

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Infeksi merupakan keadaan medis yang paling sering ditemui sekarang ini, terutama di negara dengan iklim tropis. Indonesia salah satu negara tropis dengan keadaan lembap dan berdebu yang menyebabkan mikroba dapat hidup atau tumbuh dengan subur. Banyaknya transportasi menyebabkan polusi dan juga sanitasi yang buruk dapat menyebabkan penyakit infeksi berkembang dengan mudah dan pesat. Penyakit infeksi muncul akibat berbagai macam mikroorganisme, termasuk bakteri, virus, jamur, serta protozoa (Pariury, 2021).

Salah satu masalah kulit yang sering terjadi di Indonesia adalah infeksi jerawat atau *acne vulgaris*, terutama di kalangan remaja dan dewasa muda, ditandai oleh komedo, papula, pustula, nodul, dan eritema. Faktor iklim tropis yang panas dan lembap di Indonesia memicu pertumbuhan bakteri yang berperan dalam menyebabkan jerawat. Studi menunjukkan bahwa prevalensi jerawat di kalangan remaja Indonesia sangat tinggi, mencapai sekitar 80-90% pada beberapa tahun terakhir. (Ollyvia et al., 2021).

Menurut *Global Burden of Disease (GBD)*, *acne vulgaris* memengaruhi sekitar 85% golongan remaja dan dewasa muda dengan usia 12 hingga 25 tahun (Hazarika, 2021). Studi di Jerman mengungkapkan bahwa tingkat kejadian *acne vulgaris* mencapai 64% pada usia 20-29 tahun dan sebesar 43% pada kelompok usia 30-39 tahun. Sementara itu, di kawasan Asia Tenggara, angka kejadian jerawat ini berkisar antara 40% hingga 80%. Berdasarkan catatan dari dermatologi kosmetika Indonesia, prevalensi *acne vulgaris* meningkat dari 60% pada tahun 2006 menjadi 80% pada 2007, dan melonjak hingga 90% pada tahun 2009 (Sibero et al., 2019). Jerawat umumnya muncul selama masa pubertas pada remaja dan dipicu oleh beberapa faktor. Salah satu penyebabnya adalah produksi minyak berlebihan oleh kelenjar sebacea yang menyebabkan tersumbatnya pori-pori, faktor hormonal, polusi dan kotoran, stress, kosmetik, dan beberapa jenis bakteri

dapat menjadi penyebab, termasuk salah satu yang dikenal sebagai *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*)(Ramadhani et al., 2022).

Bakteri *Propionibacterium acnes* adalah bakteri gram positif anaerob dan biasanya ditemukan di kulit manusia, terutama pada kulit dengan folikel rambut. Bakteri *P. acnes* akan berkembang biak pada kulit ketika pori-pori kulit tersumbat oleh sebum dan akan menyebabkan terjadinya peradangan yang disebut dengan jerawat (*acne vulgaris*)(Munandar Nasution et al., 2022). Karena bersifat anaerob, bakteri *P. acnes* tidak memerlukan oksigen untuk bertahan hidup, sehingga dapat berkembang biak pada pori-pori kulit yang tersumbat. Tidak hanya pada kulit wajah, bakteri *P. acnes* juga dapat berkembang biak pada bagian kulit lainnya yang memiliki folikel rambut seperti punggung, dada, dan leher. *P. acnes* dapat ditemukan secara alami pada kulit manusia tetapi dapat juga didapati dari benda-benda yang dipakai sehari-hari seperti alat make up. Namun tidak hanya disebabkan oleh bakteri, pada beberapa jenis make up seperti alas bedak terdapat lanolin, setil alkohol, pewarna, pengawet, dan bahan-bahan yang bersifat komedogenik dan akneogenik. Bahan kimia dalam kandungan alas bedak dapat menyebabkan tersumbatnya pori-pori dan juga dapat memunculkan *acne vulgaris* (Fadilah et al., 2024).

Obat-obatan yang lazim digunakan dalam terapi untuk menghilangkan jerawat antara lain *benzoyl peroxide*, retinoid, asam salisilat, isotretinoin, antibiotic seperti minosiklin, tetrasiklin, eritromisin doksisisiklin, dan klindamisin, serta agen hormonal. Namun, sebagian besar dari obat-obatan ini memiliki sejumlah kekurangan, seperti menimbulkan iritasi kulit, membuat kulit menjadi kering, menyebabkan reaksi hipersensitivitas pada sistem imun, merusak organ, dan meningkatkan sensitivitas terhadap cahaya (Wu et al., 2021).

Terapi antibiotik yang umum digunakan untuk jerawat adalah klindamisin. Namun, pada penggunaan antibiotik jangka panjang yang ekstensif, tidak tepat, tidak teratur, dan sembarangan dapat menyebabkan meningkatnya resistensi bakteri yang menimbulkan kekhawatiran tentang

menurunnya efektivitas antibiotik. Selain itu, bakteri lain seperti *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis* juga terlibat dalam patogenesis jerawat, dan berpotensi menyebabkan resistensi lintas-antibiotik. (Legiawati et al., 2023). Sehingga banyak orang lebih memilih obat jerawat yang berbahan alami. Obat jerawat alami biasanya terbuat dari ekstrak tumbuhan atau hewan yang kaya akan vitamin C atau mengandung senyawa bioaktif seperti alkaloid, fenolik, tanin, dan lainnya. *World Health Organization* (WHO) menyatakan bahwa 80% dari dunia berkembang masih mendapat manfaat dari penggunaan obat tradisional yang bersumber dari tumbuhan. WHO juga mencatat lebih dari 20.000 spesies tumbuhan obat dan menjadikan tumbuhan obat sebagai salah satu sumber potensial obat baru. (Vaou et al., 2021).

Eco enzyme merupakan produk natural atau senyawa organik yang dihasilkan akibat fermentasi dari bagian kulit berbagai bahan alami buah atau limbah dapur yang kaya akan flavonoid yang berguna sebagai antimikroba. Selain antimikroba, *eco enzyme* juga dapat berperan sebagai agen anti-jamur dan insektisida. (Vama and Cherekar, 2020). *Eco enzyme* merupakan produk yang dihasilkan dari limbah organik yang juga dapat menghasilkan senyawa-senyawa seperti alkohol, asam asetat, dan juga asam laktat. (Hendri et al., 2023).

Hasil penelitian Aisyah, Rizky dan Riska membuktikan terdapat aktivitas antibakteri pada *eco enzyme* dari kulit nanas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acnes* (Ramadhani et al., 2022). Hetal Ashvin dan In Meei menyatakan terdapat aktivitas antibakteri pada *eco enzyme* dengan kulit buah dengan konsentrasi 50% dan di atasnya terhadap bakteri *Enterococcus faecalis* (Mavani et al., 2020). Pada penelitian Suliestyah dan Reza Aryanto membuktikan *eco enzyme* memiliki daya bunuh 99,95% terhadap bakteri *Escherichia coli* dan 99,90% terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada konsentrasi 20% (Suliestyah et al., 2022). Sebuah studi sebelumnya juga menyatakan bahwa *eco enzyme* yang dihasilkan dari kombinasi kulit pepaya (*Carica papaya L.*), kulit sirsak

(*Annona muricata L.*), daun mimba (*Azadirachta indica*), dan serai (*Cymbopogon winterianus*) dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, hingga 100%, melalui proses fermentasi, terbukti mampu menghambat pertumbuhan bakteri (Permatananda et al., 2023)

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang sebelumnya, maka permasalahan yang akan dibahas dirumuskan sebagai berikut:

1. Apakah terdapat efek antimikroba dari *eco enzyme* terhadap pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* secara *in vitro*?
2. Berapakah konsentrasi *eco enzyme* yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan *Propionibacterium acnes*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui efektivitas *eco enzyme* terhadap pertumbuhan *Propionibacterium acnes* secara *in vitro*.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk mengetahui efektivitas antimikroba *eco enzyme* terhadap pertumbuhan *Propionibacterium acnes* pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% secara *in vitro*.
2. Untuk membandingkan perbedaan efek antimikroba *eco enzyme* terhadap pertumbuhan *Propionibacterium acnes* pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% secara *in vitro*.
3. Untuk mengetahui konsentrasi *eco enzyme* yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes*.

1.4 Manfaat penelitian

1. Diharapkan dapat menambah dan memperluas wawasan pembaca tentang kegunaan *eco enzyme* sebagai antimikroba khususnya pada bakteri *Propionibacterium acnes*.
2. Dapat menjadi sumber bacaan yang memperluas wawasan dan pengetahuan peneliti mengenai manfaat *eco enzyme*
3. Diharapkan hasil penelitian dapat menjadi referensi dan pedoman untuk penelitian-penelitian yang akan datang

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Eco enzyme*

Eco enzyme merupakan cairan atau larutan yang dihasilkan dari limbah organik seperti sayur dan kulit buah. Istilah *Eco enzyme* diperkenalkan pertama kali oleh Dr. Rosukon dari Thailand. *Eco enzyme* dapat diproduksi dengan menggunakan kulit buah yang mudah didapati. Beberapa buah yang umum digunakan sebagai bahan dasarnya diantaranya adalah kulit jeruk, digunakan karena kaya akan kandungan vitamin C, memiliki aroma yang kuat dan nilai keasaman yang tinggi dan terdapat enzim lipase. Nanas juga banyak digunakan karena mengandung bromelain yang diklasifikasikan sebagai enzim protease. Buah lain yang dapat digunakan dalam membuat *Eco enzyme* adalah pepaya, pisang, dan semangka. (Gumilar, 2023).

Pada proses fermentasi *eco enzyme*, mikroorganisme yang berperan adalah jamur dan bakteri seperti *Aspergillus niger*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Acetobacter*, *Lactobacillus* dan *Pseudomonas*. Pada proses fermentasi, terjadi dua jenis fermentasi asam laktat, yaitu homofermentatif dan heterofermentatif. Jenis fermentasi asam laktat homofermentatif terjadi karena peran bakteri homofermentatif yang menghasilkan asam laktat sebagai senyawa utama. Sebaliknya, fermentasi heterofermentatif berlangsung berkat keberadaan bakteri heterofermentatif dan fakultatif yang akan menghasilkan produk asam laktat, asam asetat, dan/atau etanol. Namun tidak hanya menghasilkan asam organik dan etanol, proses fermentasi *eco enzyme* juga dapat mengeluarkan enzim seperti amilase, lipase dan papain (Putu et al., 2023).

2.1.1 *Eco enzyme* sebagai anti mikroba

Eco enzyme yang dihasilkan dari fermentasi kulit buah dapat bersifat antibakteri. Mekanisme penghambatan bakteri ini disebabkan karena terdapat kandungan flavonoid dan tanin yang berfungsi sebagai bioseptik. Flavonoid yang terdapat di dalamnya mampu menekan proses pembentukan asam nukleat, menghambat kerja membran sel, serta merusak jalur metabolisme energi

Sedangkan tanin merupakan senyawa fenolik yang berperan dalam menghambat perkembangan bakteri.

Tanin memiliki gugus hidroksil dan ikatan $-\alpha\beta$ yang berperan dalam sifat antimikrobanya. Mekanisme penghambatan kimiawi ini melibatkan interaksi yang membentuk kompleks protein-fenol, yaitu hubungan kimia yang tidak spesifik. Efektivitas penghambatan ini tergantung pada kadar fenol yang terkandung. Pada konsentrasi tanin yang rendah, terjadi pembentukan kompleks protein-fenol dengan keterikatan yang tidak stabil dan mudah terurai, sehingga dapat mengganggu keutuhan membran sitoplasma dan menyebabkan kebocoran pada sel. Sementara itu, pada konsentrasi yang tinggi, zat ini dapat menggumpalkan protein yang terdapat di dalam sel serta membran sitoplasma, dan akhirnya sel akan mengalami lisis.

Studi yang dilakukan oleh Rahayu dan kolega pada tahun 2021 mengungkapkan bahwa tanin mampu menghambat proses pembentukan asam nukleat, mengganggu integritas membran sel, dan menghalangi produksi energi seluler. Mekanisme antibakteri tanin mencakup penghambatan enzim *reverse transcriptase* dan DNA topoisomerase, sehingga pembentukan sel bakteri terhenti. Tanin juga berperan dalam mengatur adhesi mikroorganisme, mengaktifkan enzim tertentu, serta mengganggu proses pengangkutan protein di dalam sel.

Dalam proses fermentasi untuk membentuk eco-enzyme, gas akan dihasilkan sebagai produk sampingan. Selama fermentasi, karbohidrat di dalam bahan limbah diubah menjadi asam volatil. Lebih lanjut, zat asam organik dari limbah akan terlepas ke media fermentasi sebab pH enzim pada limbah bersifat asam. Pada tahap ini, glukosa diubah menjadi asam piruvat. Dalam suasana tanpa oksigen, enzim piruvat dekarboksilase memecah asam piruvat menjadi asetaldehida. Selanjutnya, asetaldehida diubah menjadi etanol dan karbon dioksida melalui aksi enzim alkohol dehidrogenase. Proses ini menyebabkan kerusakan membran pada bakteri *asetobacter*, yang akhirnya membuat bakteri mati. Alkohol yang dihasilkan kemudian diubah menjadi asetilen dan air, lalu

diubah lagi ke dalam bentuk asam asetat. Setelah fermentasi berlangsung sepenuhnya, eco-enzyme akan terbentuk dan dapat digunakan.

Asam asetat yang dihasilkan dari fermentasi alami kulit buah memiliki peran penting dalam sifat antimikroba. Seiring dengan bertambahnya durasi fermentasi, konsentrasi asam asetat akan meningkat. Peningkatan ini terjadi karena proses hidrolisis senyawa organik kompleks menjadi senyawa sederhana melalui fermentasi anaerob, yang menghasilkan akumulasi asam asetat berat dengan molekul rendah. Asam asetat mampu melewati membran sel bakteri berkat adanya perbedaan gradien pH, yang kemudian mengganggu proses metabolisme dalam sel bakteri. Selain itu, tekanan osmotik yang lebih tinggi di dalam sel bakteri mendorong air masuk, yang pada akhirnya menyebabkan pecahnya sel atau osmolisis (Permatananda et al., 2023).

2.1.2 Kandungan *Eco enzyme*

Larutan *Eco enzyme* dapat dibuat menggunakan beberapa jenis buah-buahan. Kulit buah-buahan yang dapat digunakan adalah pepaya (*Carica papaya*), pisang (*Musa sp.*), semangka (*Citrullus lanatus*), buah naga (*Hylocereus polyrhizus*), dan jeruk (*Citrus sp.*).

Proses fermentasi *Eco enzyme* memerlukan waktu 100 hari. *Eco enzyme* mengandung enzim-enzim yang bermanfaat, seperti protease, amilase, dan lipase. Enzim-enzim ini memiliki sifat antimikroba, karena kemampuannya dalam mengendalikan bakteri gram negatif maupun positif. Selain enzim-enzim yang terkandung, *Eco enzyme* juga mempunyai berbagai jenis asam organik, antara lain asam asetat, asam laktat, asam sitrat, asam oksalat, serta asam malat. Namun saat matang, konsentrasi asam asetat akan meningkat akibat produksi anaerobik (Ginting & Prayitno, 2022). Selain asam organik, Buah yang digunakan dalam membuat *eco enzyme* juga memiliki kandungan. Seperti buah pepaya yang memiliki kandungan alkaloid (Trisna & Nizar, 2018), kandungan saponin pada buah semangka (Widara & Handayani, 2024), kandungan tannin pada buah naga (Jawa La et al., 2020) dan kandungan flavonoid pada buah jeruk. (Sari et al., 2022).

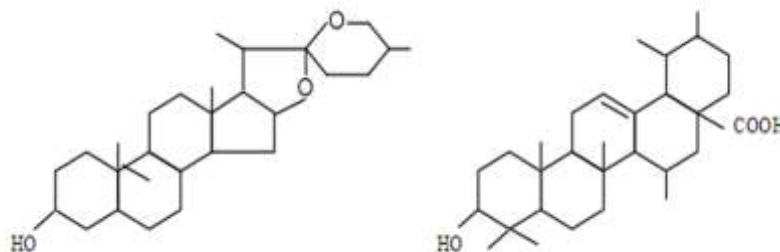
A. Alkaloid



Gambar 2.1. Senyawa umum *alkaloid*.

Alkaloid merupakan komponen kimia yang umum ditemukan dalam macam-macam tumbuhan. Zat tersebut ada di sejumlah bagian tanaman, seperti benih, buah, daun, cabang pohon, serta kulit kayu. Kandungan alkaloid di dalam tumbuhan biasanya berkisar antara 10-15%. Meskipun beberapa alkaloid bersifat beracun, banyak yang memiliki manfaat penting dalam bidang medis atau pengobatan. Sebagian besar alkaloid umumnya memiliki kristal, tidak memiliki warna, dan sering bersifat optis aktif. Peranan alkaloid salah satunya adalah sebagai antimikroba, yang memiliki cara kerja dengan mengganggu struktur penyusun peptidoglikan pada sel bakteri. (Alzanando et al., 2022). (Danila & Rawar, 2022)

B. Saponin

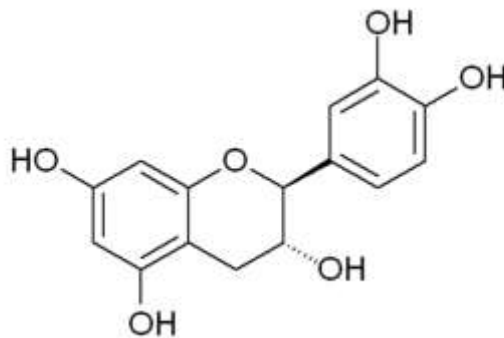


Gambar 2.2. *Saponin steroida* dan *saponin triterpenoida*

Saponin memiliki peran sebagai agen antimikroba dan antifungal yang bekerja dengan membentuk senyawa kompleks bersama membran sel melalui ikatan hidrogen. Interaksi ini mengganggu tingkat permeabilitas dinding sel,

yang akhirnya menyebabkan kerusakan dan kematian pada sel tersebut. (Ferdinan et al., 2021)

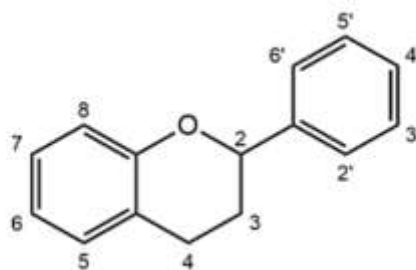
C. *Tanin*



Gambar 2.3. *Tannin*

Tanin tergolong kedalam senyawa fenolik yang tersebar di berbagai bagian tumbuhan, termasuk daun, buah, batang dan kulit. Tanin adalah komponen organik yang kompleks dengan massa molekul melebihi 400. Termasuk pada kelompok fenol, zat ini sulit dipisahkan serta jarang membentuk kristal, dan memiliki kemampuan mengendapkan protein dari larutan. Sebagai senyawa polifenol, tanin memiliki beragam manfaat dalam bidang kesehatan, di antaranya berfungsi sebagai astringen, anti diare, antibakteri, dan antioksidan (Aryantini, 2021).

D. *Flavonoid*



Gambar 2.4. Struktur umum *Flavonoid*

Flavonoid adalah senyawa yang dapat ditemukan di hampir semua bagian tumbuhan, termasuk akar, daun, bunga, buah, dan biji. Senyawa fenolik yang

banyak dijumpai pada tanaman, khususnya pada spesies yang mengandung molekul aromatik dengan struktur cincin benzena dan kelompok hidroksil. Flavonoid berperan sebagai pelindung terhadap kerusakan oksidatif dan memiliki aktivitas melawan bakteri melalui pengacauan struktur serta perubahan sifat permeabilitas dinding sel mikroba (Hakim & Saputri, 2020).

2.2 *Propionibacterium acnes*

2.2.1 Taksonomi *P. acnes*

Taksonomi bakteri *P. acnes* terdiri dari berikut: (Karnirius Harefa et al., 2022)

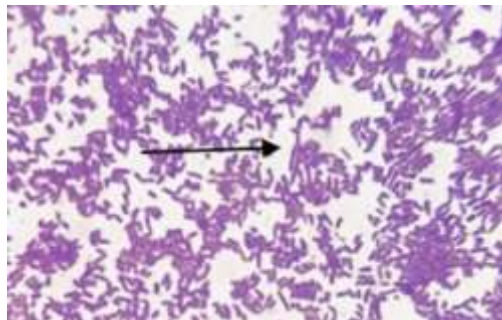
Kingdom	: <i>Bacteria</i>
Filum	: <i>Acinobacteria</i>
Ordo	: <i>Actinomycetales</i>
Kelas	: <i>Actinobacteridae</i>
Genus	: <i>Propionibacterium</i>
Famili	: <i>Propionibacteriaceae</i>
Spesies	: <i>Propionibacterium acnes</i>

2.2.2 Morfologi *P. acnes*

P. acnes secara morfologi dan strukturnya termasuk dalam kelompok bakteri yang tergolong dalam famili *Corynebacteria*, namun tidak menghasilkan toksin. *P. acnes* adalah salah satu mikroorganisme yang secara alami menghuni kulit (Zahrah et al., 2019). Bakteri ini termasuk kelompok Gram positif yang dapat dikenali melalui pewarnaan Gram dengan warna ungu. Warna ungu disebabkan oleh kemampuan lapisan peptidoglikan pada dinding sel yang tebal untuk mempertahankan pewarna kristal violet selama proses pewarnaan. Pada bakteri Gram positif, struktur dinding sel terdiri dari lapisan peptidoglikan yang tebal dan membran internal, serta mengandung ester fosfat sebagai salah satu komponennya. Lapisan peptidoglikan yang tebal ini sangat efektif dalam mengikat pewarna kristal violet. Bentuk *P. acnes* sendiri adalah batang yang tidak saling melekat, dengan warna ungu yang diperkuat oleh

keberadaan asam ribonukleat dalam sitoplasma sel Gram positif (Chandra, 2023).

Berbagai strain *P. acnes* dapat ditemukan di permukaan kulit dan dalam kelenjar pilosebacea. Sebagian besar individu memiliki dua atau lebih sub tipe. *P. acnes* hidup secara bersamaan di kulit, dengan distribusi yang bervariasi pada setiap orang. Beberapa sub tipe lebih sering menyebabkan kondisi patologis daripada keadaan normal. Ada juga sub tipe yang memiliki kemampuan lebih besar untuk bertahan di jaringan dalam dan memicu infeksi, sementara yang lain lebih sering dihubungkan dengan hemolisis atau resistensi terhadap antibiotik (Bumgarner et al., 2020). Perkembangan yang berleihan dari *P. acnes* didalam folikel rambut akan mengakibatkan terjadinya peradangan dan perkembangan *acne vulgaris*. Selain *acne vulgaris*, *P. acnes* juga dapat menjadi faktor patogen pada beberapa kondisi, seperti sarkoidosis, endoftalmitis, hingga infeksi pasca operasi (Beig et al., 2024).



Gambar 2.5. Morfologi bakteri *Propionibacterium acnes*

2.2.3 Patogenesis dan Gambaran Klinis *Propionibacterium acnes*

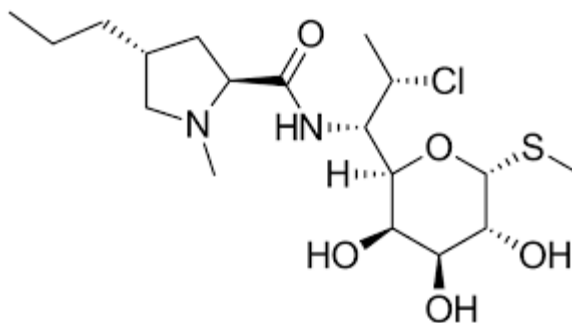
Bakteri ini berperan besar dalam memulai peradangan. *P. acnes* berkontribusi terhadap peradangan dengan mengaktifkan sel-sel inflamasi, keratinosit, monosit, dan sebosit; serta merangsang mereka untuk mengeluarkan sitokin pro-inflamasi seperti interleukin (IL)-1 β , IL-6, IL-8, dan faktor nekrosis tumor (TNF)- α . *P. acnes* juga mengaktifkan monosit untuk mengeluarkan sitokin pro-inflamasi (Lim et al., 2021).

Terdapat beberapa tahap dalam perkembangan infeksi jerawat yang disebabkan oleh bakteri *P. acnes*. Tahapan utama meliputi pelepasan mediator

inflamasi ke dalam unit pilosebacea, gangguan proses keratinisasi yang menyebabkan pembentukan komedo, peningkatan produksi sebum, serta kolonisasi folikel oleh *P. acnes*. Kombinasi dari proses-proses ini memicu perubahan pori-pori normal menjadi mikrokomedo, lalu berkembang menjadi komedo, dan akhirnya lesi inflamasi. Respons inflamasi tersebut dapat diperburuk oleh keberadaan antigen bakteri (Žmuda et al., 2024).

P. acnes akan membentuk biofilm di folikel sebacea yang dapat meningkatkan aktivitas produksi enzim lipase untuk menghancurkan molekul trigliserida dalam sebum sehingga terbentuk asam lemak bebas, seperti palmitat dan oleat. Asam oleat akan meningkatkan pertumbuhan bakteri, sedangkan palmitat dan molekul sinyal yang terdapat pada *P. acnes* akan merangsang sistem imun bawaan dan mengaktifkan inflammasom pada neutrofil dan produksi IL-1 β yang akan memicu peradangan folikuler dan aktivasi sel Th17 dan IL-17 dan menyebabkan hiperproliferasi keratinosit dan pembentukan komedo. Selain itu, biofilm yang terbentuk juga berperan dalam meningkatkan resistansi antibiotik dengan melindungi bakteri dari obat-obatan dan memproduksi protein yang memperkuat resistansi (Hazarika, 2021).

2.3 Klindamisin



Gambar 2.6. Struktur klindamisin

Klindamisin adalah antibiotik golongan lincosamida yang awalnya berasal dari *lincomycin* yang merupakan antibiotik spektrum luas, sangat efektif terhadap bakteri Gram-positif yang aerob dan berbagai bakteri anaerob, termasuk yang menghasilkan enzim beta-laktamase. Penelitian menunjukkan

klindamisin dapat mencapai konsentrasi tinggi di area infeksi, membantu melemahkan bakteri, dan meningkatkan kemampuan limfosit tubuh untuk melawan infeksi (Luchian et al., 2021). Klindamisin menunjukkan berbagai sifat antiinflamasi dan mengurangi proliferasi *P. acnes* (Pelet del Toro et al., 2024). Diantara antibiotik golongan lincosamida, klindamisin menjadi salah satu yang penting dalam terapi acne vulgaris karena kemampuannya yang kuat dalam melawan bakteri *P. acnes* (Beig et al., 2024).

2.3.1 Mekanisme kerja Klindamisin

Klindamisin bekerja melalui mekanisme penghambatan sintesis protein bakteri pada subunit 50S ribosom, sehingga menghentikan pertumbuhan bakteri (Anpalagan et al., 2024). Antibiotik ini juga dapat menghambat produksi protein M pada streptokokus beta-hemolitik grup A, yang mencegah pembentukan kapsul pelindung pada bakteri Gram-positif. Selain itu, klindamisin mampu menghambat protein, enzim, sitokin, dan toksin bakteri. Klindamisin juga memiliki efek antiinflamasi dengan menekan pelepasan sitokin proinflamasi seperti TNF- α dan IL-1, yang dapat merusak jaringan periodontal jika berlebihan. Antibiotik ini membantu meningkatkan kemampuan neutrofil polimorfonuklear (PMN), yaitu sel penting dalam melawan infeksi bakteri, untuk membunuh bakteri.

Penelitian menunjukkan bahwa dosis rendah klindamisin dapat meningkatkan kemampuan tubuh melawan bakteri melalui opsonisasi dan fagositosis dengan mengubah dinding sel bakteri, sehingga bakteri menjadi kurang menempel pada sel inang. Pada klindamisin yang diberikan secara oral akan diserap di usus kecil, kemudian didistribusikan ke jaringan tubuh, kecuali otak karena tidak menembus meninges. Klindamisin dimetabolisme di hati oleh enzim Cytochrome P450 3A4 dan CYP 3A5 menjadi *klindamisin sulfoxide* (metabolit utama) dan N-desmetil klindamisin (Luchian et al., 2021)

2.4 Pengukuran Efektivitas Antibiotik

Pengujian efektivitas ini bertujuan untuk mengevaluasi kemampuan antibakteri yang mampu menghambat perkembangan bakteri. Berikut adalah prosedur pengujian efektivitas antibiotik dari *Eco enzyme* terhadap pertumbuhan bakteri *P. acnes* :

2.4.1 Metode Difusi

- A. Metode *difusi cakram* (tes Kirby & Bauer) digunakan untuk menilai aktivitas antimikroba dengan cara menempatkan cakram yang mengandung agen antimikroba pada permukaan media agar yang telah diinokulasi dengan mikroorganisme. Bahan antimikroba akan tersebar di media, dan munculnya zona bening menjadi indikasi bahwa bahan itu berhasil menghambat perkembangan mikroorganisme. Meskipun metode ini umum digunakan, berbagai elemen fisik dan kimia serta interaksi antara obat dan mikroorganisme, misalnya karakteristik media, difusi molekul, dimensi molekul, dan ketahanan obat, dapat memengaruhi hasilnya. Dengan mengendalikan atau menstandarkan variabel tersebut, pengujian kepekaan dapat dilakukan secara lebih tepat. Terdapat tiga variasi dalam teknik difusi agar, yaitu metode silinder, perforasi, dan cakram kertas (Safitri & Yenita, 2020).
- B. E-tes Metode. Metode E-tes adalah teknik yang digunakan untuk menentukan konsentrasi hambat minimum (KHM) atau *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dari suatu agen antimikroba. MIC merupakan konsentrasi terendah dari agen yang masih mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Prosedur ini menggunakan strip dari bahan plastik yang telah diolesi dengan variasi konsentrasi zat antimikroba, dari level terendah sampai tertinggi. Strip kemudian diposisikan pada media agar yang telah diinokulasi dengan mikroorganisme, dan hasilnya diperiksa berdasarkan pembentukan area bening di sekitar strip, sebagai indikator efektivitas konsentrasi agen antimikroba dalam menghambat perkembangan mikroorganisme pada media tersebut (Safitri & Yenita, 2020).

- C. *Gradient-plate technique* adalah prosedur untuk mengatur konsentrasi variatif agen antimikroba pada media, mulai dari nol hingga konsentrasi puncak secara teori. Media agar yang telah dicairkan dicampur dengan larutan pengujian, lalu dituangkan ke cawan petri dalam posisi miring. Lapisan nutrisi kedua kemudian diaplikasikan di atasnya. Selanjutnya, cawan petri tersebut diinkubasi selama satu hari agar zat antimikroba bisa berdifusi dan media mengering. Mikroba uji, dengan jumlah maksimal enam varietas, kemudian digosok dengan pola dari konsentrasi tertinggi menuju yang terendah (Safitri & Yenita, 2020).
- D. *Ditch-plate technique* adalah pengujian sampel menggunakan pendekatan dimana beberapa mikroba dimasukkan ke dalam lekukan yang dibuat dengan memotong media agar secara memanjang pada bagian tengah wadah petri. Mikroba uji, maksimal enam jenis, kemudian digoreskan pada permukaan cawan petri yang sudah mengandung agen mikroba tersebut (Safitri & Yenita, 2020).
- E. *Cup-plate technique* adalah cara yang mirip dengan *disk-difusi*, tetapi melibatkan pembuatan sumur di media agar yang sudah diinokulasi oleh mikroba. Agen antimikroba yang diuji selanjutnya dimasukkan ke ruang sumur itu guna mengukur aktivitasnya (Safitri & Yenita, 2020).

2.4.2 Metode Dilusi

Metode dilusi terbagi menjadi dua, yaitu dilusi cair dan dilusi padat. Dilusi cair digunakan untuk menentukan KHM (kadar hambat minimum), sedangkan dilusi padat digunakan untuk mengukur KBM (kadar bakterisidal minimum). Salah satu keunggulan metode ini terletak pada kemampuan menggunakan satu tingkat konsentrasi zat antimikroba guna menguji berbagai macam mikroorganisme (Fitriana et al., 2020).

- A. Metode dilusi cair (*broth dilution*) merupakan metode yang digunakan untuk mengukur MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) atau Kadar Hambat Minimum dan MBC (*Minimum Bactericidal Concentration*) atau Kadar Bunuh Minimum (KBM). Metode ini melibatkan pembuatan

serangkaian pengenceran agen antimikroba di dalam medium cair yang telah diberi inokulum mikroba uji. Konsentrasi paling rendah dari larutan uji yang menunjukkan kejernihan tanpa adanya pertumbuhan mikroba ditentukan sebagai KHM. Larutan itu selanjutnya dikulturkan kembali dalam media cair tanpa penambahan mikroorganisme ataupun zat antimikroba, kemudian diinkubasi selama 18 sampai 24 jam. Media yang tetap jernih setelah proses ini diklasifikasikan sebagai KBM (Safitri & Yenita, 2020).

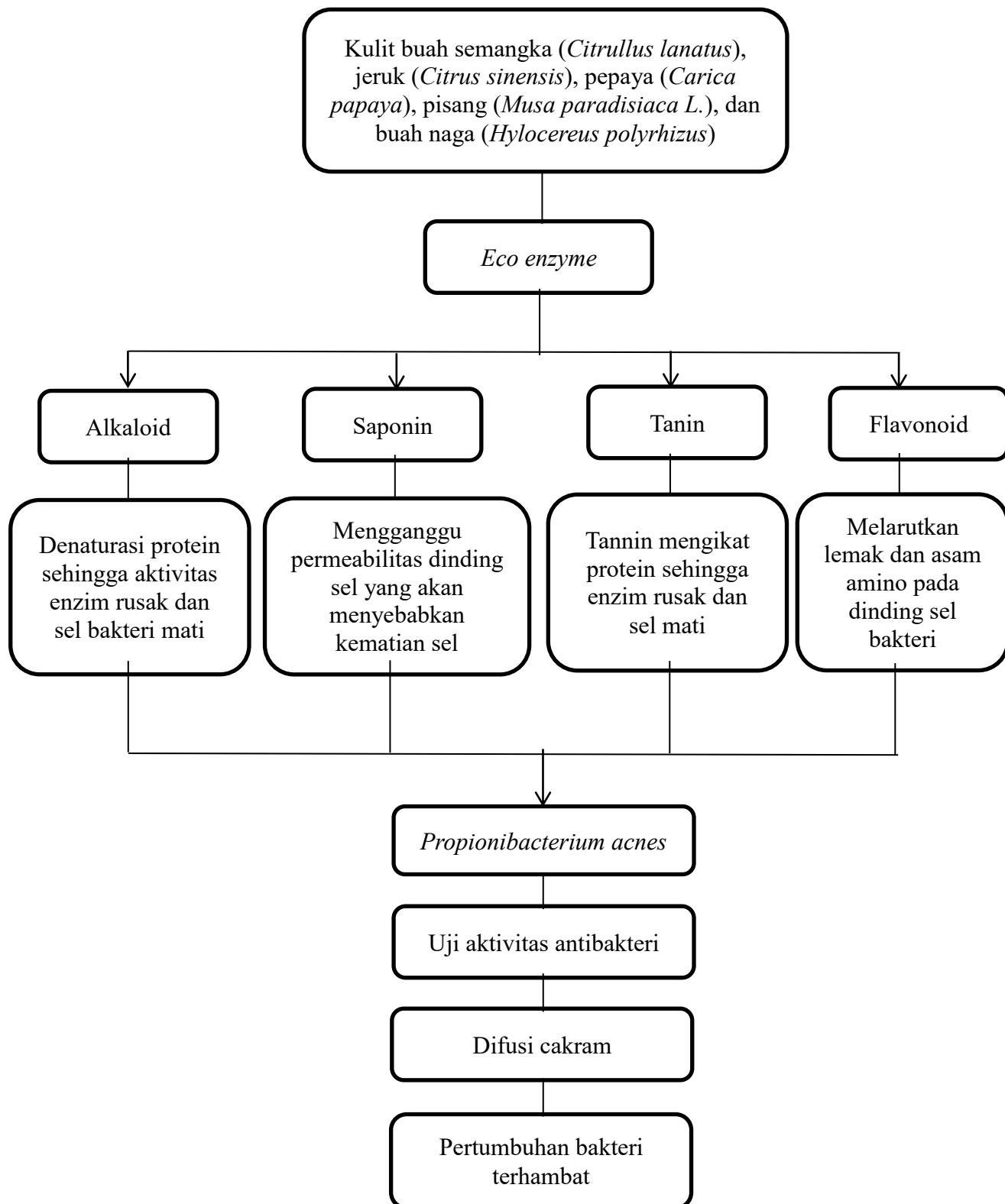
- B. Metode dilusi padat (*solid dilution*) adalah prosedur yang mirip dengan pengenceran larutan, tetapi memakai media berupa zat padat. Kelebihan dari teknik ini ialah penggunaan satu jenis agen antimikroba dapat diaplikasikan untuk menguji berbagai jenis mikroorganisme (Safitri & Yenita, 2020).

2.5 Hipotesis penelitian

Hipotesis penelitian merupakan dugaan dalam sebuah penelitian yang sifatnya sementara dan akan dilakukan uji dengan tujuan untuk membuktikan kebenaran hipotesis. Untuk penelitian ini adalah “Mengetahui efek antimikroba pada *eco enzyme* terhadap pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* secara *in vitro*”, adapun hipotesis asosiatif pada penelitian yaitu:

1. HO (Hipotesa Null) : Tidak terdapat efek antimikroba pada *eco enzyme* terhadap pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* secara *in vitro*
2. HA (Hipotesa Alternatif) : Ada efek antimikroba pada *eco enzyme* terhadap pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* secara *in vitro*

2.6 Kerangka konsep



2.7 Kerangka konsep penelitian

