menggunakan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 300 rpm.

Larutan II (larutan fraksi etil asetat daun singkong) dilarutkan menggunakan etanol 96%. Larutan fraksi yang sudah homogen kemudian dicampur dengan larutan I kemudian larutan diaduk menggunakan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 300 rpm hingga homogen. Larutan yang sudah homogen kemudian dituang dalam cawan petri dengan diameter 9 cm dan dikeringkan dalam oven dengan suhu 50°C selama 24 jam. *Patch* yang sudah kering, kemudian dimasukkan ke dalam desikator agar tidak menyerap uap air di udara sehingga *patch* yang dihasilkan tetap kering. Suhu dan waktu pengeringan sediaan *transdermal patch* sangat berpengaruh terhadap karakteristik sediaan.

4.7.2 Hasil Evaluasi Sediaan

Hasil evaluasi *transdermal patch* fraksi etil asetat daun singkong dengan variasi kalsium klorida meliputi organoleptis, ketebalan, keseragaman bobot, kelembapan, elongasi, daya tahan lipat, uji *swelling* dan uji pH.

4.7.2.1 Hasil Pengamatan Organoleptis

Pengamatan organoleptis *transdermal patch* melibatkan evaluasi karakteristik sensoriknya seperti warna, aroma dan permukaan sediaan. Pengujian organoleptis bertujuan untuk memastikan kualitas *transdermal patch* (Suhaitamy *et al.*, 2021). Hasil pengamatan pada ketiga formula menunjukkan warna kehijauan, aroma khas fraksi etil asetat daun singkong. Aroma dan warna yang dihasilkan pada ketiga formula tergantung pada warna fraksi yang digunakan. Fraksi etil asetat daun singkong yang digunakan pada penelitian ini berwarna hijau dan memiliki aroma khas daun singkong sehingga warna *patch* yang dihasilkan berwarna kehijauan dan memiliki aroma khas daun singkong.

Ketiga formula memiliki permukaan *patch* yang halus dan tekstur yang elastis. *Transdermal patch* yang elastis disebabkan karena PEG 400 yang berfungsi sebagai *plasticizer*. PEG 400 yang berinteraksi dapat membentuk ikatan hidrogen dalam rantai ikatan antar polimer sehingga menyebabkan interaksi antar molekul menjadi semakin berkurang. Gangguan pada rantai polimer inilah yang dapat meningkatkan elastisitas *transdermal patch* (Rifqiani *et al.*, 2021).

4.7.2.2 Hasil Uji Ketebalan

Pengujian ketebalan dilakukan dengan menggunakan mikrometer sekrup. Uji ketebalan *transdermal patch* penting untuk dilakukan karena berpengaruh pada pelepasan obat dan kenyamanan penggunaan. Ketebalan *patch* yang sesuai dengan optimal dapat memastikan pelepasan obat yang efisien dan memenuhi efektivitas terapeutik yang diharapkan (Wardani dan Saryanti, 2021). *Patch* yang terlalu tebal

dapat mempengaruhi pelepasan obat, menyebabkan pelepasan obat menjadi lambat (Nurhamidah dan Nurrochman, 2022). Keseragaman ketebalan pada ketiga formula memiliki ketebalan yang seragam, nilai keseragaman ketebalan tiap formula dapat dilihat dari nilai CV <5 %.

Berdasarkan tabel tersebut, terlihat bahwa hasil ketiga formula memenuhi syarat ketebalan yakni <1 mm (Shirsand *et al.*, 2012). Data yang dihasilkan menunjukkan bahwa ketebalan *patch* meningkat seiring dengan naiknya konsentrasi kalsium klorida. Hal ini dikarenakan penambahan konsentrasi kalsium klorida mengakibatkan peningkatan kadar gel karena terbentuknya ikatan silang antara ion Ca^{2+} dan gugus karboksilat dalam natrium alginat, akibatnya *patch* menjadi semakin tebal.

Data yang telah didapatkan kemudian dianalisis menggunakan SPSS[®]25. Analisis diawali dengan uji normalitas data keseragaman ketebalan dengan menggunakan metode *Saphiro-Wilk*. Nilai signifikan yang diperoleh adalah >0,05 untuk ketiga formula. Hal tersebut berarti data hasil pengujian keseragaman ketebalan terdistribusi normal sehingga dilanjutkan dengan uji ANOVA *one way*. Analisis menggunakan ANOVA *one way* bertujuan untuk menilai apakah variasi konsentrasi kalsium klorida memiliki pengaruh yang signifikan terhadap keseragaman ketebalan *patch*. Hasil ANOVA *one way* menunjukkan nilai signifikan <0,05, yang artinya terdapat pengaruh yang signifikan akibat variasi konsentrasi kalsium klorida terhadap ketebalan *patch*. Pengujian dilanjutkan dengan melakukan uji *post-hoc*. Hasil uji ini menunjukkan bahwa formula I dengan konsentrasi 0,5% memiliki perbedaan yang signifikan terhadap formula II dan formula III. Formula II

dengan konsentrasi 0,75% memiliki perbedaan signifikan terhadap formula I dan formula III. Formula III dengan konsentrasi 1% memiliki perbedaan signifikan terhadap formula I dan formula II.

4.7.2.3 Hasil Uji Keseragaman Bobot

Uji keseragaman bobot bertujuan untuk memastikan bahwa setiap *patch* mengandung jumlah dosis yang sama (Wardani dan Dwi, 2022). Pengujian keseragaman bobot dilakukan dengan menimbang 3 sampel *patch* dengan ukuran 2x2 cm dari masing-masing formula kemudian dihitung bobot rata-rata dan standar deviasinya (Kanabar *et al.*, 2015). Hasil data pengujian menunjukkan bahwa bobot *patch* paling besar terdapat pada F3. Hal ini dikarenakan seiring dengan meningkatnya konsentrasi CaCl₂ akan menyebabkan bobot *patch* semakin meningkat. Kalsium klorida memiliki sifat higroskopis. Dengan peningkatan konsentrasi kalsium klorida, kemungkinan besar juga meningkatnya kemampuan *patch* untuk menyerap air dari udara sekitarnya. Hal ini dapat menyebabkan peningkatan bobot *patch*. Berdasarkan hasil pengujian bobot *patch* dapat dikatakan seragam karena nilai CV ≤ 5 % (Wardani & Saryanti, 2021).

Data hasil pengujian keseragaman bobot kemudian dilakukan analisis menggunakan SPSS[®]25. Pengujian diawali dengan melakukan uji normalitas menggunakan metode *Shapiro-Wilk*. Hasil pengujian normalitas menunjukkan nilai yang signifikan >0,05 yang artinya nilai keseragaman bobot *patch* yang didapatkan terdistribusi normal. Pengujian dilanjutkan dengan analisis ANOVA *one way*, nilai signifikan yang diperoleh <0,05. Nilai yang diperoleh menunjukkan bahwa terdapat pengaruh yang signifikan dari variasi konsentrasi kalsium klorida. Pengujian

dilanjutkan dengan uji *post-hoc* dengan metode duncan. Pengujian ini dilakukan untuk melihat perbedaan signifikan antar formula. Nilai signifikan yang diperoleh <0,05, artinya tiap formula *patch* memiliki perbedaan keseragaman bobot yang signifikan. Formula I dengan konsentrasi 0,5% memiliki perbedaan yang signifikan terhadap formula II dan formula III. Formula II dengan konsentrasi 0,75% memiliki perbedaan signifikan terhadap formula I dan formula III. Formula III dengan konsentrasi 1% memiliki perbedaan signifikan terhadap formula I dan formula II.

4.7.2.4 Hasil Uji Kelembapan

Uji kelembapan sediaan *patch* merupakan parameter penting untuk memastikan kualitas sediaan. Pengujian kelembapan dilakukan untuk mengetahui kadar air yang terdapat dalam sediaan. Nilai kadar air yang terkandung dalam *patch* dapat mempengaruhi stabilitas sediaan karena kadar air yang tinggi dapat menimbulkan pertumbuhan mikroba pada *patch* (Amalia *et al.*, 2023). Hasil uji kelembapan didapatkan bahwa kadar air tertinggi terdapat pada F3 sebesar 7,091 %, F2 6,057 % dan F1 4,258 %. Menurut penelitian Kumar *et al* (2012), sediaan *patch* yang baik mengandung sedikit air yakni dengan rentang <10 %. Ketiga formula telah memenuhi syarat kadar air sediaan *transdermal patch*. Kadar air yang semakin tinggi disebabkan karena adanya peningkatan konsentrasi CaCl₂ (Magdalena, 2017). Ion Ca²⁺ yang berikatan dengan gugus karboksilat dari natrium alginat akan semakin meningkat sehingga akan terjadi ikatan menyilang dan struktur jaringan akan semakin kuat sehingga dapat mempertahankan kadar air dalam sediaan *patch* (Ambarita *et al.*, 2022).

Data hasil pengujian kelembapan kemudian dianalisis menggunakan SPSS®25. Pengujian diawali dengan melakukan uji normalitas dengan metode *Shapiro-Wilk*. Hasil yang didapatkan nilai signifikan $>0,05$ pada tiap formula yang artinya data hasil uji kelembapan terdistribusi normal dan dapat dilanjutkan dengan uji ANOVA *one way*. Hasil analisis dengan ANOVA *one way* mendapatkan nilai signifikan $<0,05$ yang menandakan bahwa variasi konsentrasi kalsium klorida memiliki pengaruh terhadap kadar kelembapan sediaan *transdermal patch*. Pengujian dilanjutkan dengan uji *post hoc* dengan hasil analisis yang menunjukkan bahwa formula I dengan konsentrasi 0,5% memiliki perbedaan signifikan dengan formula II dan formula III, formula II dengan konsentrasi 0,75% memiliki perbedaan signifikan dengan formula I dan formula III, formula III dengan konsentrasi 1% memiliki perbedaan signifikan dengan formula I dan formula II.

4.7.2.5 Hasil Uji Swelling

Uji *swelling* dilakukan untuk menilai kemampuan penyerapan air. Uji *swelling* diukur dengan mengamati perubahan berat *patch* yang dibiarkan dalam *aquadest* selama 1 jam. Pengujian *swelling* dapat memprediksi pelepasan zat aktif dari *transdermal patch*. Pengujian menunjukkan bahwa formula 1 memiliki *swelling* tertinggi, kemudian diikuti oleh formula 2 dan formula 3. Pengembangan yang terjadi pada sediaan disebabkan oleh keberadaan ion COO^- yang berasal dari alginat. Ion tersebut memiliki sifat hidrofilik yang menyebabkan penyerapan air oleh *patch* dan akhirnya menyebabkan *patch* dapat menyerap air dan mengembang (Sebayang, 2009).

Formula 3 memiliki daya pengembangan yang lebih rendah karena adanya penambahan konsentrasi kalsium klorida. Semakin tinggi konsentrasi kalsium klorida dalam *transdermal patch*, semakin kuat pula ikatan ionik yang terbentuk. Akibatnya, struktur menjadi lebih padat dan mengurangi proses penyerapan air ke dalam *patch*. Hal ini sesuai dengan penelitian oleh Ibrahim *et al* (2019) bahwa peningkatan kalsium klorida dapat menurunkan derajat *swelling*.

Data hasil pengujian kemudian dianalisis menggunakan SPSS[®]25. Pengujian diawali dengan uji normalitas, uji normalitas dilakukan dengan menggunakan metode *Shapiro-Wilk*. Hasil pengujian normalitas menghasilkan nilai signifikan $>0,05$ yang artinya data terdistribusi normal. Analisis dilanjutkan dengan uji ANOVA *one way*. Analisis ANOVA *one way* bertujuan untuk mengetahui apakah terdapat pengaruh pada tiap formula akibat variasi konsentrasi kalsium klorida. Hasil pengujian dengan ANOVA *one way* menghasilkan nilai signifikan $<0,05$ yang berarti bahwa terdapat pengaruh yang signifikan pada tiap formula. Pengujian dilanjutkan dengan uji *post-hoc*. Hasil pengujian didapatkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antar formula terhadap derajat *swelling* sediaan *transdermal patch*.

4.7.2.6 Hasil Uji Daya Tahan Lipat

Uji daya tahan lipat *transdermal patch* merupakan pengujian untuk mengetahui fleksibilitas dan elastisitas *patch*. Uji daya tahan lipat *patch* dilakukan secara manual dengan melipat *patch* berulang kali di tempat yang sama sampai rusak atau sampai 300 kali. Hasil uji daya tahan lipat yang baik adalah >300 lipatan (Ardiyana *et al.*, 2021). Hal ini berkaitan dengan fungsi PEG 400 sebagai *plasticizer*

yang efektif dalam meningkatkan fleksibilitas *patch* dan mencegah potensi kerusakan (Hartesi *et al.*, 2021). *Plasticizer* mempengaruhi elastisitas *patch* karena *plasticizer* dapat mengubah struktur polimer dengan memisahkan rantai-rantai polimer (Nuryanti, 2016).

Hasil pengujian sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Hartesi (2021) menunjukkan bahwa *patch* yang menggunakan PEG 400 sebagai *plasticizer* menghasilkan ketahanan lipat >300 kali. Selain penggunaan *plasticizer*, reaksi ikatan silang antara kalsium alginat dan kitosan menghasilkan ikatan silang yang memperkuat ikatan antara kalsium alginat-kitosan. Ikatan silang yang terbentuk dapat membuat sediaan *patch* yang dihasilkan tidak mudah robek (Nurhanif, 2022). Hasil pengujian daya tahan lipat menunjukkan bahwa tiap formula mempunyai daya tahan lipat yang baik karena memenuhi persyaratan >300 kali.

4.7.2.7 Hasil Uji Elongasi

Uji elongasi merupakan proses untuk menilai kemampuan *patch* dalam meregang dan menyesuaikan diri dengan gerakan tubuh, sehingga tidak menyebabkan ketidaknyamanan saat digunakan. Nilai persen elongasi yang baik adalah >10% (Rusli *et al.*, 2017). Hasil uji elongasi pada *transdermal patch* perlu dilakukan karena *patch* yang tidak dapat meregang dengan baik dapat menyebabkan ketidaknyamanan saat digunakan dan mengurangi kemampuan *patch* untuk menyampaikan zat aktif melalui kulit.

Hasil pengujian elongasi tiap formula menghasilkan persen elongasi yang berbeda-beda. Persen elongasi tertinggi terdapat pada formula *patch* dengan konsentrasi CaCl₂ 1% yaitu 92,667% dan persen elongasi formula *patch* dengan

konsentrasi 0,5% dan 0,75% berturut-turut adalah 80,116% dan 89,083%. Berdasarkan penelitian Ibrahim (2019) menunjukkan bahwa *patch* dengan penambahan konsentrasi CaCl₂ menghasilkan elongasi yang lebih baik. Hal ini disebabkan karena CaCl₂ dapat memperkuat ikatan dengan natrium alginat karena adanya kompleks khelat antara ion Ca²⁺ dengan anion karboksilat, sehingga penambahan CaCl₂ dalam formula akan membuat *patch* lebih elastis dan kuat.

Data hasil elongasi kemudian dianalisis menggunakan SPSS[®]25. Uji normalitas dilakukan dengan menggunakan dengan metode *Shapiro-Wilk*. Hasil menunjukkan nilai signifikan >0,05 untuk semua formula, menandakan bahwa data elongasi terdistribusi secara normal. Dilanjutkan dengan uji ANOVA *one way*. Hasil pengujian dengan ANOVA *one way* menunjukkan nilai signifikan <0,05 yang artinya terdapat pengaruh yang signifikan dari variasi konsentrasi CaCl₂ terhadap elongasi *transdermal patch*. Pengujian selanjutnya dilakukan uji *post-hoc*. Pengujian *post-hoc* dilakukan untuk melihat perbedaan diantara ketiga formula. Hasil analisis *post-hoc* menunjukkan nilai signifikansi <0,05, hal ini menunjukkan bahwa setiap formula memiliki perbedaan signifikan yang berasal dari variasi konsentrasi CaCl₂.

4.7.2.8 Hasil Uji pH

Uji pH pada *transdermal patch* bertujuan untuk mengetahui kemanan sediaan saat digunakan pada kulit. Syarat pH untuk sediaan topikal berada pada rentang 4-8 (Wardani dan Dwi, 2021). Jika pH pada sediaan terlalu asam dapat menyebabkan kulit menjadi iritasi, sedangkan jika pH pada sediaan terlalu basa

dapat menyebabkan kulit menjadi kering dan bersisik. Hasil pengujian menunjukkan bahwa ketiga formula memenuhi syarat uji pH yaitu berada pada rentang 6,71-6,75.

Data hasil pengujian pH kemudian dianalisis menggunakan SPSS[®]25 dengan melakukan uji normalitas menggunakan metode *Shapiro-Wilk*. Hasil pengujian dengan *Shapiro-Wilk* menunjukkan nilai signifikan $>0,05$ untuk semua formula, hal ini menunjukkan bahwa data hasil pengujian pH terdistribusi normal. Selanjutnya dilanjutkan dengan pengujian ANOVA *one way*. Hasil pengujian ANOVA *one way* menunjukkan nilai $>0,05$, yang artinya variasi konsentrasi kalsium klorida yang digunakan tidak memiliki pengaruh signifikan terhadap pengujian pH sediaan *transdermal patch*.

4.8 Penentuan Formula Terbaik

Penentuan formula terbaik untuk sediaan *transdermal patch* kali ini menunjukkan bahwa formula yang mengandung kalsium klorida sebanyak 0,5% (F1) merupakan formula terbaik. Pemilihan ini didasarkan pada hasil evaluasi berbagai parameter sediaan *transdermal patch*, termasuk penilaian organoleptis, ketebalan, keseragaman bobot, kelembapan, elongasi, daya tahan lipat, uji *swelling*, dan pH. Formula I dengan konsentrasi kalsium klorida 0,5% menghasilkan nilai ketebalan dan bobot *patch* yang lebih baik dibandingkan dengan formula II dan formula III. Hal ini dikarenakan semakin kecil nilai ketebalan dan bobot *patch* dapat meningkatkan rasa nyaman saat menggunakan *patch* serta dapat mempercepat pelepasan obat dari matriks (Arifin *et al.*, 2019). Nilai persen kelembapan formula I juga lebih baik dibandingkan formula II dan formula III, hal ini dikarenakan semakin

rendah nilai persen kelembapan dapat melindungi sediaan *transdermal patch* dari kontaminasi mikroba.

4.8.1 Evaluasi Formula Terbaik

4.8.1.1 Keseragaman Kadar

Pengujian keseragaman kadar zat aktif pada *transdermal patch* dilakukan untuk memastikan efektivitas terapi yang optimal bagi pasien. Persyaratan kadar yang telah ditetapkan untuk zat aktif pada *transdermal patch* adalah 85-110% (Galgatte *et al.*, 2013). Pengujian keseragaman kadar dilakukan dengan menggunakan film dengan ukuran 2x2 cm yang dilarutkan dalam dapar fosfat 50 mL dengan pH 7,4. Pengujian keseragaman kadar dilakukan dengan menggunakan instrument spektrofotometer UV-Vis. Pengukuran kadar dilakukan dengan menggunakan panjang gelombang maksimum rutin, yakni 418 nm. Panjang gelombang tersebut telah ditetapkan sebagai panjang gelombang maksimum untuk pembuatan kurva kalibrasi dan penentuan kadar fraksi etil asetat daun singkong.

Penentuan absorbansi formula terbaik dilakukan dengan menggunakan tiga replikasi pada *patch*. Hal ini bertujuan untuk mendapatkan nilai absorbansi yang lebih tepat dan akurat. Tingkat akurasi yang tinggi menunjukkan bahwa metode yang digunakan sudah efektif yang ditandai dengan nilai CV kurang dari 5%. Keseragaman kadar zat aktif dalam setiap formulasi dipengaruhi oleh homogenitas campuran pada saat proses pembuatan *patch*. Jika pembuatan *patch* kurang homogen dapat mengakibatkan kadar zat aktif pada *patch* menjadi beragam. Oleh karena itu, penting untuk memastikan homogenitas campuran pada *patch* untuk memastikan keseragaman kadar zat aktif. Hasil Rata-rata hasil persen *recovery* sediaan

transdermal patch adalah 100,008%. Hasil persen *recovery* yang didapatkan telah memenuhi persyaratan keseragaman kadar yaitu 85-110%.

4.8.1.2 Stabilitas

Uji stabilitas formula terbaik *transdermal patch* fraksi etil asetat daun singkong dilakukan dengan menggunakan metode *cycling test*. Metode *cycling test* dilakukan dengan cara menyimpan sediaan menggunakan kondisi suhu yang berbeda yaitu 4°C ke 40°C selama 12 hari (6 siklus). Pengujian dengan metode *Cycling test* dilakukan untuk mengevaluasi kemampuan sediaan *patch* dalam mempertahankan kadar dan sifat fisiknya selama periode penyimpanan.

Hasil pengujian stabilitas formula terbaik menunjukkan hasil yang stabil selama 6 siklus. Hasil pengujian stabilitas pada formula terbaik menunjukkan hasil organoleptis yang baik yaitu tidak terdapat perubahan warna, tekstur *patch* tetap halus dan elastis. Pengujian keseragaman kadar menunjukkan hasil yang baik tidak ada perubahan selama uji stabilitas. Hasil uji keseragaman kadar menunjukkan hasil yang masih masuk pada rentang persyaratan yaitu 85-110%. Pengujian persen elongasi, kelembapan dan uji pH setelah 6 siklus menunjukkan hasil yang memenuhi persyaratan yang telah ditentukan dan tidak ada perubahan selama 6 siklus.

Data hasil pengujian stabilitas *patch* pada tiap parameter selanjutnya dilakukan analisa statistik menggunakan SPSS®25. Uji normalitas dengan metode *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa data terdistribusi normal, dengan nilai $p > 0,05$. Selanjutnya, dilakukan *T-Paired Test* untuk mengevaluasi perbedaan sebelum dan sesudah 6 siklus pada setiap parameter. Hasil analisis menunjukkan nilai $p > 0,05$ yang artinya sediaan *transdermal patch* tidak menunjukkan perbedaan signifikan

setelah melalui 6 siklus, maka dapat dikatakan sediaan *transdermal patch* memenuhi kriteria *patch* yang stabil. Hasil Analisa statistik dapat dilihat pada Lampiran 18.

4.9 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri sediaan *transdermal patch* fraksi etil asetat daun singkong dilakukan dengan menggunakan metode kertas cakram. Metode kertas cakram dipilih karena mudah dilakukan, ekonomis, tanpa memerlukan peralatan khusus dan proses pengujian cepat (Amelia *et al.*, 2021). Aktivitas antibakteri ditentukan dengan mengukur zona hambat yang terbentuk disekitar kertas cakram.

Hasil diameter zona hambat menunjukkan adanya perbedaan signifikan dalam ukuran zona hambat yang dihasilkan oleh berbagai perlakuan. Klindamisin dipilih sebagai kontrol positif karena kemampuannya dalam melawan bakteri gram positif seperti bakteri *Staphylococcus aureus*. Zona hambat yang dihasilkan klindamisin dengan rata-rata 28 mm, menandakan aktivitas antibakteri yang sangat kuat (CLSI, 2014). Hal ini sesuai dengan karakteristik klindamisin yang terkenal efektif melawan berbagai bakteri, khususnya gram positif seperti *Staphylococcus aureus*. Klindamisin bekerja dengan menghambat sintesis protein pada ribosom bakteri, sehingga dapat mengganggu proses pembentukan rantai peptide pada bakteri. Hal ini menyebabkan terhentinya pertumbuhan bakteri dan akhirnya kematian sel bakteri (Athailah, 2020).

Berdasarkan hasil pengukuran zona hambat, sediaan *transdermal patch* lebih efektif membunuh bakteri dibandingkan dengan fraksi etil asetat daun singkong yang tidak diformulasi. Hal ini dikarenakan kitosan yang digunakan berpengaruh dalam peningkatan aktivitas antibakteri. Gugus amina pada kitosan ketika

dilarutkan dalam asam akan menjadi bermuatan positif. Kitosan yang memiliki muatan positif ini dapat berinteraksi dengan molekul asam amino yang bermuatan negatif, yang merupakan komponen penyusun dinding sel bakteri. Interaksi ini dapat menyebabkan kebocoran membran intraseluler pada bakteri, sehingga mengakibatkan kematian pada bakteri (Indriani, 2021). Diameter zona hambat yang dihasilkan pada formula uji sebesar 15,86 mm dengan kategori kuat (CLSI, 2014).

Fraksi etil asetat menghasilkan diameter zona hambat sebesar 9,36 mm. Berdasarkan penelitian Utari (2019) pemilihan fraksi etil asetat didasarkan pada kemampuannya menarik senyawa rutin dan hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memiliki daya hambat yang paling besar dibandingkan dengan ekstrak dan fraksi lainnya. Kadar total rutin sebesar 4,4% memiliki konsentrasi kadar yang cukup untuk memberikan efek antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Mekanisme kerja rutin sebagai antibakteri dapat membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler bakteri sehingga merusak permeabilitas dinding sel. Kerusakan dinding sel menyebabkan perubahan permeabilitas membran sel sehingga menghambat kerja enzim intraseluler dan air masuk ke dalam sel secara tidak terkontrol. Hal ini dapat menyebabkan dinding sel akhirnya lisis dan bakteri pun mati (Hendra *et al.*, 2011).

Kontrol negatif yang digunakan pada penelitian ini berupa sediaan tanpa ekstrak atau plasebo. Diameter zona hambat yang dihasilkan oleh kontrol negatif sebesar 3,06 mm dengan kategori lemah (CLSI, 2014). Adanya aktivitas antibakteri pada plasebo disebabkan karena adanya kitosan yang terkandung pada sediaan. Selain itu, mentol yang berperan sebagai *enhancer* juga memiliki aktivitas sebagai

antibakteri. Mekanisme mentol sebagai zat antibakteri ialah dengan merusak membran sel bakteri dan mengganggu sintesis protein bakteri (Nisyak, 2020).

Analisis data aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan SPSS[®]25. Analisis data dilakukan terhadap 4 perlakuan diantaranya, kontrol positif, kontrol negatif, formula uji dan formula pembanding. Analisis data terlebih dahulu dilakukan uji normalitas. Hasil pengujian normalitas menunjukkan bahwa data terdistribusi normal. Analisis selanjutnya dilakukan analisis statistik parametrik dengan ANOVA *one way* diperoleh nilai signifikansi $p < 0,05$ menunjukkan adanya pengaruh yang signifikan pada tiap perlakuan. Pengujian dilanjutkan dengan uji *post hoc Duncan*. Hasil yang diperoleh pada uji *post hoc* menunjukkan bahwa tiap kelompok perlakuan memiliki perbedaan yang signifikan. Berdasarkan hasil uji *post hoc duncan* terdapat perbedaan yang signifikan antar perlakuan. Formula uji memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kontrol negatif, kontrol positif dan formula pembanding. Kontrol positif memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kontrol negatif, formula uji dan formula pembanding. Kontrol negatif memiliki perbedaan yang signifikan pada kontrol positif, formula uji dan formula pembanding Formula pembanding memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kontrol negatif, kontrol positif dan formula uji.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Peningkatan konsentrasi kalsium klorida sebagai *crosslinker* memberikan pengaruh signifikan terhadap organoleptis, ketebalan, keseragaman bobot, kelembapan, elongasi dan *swelling* ($p < 0,05$) tetapi tidak memberikan pengaruh pada pH sediaan *transdermal patch* fraksi etil asetat daun singkong ($p > 0,05$).
2. Penggunaan kalsium klorida 0,5% sebagai *crosslinker* menghasilkan *transdermal patch* yang stabil dan tidak terdapat perbedaan karakteristik sediaan sebelum dan sesudah 6 siklus ($p > 0,05$), keseragaman kadar yang masuk dalam rentang 85-110%, kelembapan $< 10\%$, elongasi $> 10\%$ dan pH sediaan yang memenuhi rentang persyaratan yang telah ditentukan.
3. *Transdermal patch* fraksi etil asetat daun singkong menghasilkan diameter zona hambat sebesar $15,86 \pm 1,026$ mm dengan kategori daya hambat kuat dan memiliki perbedaan signifikan terhadap kontrol positif ($p < 0,05$).

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan pengujian *in vitro* dengan menggunakan membran kulit tikus untuk melihat laju penetrasi yang lebih spesifik.
2. Perlu dilakukan penelitian tambahan terkait *transdermal patch* dengan variasi konsentrasi fraksi etil asetat daun singkong.

Formulasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Transdermal Patch Fraksi Etil Asetat Daun Singkong (Manihot esculenta Crantz.) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus

ORIGINALITY REPORT

5%

SIMILARITY INDEX

4%

INTERNET SOURCES

1%

PUBLICATIONS

3%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	Submitted to Sriwijaya University Student Paper	2%
2	ejournal.unsrat.ac.id Internet Source	1%
3	media.neliti.com Internet Source	1%
4	repository.stikes-kartrasa.ac.id Internet Source	1%
5	repository.setiabudi.ac.id Internet Source	1%
6	repo.poltekkes-medan.ac.id Internet Source	1%

Exclude quotes On

Exclude matches < 1%

Exclude bibliography On

SURAT KETERANGAN PENGECEKAN SIMILARITY

Saya yang bertanda tangan di bawah ini

Nama : Ratika Puteri
Nim : 08061382025089
Prodi : Farmasi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Menyatakan bahwa benar hasil pengecekan similarity Skripsi/Tesis/Disertasi/Lap. Penelitian yang berjudul Formulasi dan Uji Aktivitas Antibakteri *Transdermal Patch* Fraksi Etil Asetat Daun Singkong (*Manihot esculenta* Crantz.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* adalah 5 %.

Dicek oleh operator *: 1. Dosen Pembimbing

2. UPT Perpustakaan

Demikianlah surat keterangan ini saya buat dengan sebenarnya dan dapat saya pertanggung jawabkan.

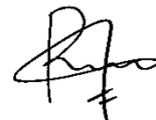
Menyetujui
Dosen pembimbing,



apt. Dina Permata Wijaya, M.Si
199201182019032023

Inderalaya, 20 Maret 2024

Yang menyatakan,



Ratika Puteri
08061382025089

*Lingkari salah satu jawaban tempat anda melakukan pengecekan Similarity