

Antibacterial Activity Test of Gel Spray Preparation of Ethanol Extraxt of Sintrong (*Crassocephalum crepidioides*) Leaves Against *Staphylococcus aureus* in Diabetic Wound Infections

Uji Aktivitas Antibakteri Sediaan Gel Semprot Ekstrak Etanol Daun Sintrong (*Crassocephalum crepidioides*) Terhadap *Staphylococcus aureus* Pada Luka Infeksi Diabetes Mellitus

Sry Anita Sipayung^a, Astriani Natalia^{b,*}, Rena Meutia^b, Nerly Juli Pranita Simanjuntak^b

^a Program Studi Sarjana Farmasi Klinis, Fakultas Kedokteran, Kedokteran Gigi dan Ilmu Kesehatan, Medan, Sumatera Utara, Indonesia.

^b Fakultas Kedokteran, Kedokteran Gigi dan Ilmu Kesehatan, Universitas Prima Indonesia, Medan, Sumatera Utara, Indonesia.

^c Phyto Degeneratif and Lifestyle Medicine, Medan, Sumatera Utara, Indonesia.

*Corresponding Authors: astrianinataliabrginting@unprimdn.ac.id

Abstract

Background: Diabetes mellitus (DM) is a metabolic disorder that impairs wound healing. Wounds in diabetic patients tend to heal slowly due to high blood glucose levels that disrupt immune function and blood circulation. Long-term antibiotic use may lead to resistance, necessitating natural antibacterial alternatives such as sintrong leaves (*Crassocephalum crepidioides*), which contain flavonoids, polyphenols, saponins, and tannins with antibacterial activity. The ethanol extract of sintrong leaves was formulated into a spray gel for its advantages in wound application, including ease of use, sterility, and good penetration ability. **Objective:** This study aimed to formulate sintrong leaf ethanol extract into a spray gel at various concentrations (5%, 10%, 15%, 20%), evaluate its physical stability, and test its antibacterial activity against *S. aureus*. **Methods:** Sintrong leaf extract was obtained through 96% ethanol maceration and formulated into a spray gel using Carbopol 940 as the base. Stability evaluation included organoleptic, viscosity, pH, drying time, and spray pattern tests. Antibacterial activity was assessed using the disc diffusion method. **Results:** The spray gel exhibited good physical stability over 21 days of storage. Antibacterial testing showed inhibition zones with diameters of 8.05 mm (5%), 8.02 mm (10%), 8.44 mm (15%), and 9.57 mm (20%), indicating moderate effectiveness. The 20% concentration showed the highest inhibition, though lower than the positive control (1% clindamycin). **Conclusion:** Sintrong leaf ethanol extract can be formulated into a stable spray gel with antibacterial activity against *S. aureus*, demonstrating the highest efficacy at 20% concentration. This study presents a potential natural alternative for diabetic wound infection treatment.

Keywords: Sintrong Leaf, *Staphylococcus aureus*, Spray Gel, Antibacterial.

Abstrak

Latar Belakang: Diabetes mellitus (DM) merupakan kelainan metabolik yang menyebabkan gangguan penyembuhan luka. Luka pada penderita diabetes cenderung sulit sembuh akibat kadar glukosa darah tinggi yang mengganggu sistem imun dan sirkulasi darah. Penggunaan antibiotik jangka panjang dapat menimbulkan resistensi, sehingga diperlukan alternatif antibakteri alami seperti daun sintrong (*Crassocephalum crepidioides*), yang mengandung flavonoid, polifenol, saponin, dan tanin dengan aktivitas antibakteri. Formulasi ekstrak daun sintrong dalam sediaan gel semprot dipilih karena memberikan keunggulan dalam aplikasi pada luka, termasuk kemudahan penggunaan, sterilitas, dan kemampuan penetrasi yang baik. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan memformulasi ekstrak etanol daun sintrong menjadi sediaan gel semprot dengan variasi konsentrasi (5%, 10%, 15%, 20%), mengevaluasi stabilitas fisik, serta

menguji aktivitas antibakterinya terhadap *S. aureus*. **Metode:** Ekstrak daun sintrong diperoleh melalui maserasi etanol 96%, kemudian diformulasikan menjadi gel semprot dengan basis Carbopol 940. Evaluasi stabilitas meliputi uji organoleptik, viskositas, pH, waktu kering, dan pola semprot. Aktivitas antibakteri diuji menggunakan metode difusi cakram. **Hasil Penelitian:** Gel semprot menunjukkan stabilitas fisik yang baik selama 21 hari penyimpanan. Uji antibakteri menghasilkan zona hambat dengan diameter 8,05 mm (5%), 8,02 mm (10%), 8,44 mm (15%), dan 9,57 mm (20%), tergolong efektivitas sedang. Konsentrasi 20% memberikan efek penghambatan tertinggi, meskipun masih di bawah kontrol positif (klindamisin 1%). **Kesimpulan:** Ekstrak etanol daun sintrong dapat diformulasikan sebagai gel semprot yang stabil dan memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus*, dengan efektivitas tertinggi pada konsentrasi 20%. Penelitian ini memberikan alternatif potensial untuk pengobatan infeksi luka diabetik berbahan alam.

Kata Kunci: Daun Sintrong, *Staphylococcus aureus*, Gel Semprot, Antibakteri.



Copyright © 2020 The author(s). You are free to : **Share** (copy and redistribute the material in any medium or format) and **Adapt** (remix, transform, and build upon the material) under the following terms: **Attribution** — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; **NonCommercial** — You may not use the material for commercial purposes; **ShareAlike** — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original. Content from this work may be used under the terms of the [Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International \(CC BY-NC-SA 4.0\) License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Article History:

Received: 27/01/2025,
Revised: 21/06/2025,
Accepted: 22/06/2025,
Available Online: 22/06/2025.

QR access this Article



<https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v8i2.887>

Pendahuluan

Diabetes mellitus (DM) merupakan kelainan metabolik kronis yang ditandai dengan peningkatan kadar glukosa darah akibat gangguan sekresi insulin, resistensi insulin, atau keduanya [1]. Kondisi ini berdampak pada berbagai organ, termasuk hati, otot rangka, dan jaringan adiposa, serta meningkatkan risiko komplikasi serius seperti penyakit kardiovaskular, neuropati, retinopati, dan ulkus diabetik [2]. Menurut International Diabetes Federation (IDF), pada tahun 2021 terdapat sekitar 537 juta penderita diabetes di dunia, dengan proyeksi peningkatan menjadi 783 juta pada tahun 2045 [3–5]. Di Indonesia, komplikasi ulkus diabetik terjadi pada 25% penderita DM, dengan risiko infeksi bakteri yang tinggi, terutama oleh *Staphylococcus aureus* [6,7].

Pengobatan infeksi pada luka diabetes umumnya menggunakan antibiotik, namun penggunaan jangka panjang dapat menimbulkan efek samping seperti resistensi bakteri, reaksi alergi, dan toksisitas [8]. Oleh karena itu, eksplorasi bahan alam sebagai alternatif antibakteri yang aman dan efektif menjadi penting. Indonesia, sebagai negara dengan keanekaragaman hayati tinggi, memiliki banyak tanaman obat yang berpotensi, salah satunya adalah daun sintrong (*Crassocephalum crepidioides*) [9]. Sintrong, yang termasuk famili *Asteraceae*, mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid, polifenol, saponin, dan tanin yang memiliki aktivitas antibakteri [10]. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sintrong efektif menghambat pertumbuhan *S. aureus* dengan zona hambat 9,5 mm pada konsentrasi 2,5 mg/mL dan 11,5 mm pada 10 mg/mL [10].

Potensi ini dapat dioptimalkan melalui formulasi sediaan topikal seperti gel semprot, yang memudahkan aplikasi, menjaga sterilitas, dan meningkatkan stabilitas senyawa aktif [11].

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk memformulasi ekstrak etanol daun sintrong menjadi sediaan gel semprot dengan variasi konsentrasi (5%, 10%, 15%, dan 20%), mengevaluasi karakteristik fisik sediaan (organoleptik, viskositas, pH, waktu kering, dan pola semprot), serta menguji aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* sebagai model bakteri penyebab infeksi luka diabetes. Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan alternatif terapi topikal berbahan alam yang efektif dan aman untuk manajemen luka diabetik.

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan studi eksperimental laboratorium yang dilaksanakan pada periode Juli hingga September 2024 di Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran, Kedokteran Gigi, dan Ilmu Kesehatan Universitas Prima Indonesia. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman Sintrong (*Crassocephalum crepidioides*), yang diolah menjadi sediaan gel semprot dengan variasi konsentrasi 5%, 10%, 15%, dan 20%.

Pengambilan sampel dilakukan di wilayah Kabupaten Purba dan Kabupaten Simalungun. Bagian tanaman yang digunakan adalah daun, dengan kriteria seleksi berupa warna hijau segar, kondisi fisik yang utuh, serta bebas dari gejala penyakit atau kerusakan. Daun-daun yang memenuhi kriteria tersebut kemudian diproses lebih lanjut untuk keperluan formulasi dan uji laboratorium.

Alat dan Bahan

Beberapa instrumen laboratorium yang diperlukan selama proses percobaan ini meliputi, oven, spatula, maserator, corong, ayakan mesh 60, beaker glass, *rotary evaporator*, cawan petri, blender, gelas ukur, inkubator, timbangan digital, pipet tetes, pengaduk, cawan porselin, pipet volume (pyrex), autoclave, tabung reaksi, pembakar bunsen, *waterbath*, spektrofotometer uv-Vis, viskometer brookfield, pH meter hanna, botol spray 100ml, dan jangka sorong.

Penelitian ini menggunakan berbagai bahan, antara lain Karbopol 940, trietanolamin, klindamisin gel 1%, etanol 96%, aquadest, propilen glikol, metil paraben, propil paraben, *cotton swab*, kertas saring, serta media Nutrient Agar (NA).

Determinasi Tanaman

Penelitian diawali dengan proses diidentifikasi dan determinasi tanaman daun sintrong (*Crassocephalum crepidioides*) yang menjadi objek studi. Identifikasi dilaksanakan di Herbarium Medanense, Fakultas MIPA, Universitas Sumatra Utara.

Ekstraksi Daun sintrong

Daun sintrong (*Crassocephalum crepidioides*) yang segar dipotong jadi dua bagian dan dicuci dibawah air mengalir untuk menghilangkan segala kontaminan. Setelah itu, daun ditiriskan dan diangin-anginkan sebelum masuk ke proses pengeringan di oven pada suhu 50-60°C selama 24 jam. Simplisia kering terlebih dahulu dihancurkan menggunakan blender, kemudian dalam wadah untuk proses maserasi. Selanjutnya, simplisia direndam menggunakan etanol 96% dengan rasio perbandingan 1:10 dan diaduk secara berkala selama 5 hari. Proses ini diakhiri dengan penyaringan untuk memisahkan filtrat dari residunya. Filtrat kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dan dipanaskan menggunakan *waterbath* hingga menghasilkan ekstrak yang kental.

Skrinning Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak daun sintrong. **Uji flavonoid** dilaksanakan dengan menimbang 1 gram sampel yang dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah diberi asam sulfat (H_2SO_4), kemudian diaduk hingga homogen. Hasil positif ditandai dengan perubahan warna menjadi merah bata hingga coklat kehitaman, mengindikasikan adanya senyawa flavonoid [9]. **Uji alkaloid** dilakukan dengan melarutkan 1 gram sampel dalam campuran 1 mL HCl 2N dan 2 mL air suling, kemudian dipanaskan selama 2 menit. Setelah didinginkan dan disaring, filtrat ditetesi reagen Mayer. Terbentuknya endapan putih atau putih kekuningan menunjukkan keberadaan alkaloid [10]. **Uji saponin** dilaksanakan dengan melarutkan 1 gram sampel dalam 2 mL aqua destilata dalam tabung reaksi, kemudian dikocok. Jika terbentuk busa setinggi 1-2 cm yang stabil selama 30 menit, hal ini mengkonfirmasi kandungan saponin [9]. **Uji tanin** dilakukan dengan menimbang 1 gram sampel yang dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan reagen $FeCl_3$ dan dikocok. Perubahan warna menjadi biru tua atau hijau kehitaman menandakan adanya senyawa tanin [9]. Hasil uji fitokimia ini memberikan informasi penting mengenai kandungan senyawa bioaktif dalam ekstrak daun sintrong yang berpotensi sebagai agen antibakteri.

Pembuatan Sediaan Gel Semprot

Pembuatan formulasi gel semprot dapat dimulai dengan menyiapkan basis gel terlebih dahulu. Langkah pertama, karbopol dihancurkan dalam sebuah lumpang, kemudian dicampurkan dengan akuades yang telah dipanaskan. Aduk hingga karbopol larut secara merata. Selanjutnya, tambahkan triethanolamin (TEA) ke dalam larutan karbopol guna membantu proses pengembangan gel. Pada wadah yang berbeda, larutkan metil paraben dalam akuades panas hingga benar-benar larut, lalu masukkan larutan tersebut ke dalam karbopol yang telah dikembangkan. Selanjutnya, ekstrak daun sintrong (*Crassocephalum crepidioides*) pada konsentrasi 5%, 10%, 15%, dan 20% dilarutkan dalam propilen glikol, dengan penambahan propil paraben. Larutan tersebut selanjutnya dicampurkan ke dalam komposisi sebelumnya di suhu 30°C. Masukkan air suling sampai volume total larutan mencapai 100 mili liter. Kocok sediaan sampai terbentuk massa gel yang homogen dengan kekentalan sedang. Selanjutnya, pindahkan larutan ke dalam wadah semprot 100 mL dan tutup rapat.

Evaluasi Stabilitas Fisik Sediaan Gel Semprot Ekstrak Daun Sintrong Selama Penyimpanan

Evaluasi stabilitas sediaan gel semprot dilakukan dengan menyimpan produk pada suhu ruangan selama 21 hari, dengan pengujian pada hari ke-0, 7, 14, dan 21. Parameter yang dinilai meliputi sifat organoleptik, homogenitas, viskositas, pH, pola semprotan, dan waktu pengeringan. **Uji organoleptik** dilakukan secara visual untuk menilai warna, aroma, dan bentuk fisik sediaan. Gel semprot yang memenuhi syarat harus tampak jernih, tidak keruh, serta bebas dari partikel, gumpalan, maupun gelembung udara [12]. **Uji homogenitas** dilaksanakan dengan menyemprotkan sediaan pada kaca objek dan mengamati ada tidaknya partikel padat yang tidak terlarut, dimana sediaan dinyatakan homogen jika tidak terlihat partikel asing [12]. **Uji pola penyemprotan** dilakukan dengan menyemprotkan gel pada plastik mika untuk mengevaluasi keseragaman distribusi partikel, dimana pola semprotan yang baik harus menunjukkan distribusi merata dengan partikel halus [12]. **Uji waktu kering** diukur dengan menyemprotkan sediaan pada kulit lengan bagian bawah dan mencatat waktu yang diperlukan hingga sediaan mengering sempurna [13]. **Uji pH** dilaksanakan menggunakan pH meter yang telah dikalibrasi dengan larutan standar pH 4 dan pH 7, dimana nilai pH ideal untuk sediaan topikal berada pada rentang 5-7 [12]. **Uji viskositas** dilakukan dengan viskometer menggunakan spindle nomor 3 pada kecepatan 30 rpm, dengan rentang ideal 25-500 cps untuk memastikan sediaan dapat disemprotkan dengan mudah dan nyaman digunakan [14]. Evaluasi menyeluruh ini bertujuan untuk memastikan stabilitas fisik sediaan gel semprot selama periode penyimpanan.

Uji Aktivitas Antibakteri

Evaluasi antibakteri dari formulasi gel semprot yang menggunakan ekstrak etanol daun sintrong (*Crassocephalum crepidioides*) melalui teknik difusi cakram. Zona transparan (bening) di sekitar cakram kertas akan ditentukan ukurannya dengan bantuan alat jangka sorong. Prosedur diawali dengan sterilisasi instrumen dan bahan yang diperlukan. Sterilisasi dilakukan dengan autoklaf disuhu 121 °C selama 15 menit dengan tekanan sebesar 1 atm untuk membasmi semua bentuk kuman [15]. Media pertumbuhan disiapkan sebagai Nutrient Agar (NA) dengan rasio 1:50. Empat gram natrium klorida dilarutkan didalam 200 mililiter air murni steril menggunakan Erlenmeyer dan dipanaskan hingga mendidih. Selanjutnya, media dibungkus dengan aluminium foil dan disterilkan menggunakan autoklaf di suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan antara 1 hingga 2 atm. Media yang telah disterilkan lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi yang sudah steril dalam keadaan hangat (40-45°C). Tabung reaksi dimiringkan pada sudut 30-45°C, dan mulut tabung ditutup dengan kapas yang dibalut kasa steril. Setelah itu, untuk persiapan bakteri uji *Staphylococcus aureus*, satu ose bakteri diambil dan diinokulasikan kepermukaan media NA miring menggunakan teknik goresan. Media selanjutnya ditempatkan dalam inkubator pada suhu 37° celcius dalam waktu 24 jam. Setelah diinkubasi, koloni bakteri yang diperoleh dari peremajaan selama 24 jam dikumpulkan menggunakan jarum suntik steril, lalu dipindahkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 mililiter larutan NaCl 0,9% [16].

Tahap selanjutnya adalah mengevaluasi aktivitas antibakteri, yang dikerjakan dengan cara menuangkan 15-25 mililiter media NA ke dalam cawan petri dan membiarkannya mengeras. Selain itu, kapas steril digunakan untuk menginokulasi satu bakteri secara merata dalam konfigurasi zig-zag. Cakram yang steril kemudian dipindahkan ke dalam sampel uji dengan aseptik menggunakan pinset steril ke dalam sampel yang telah disiapkan sebelumnya, yang meliputi kontrol positif, kontrol negatif, dan formulasi gel semprot pada konsentrasi 5%, 10%, 15%, dan 20%. Cakram yang sebelumnya terhidrasi selanjutnya dipindahkan ke media NA yang terinfeksi *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan metode aseptik. Cawan petri yang telah diproses kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°Celsius.

Hasil Dan Pembahasan

Ekstraksi Daun Sintrong

Percobaan membuat ekstrak daun sintrong (*Crassocephalum crepidioides*) dimulai dengan pembuatan simplisia. Daun sintrong (*Crassocephalum crepidioides*) segar yang diambil sebanyak 8 kilogram yang sudah diserbukkan diekstraksi dengan menggunakan teknik maserasi, dimana serbuk simplisia direndam dalam pelarut ethanol 96% selama 5 hari dengan pengadukan rutin setiap hari. Durasi proses maserasi yang lebih lama dan jumlah remaserasi yang lebih banyak meningkatkan jumlah senyawa yang dapat diekstraksi oleh pelarut [17]. Simplisia yang telah dimaserasi di uapkan dengan *rotary vacuum evaporator* dan dipekatkan diatas *waterbath*. Ekstrak kental daun sintrong (*Crassocephalum crepidioides*) yang didapatkan sejumlah 217 gram, berwarna hijau gelap dan aroma yang karakteristik.

Skrinning Fitokimia

Uji penyaringan fitokimia dilakukan untuk memastikan keberadaan bahan kimia metabolit sekunder pada tanaman, termasuk alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin.

Tabel 1. Uji Skrinning Fitokimia

Uji Skrinng Fitokimia	Hasil	Keterangan
Flavonoid	 (+)	Indikasi positif terlihat dari terjadinya perubahan warna menjadi coklat kehitaman setelah penambahan H ₂ SO ₄ kedalam ekstrak
Saponin	 (+)	reaksi positif, yang dapat dilihat dari bentuknya busa stabil setinggi ± 1 cm setelah dikocok dengan penambahan aquadest.
Tannin	 (+)	adanya perubahan warna menjadi hijau kehitaman sebagai hasil reaksi antara sampel dan FeCl ₃ , yang mengindikasikan bahwa ekstrak tannin.
Alkaloid	 (-)	Hasil yang diperoleh adalah negatif, yang dibuktikan ketika penambahan pereaksi mayer tidak menghasilkan endapan putih.

Keterangan : (+) metabolit sekunder terdeteksi, (-) metabolit sekunder tidak terdeteksi

Hasil Pembuatan Gel Semprot

Dalam penelitian ini, gel semprot yang mengandung ekstrak etanol digunakan sebagai agen antibakteri. Ekstrak etanol daun Sintrong menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, diduga karena kandungan flavonoid, saponin, dan tanin yang berperan sebagai agen antibakteri. Gel semprot tersebut telah diformulasikan dengan berbagai konsentrasi ekstrak ethanol dari daun Sintrong, yaitu 5%, 10%, 15%, dan 20%. Formulasi gel ini terdiri dari beberapa komponen, antara lain basis gel (Carbopol 940), penetral pH (trietanolamin), humektan (propilen glikol), pengawet (methylparaben dan propylparaben), serta pelarut (air

suling). Carbopol 940 dipilih sebagai bahan dasar gel utama karena konsentrasinya yang rendah (0,5-2,0%) efektif dalam pembentukan gel dan mudah larut dalam air. Proses pengikatan antara molekul air dan gugus hidroksil dengan Carbopol 940 berfungsi untuk memanjangkan rantai polimer, sehingga meningkatkan viskositas gel [14]. Selain itu, Carbopol 940 dikenal sebagai bahan yang stabil dan aman untuk penggunaan topikal, dikarenakan tidak memicu reaksi sensitivitas berlebihan dan dapat menempel secara optimal di kulit. Trietanolamin berfungsi sebagai penetral pH dalam formulasi ini. Meskipun tidak bersifat toksik, pengguna perlu berhati-hati saat menggunakannya, karena dapat menyebabkan iritasi kulit jika tidak diterapkan dalam jumlah yang sesuai. Oleh sebab itu, perlu dipastikan bahwa penggunaannya tetap berada dalam batas aman untuk kulit manusia. Propilen glikol berfungsi sebagai humektan yang efektif, membantu menjaga kelembapan sediaan dan memastikan stabilitas fisik produk tetap terjaga selama penyimpanan. Sementara itu, methylparaben dan propylparaben digunakan sebagai pengawet, dan aquadest berperan sebagai pelarut. Dengan penjelasan ini, dapat disimpulkan bahwa formulasi spray gel ini aman penggunaannya dan tidak menyebabkan reaksi sensitif ataupun kemerahan pada bagian lapisan kulit [18].



Gambar 1. Ekstrak kental Daun Sintrong

Hasil Evaluasi Stabilitas Fisik Sediaan Gel Semprot Ekstrak Daun Sintrong Selama Penyimpanan Uji Organoleptis

Pengujian organoleptik dilakukan melalui pengamatan tekstur, aroma, dan warna gel semprot yang dihasilkan. Selama periode dari hari pertama hingga pada hari ke-21, persiapan menunjukkan warna hijau tua, aroma khas daun Sintrong, serta tekstur yang sedikit kental. Warna hijau pekat ini mengindikasikan bahwa penambahan ekstrak etanol dari daun Sintrong berpengaruh terhadap intensitas warna dan konsistensi sediaan yang dihasilkan. Peningkatan jumlah ekstrak yang digunakan menghasilkan warna gel yang lebih pekat [19].

Uji Homogenitas

Tujuan mengevaluasi homogenitas formulasi gel semprot adalah untuk memastikan apakah gel semprot tercampur dengan baik dan terdistribusi secara merata. Suatu sediaan gel semprot dianggap homogen jika semua bahan tercampur secara merata tanpa adanya partikel padat yang tidak larut [12]. Hasil pengujian menunjukkan bahwa semua formulasi gel semprot yang dihasilkan memiliki tingkat homogenitas yang baik. Homogenitas sediaan ini merujuk pada keseragaman serta distribusi bahan aktif yang merata dalam seluruh massa sediaan. Distribusi yang homogen memastikan bahwa jumlah bahan aktif konsisten pada setiap penyemprotan, sehingga sediaan topikal yang baik adalah yang memiliki homogenitas tinggi, karena ini dapat mengurangi risiko iritasi pada kulit [11].

Hasil Uji Pola Penyemprotan dan Daya Sebar

Pengujian pola semprotan dan kemampuan penyebarannya dilakukan untuk menentukan sejauh mana gel semprot dapat terdispersi setelah diaplikasikan, khususnya saat digunakan pada kulit. Ukuran diameter gel semprot memiliki dampak signifikan terhadap efektivitas produk. Partikel yang lebih kecil memiliki tingkat penyerapan yang lebih cepat oleh tubuh [14]. Dalam hal ini, kemampuan penyebaran yang ideal adalah melebihi 7 cm [19]. Keempat formulasi gel semprot yang diuji menunjukkan pola distribusi yang merata. Hasil penelitian mengindikasikan bahwa viskositas berperan penting: semakin tinggi viskositas sediaan, semakin besar diameter semprotan yang dihasilkan. Selain itu, konsentrasi Carbopol 940 sebagai agen pembentuk gel juga mempengaruhi berat semprotan yang dikeluarkan oleh aplikator; seiring dengan peningkatan konsentrasi Carbopol 940, berat semprotan pun meningkat [20].

Tabel 2. Hasil Uji Pola Penyemprotan dan Daya Sebar sediaan

Sediaan	Hari Ke-			
	0	7	14	21
F I	Optimal	Optimal	Optimal	Optimal
F II	Optimal	Optimal	Optimal	Optimal
F III	Optimal	Optimal	Optimal	Optimal
F IV	Optimal	Optimal	Optimal	Optimal
Diameter (cm)				
F I	11	12	11	11
F II	10	10	11	11
F III	7	8	8	7
F IV	7	7	7	7

Hasil Uji Waktu Kering

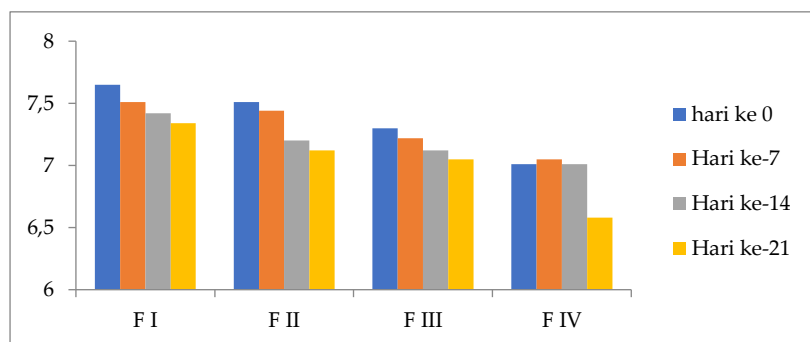
Tabel 3. Hasil Uji Waktu Kering

Sediaan	Hari Ke-			
	0	7	14	21
F I	3.15 menit	3.10 menit	3.14 menit	3.15 menit
F II	3.24 menit	3.22 menit	3.23 menit	3.18 menit
F III	3.58 menit	4.43 menit	3.33 menit	4.21 menit
F IV	5.28 menit	4.56 menit	4.45 menit	4.40 menit

Waktu kering bertujuan untuk menentukan durasi yang diperlukan sediaan agar dapat kering setelah dioleskan pada kulit. Idealnya, waktu pengeringan untuk gel semprot seharusnya kurang dari 5 menit [11]. Hasil pengujian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan waktu pengeringan di antara empat formula yang diuji, di mana waktu pengeringan cenderung meningkat seiring bertambahnya waktu setelah persiapan. Perbedaan ini disebabkan oleh variasi dalam komposisi agen pembentuk gel semprot atau konsentrasi bahan aktif yang digunakan, yang berpengaruh pada viskositas dan kemampuan sediaan. Waktu pengeringan yang lebih lama dapat mempengaruhi kenyamanan pengguna, terutama jika sediaan terasa lengket atau basah dalam durasi yang lebih lama setelah diaplikasikan. Dengan demikian, mengendalikan waktu pengeringan sangat penting untuk mencapai keseimbangan antara efektivitas aplikasi dan kenyamanan pengguna.

Hasil Uji pH

Uji pH sediaan bertujuan untuk mengevaluasi keasaman atau kebasaan gel semprot yang disiapkan. Formulasi topikal harus memiliki pH yang sesuai dengan kulit manusia untuk mencegah kemerahan pada kulit yang sensitif. pH alami kulit manusia umumnya berada di antara 4,5 hingga 7, oleh karena itu, sediaan topikal sebaiknya berada dalam rentang tersebut. apabila pH sediaan terlalu rendah, berpotensi menyebabkan permukaan kulit menjadi kering, mengelupas, dan teriritasi. Dan sediaan dengan pH yang terlalu tinggi dapat mengganggu elastisitas kulit, menjadikannya licin, dan meningkatkan risiko kehilangan kelembapan secara cepat [11].

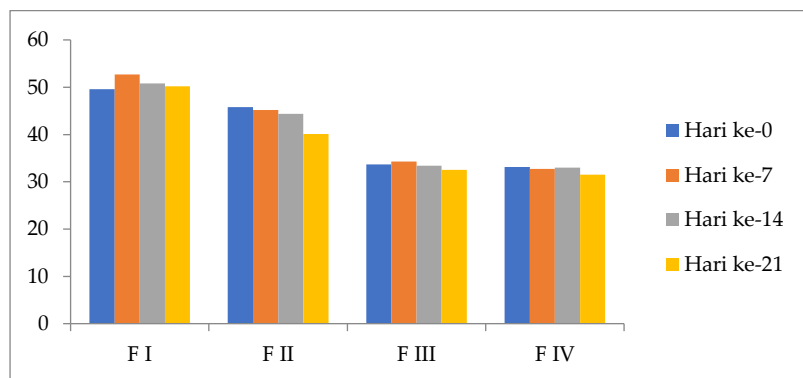
**Gambar 2.** Diagram Hasil pengamatan uji pH sediaan gel semprot

Hasil pengujian pH dari gel semprot Formula 1 menunjukkan nilai pH sebesar 7,65, yang sedikit lebih tinggi dibandingkan pH kulit normal. Sementara itu, Formula 2 memiliki pH 7,51 dan Formula 3 menunjukkan pH 7,30. Meskipun pH ketiga formula ini sedikit melebihi kisaran pH kulit, semua tetap dapat diterima oleh kulit tanpa menimbulkan iritasi. Berbeda dengan itu, Formula 4 memiliki pH yang lebih mendekati pH kulit manusia, yakni 7,01, sehingga memenuhi standar pH kulit normal.

Stabilitas gel semprot diuji pada suhu kamar selama 21 hari dan diobservasi setiap minggu. Dari hasil pengujian yang tertuang dalam tabel dan grafik, penurunan pH terlihat antara hari ke-7 dan ke-21. Penurunan pH dapat disebabkan oleh berbagai kondisi lingkungan, termasuk paparan cahaya, fluktuasi suhu, dan tingkat kelembapan di lingkungan penyimpanan, yang dapat memengaruhi stabilitas sediaan. Uji ANOVA diperoleh nilai signifikansi 0,003 ($p < 0,05$), yang mengindikasikan adanya perbedaan signifikan secara statistik di antara kelompok diuji. Ini menandakan bahwa perubahan dalam formula yang digunakan memiliki efek nyata pada nilai pH sediaan.

Hasil Uji Viskositas

Pemeriksaan nilai viskositas dilakukan untuk menentukan tingkat kekentalan sediaan, yang mempengaruhi kenyamanan saat penerapannya pada kulit. Viskositas ideal untuk gel semprot sebaiknya berada pada kisaran rendah, antara 50-500 dPa. s atau 25-250 cPs [11], agar dapat disemprotkan dengan mudah. Dalam pengujian ini, data viskositas dari berbagai formulasi diukur pada hari ke-0. Hasilnya menunjukkan bahwa viskositas FI adalah 49,6 cPs, FII 45,8 cPs, FIII 33,7 cPs, dan FIV 33,1 cPs. Nilai viskositas yang diperoleh harus memenuhi kriteria yang diharapkan. Dari hasil pengukuran, viskositas tertinggi ditemukan pada FI, sementara viskositas terendah pada FIV. Penurunan viskositas terlihat seiring bertambahnya jumlah ekstrak daun sintong yang ditambahkan: semakin banyak ekstrak yang digunakan, semakin cair sediaan, sehingga menyebabkan viskositas lebih rendah. Fenomena ini terlihat jelas pada grafik pengukuran viskositas yang menunjukkan penurunan hingga hari ke-21. Penurunan viskositas selama penyimpanan mungkin dipengaruhi oleh suhu. Suhu yang lebih tinggi dapat mengakibatkan penurunan tegangan permukaan dan meningkatkan pemisahan fase dalam formulasi [19]. Hasil uji ANOVA mendukung percobaan ini, yang menunjukkan adanya perbedaan signifikan secara statistik.



Gambar 3. Diagram Hasil uji viskositas sediaan gel semprot

Hasil Uji Daya Hambat Antibakteri

Efikasi antibakteri dalam penelitian ini dievaluasi menggunakan metode difusi cakram, yang merupakan pendekatan umum dan terpercaya dalam pengujian aktivitas antibakteri karena kepraktisannya, kecepatan memperoleh hasil, serta kemampuannya memberikan visualisasi zona hambat yang terbentuk [21]. Pada metode ini, kertas cakram yang telah diberi sediaan uji diletakkan di atas permukaan media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri uji, sehingga memungkinkan difusi bahan aktif dan terbentuknya zona hambat di sekitar cakram [22]. Peningkatan diameter zona hambat menunjukkan aktivitas antibakteri dari ekstrak daun sintrong.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak daun sintrong dalam formulasi gel semprot cenderung berbanding lurus dengan peningkatan aktivitas antibakteri, yang ditunjukkan oleh bertambahnya diameter zona hambat. Formulasi gel semprot dengan konsentrasi ekstrak 5%, 10%, 15%, dan 20% menunjukkan diameter rata-rata zona hambat masing-masing sebesar 8,05 mm, 8,02 mm, 8,44 mm, dan 9,57 mm. Seluruhnya tergolong dalam kategori sedang, berdasarkan klasifikasi zona hambat: lemah (<5 mm), sedang (5–10 mm), kuat (10–20 mm), dan sangat kuat (20–30 mm) [23–25].

Menariknya, konsentrasi 10% justru menunjukkan zona hambat yang sedikit lebih kecil dibandingkan konsentrasi 5%, yakni 8,02 mm vs. 8,05 mm. Ketidakkonsistenan ini dapat dijelaskan melalui variabilitas eksperimental yang lazim terjadi dalam metode difusi cakram. Faktor-faktor seperti ketidakhomogenan distribusi ekstrak dalam matriks gel, ketebalan dan kelembapan media agar, volume sampel yang tertahan di cakram, hingga perbedaan biologis dalam sensitivitas bakteri uji antar replikasi dapat memengaruhi hasil [26,27]. Variasi konsentrasi inokulum juga dapat menjadi penyebab deviasi hasil, sebagaimana dilaporkan dalam studi oleh Chandrasekaran et al. (2018) [28].

Sementara itu, formulasi dengan konsentrasi 20% menghasilkan zona hambat terbesar di antara semua perlakuan, menunjukkan potensi antibakteri yang paling signifikan. Kontrol positif berupa Klindamisin Gel 1% menghasilkan zona hambat sebesar 38,83 mm dan dikategorikan sebagai sangat kuat. Sebaliknya, kontrol negatif tidak menunjukkan adanya zona hambat, menandakan tidak adanya aktivitas antibakteri [29].

Secara keseluruhan, hasil penelitian ini mendukung efektivitas metode difusi cakram sebagai teknik pengujian antibakteri yang andal, dengan catatan bahwa potensi variabilitas harus diperhitungkan dan dikendalikan sebaik mungkin dalam setiap eksperimen [26,30,31]. Penemuan ini juga memperkuat potensi penggunaan ekstrak daun sintrong sebagai kandidat bahan antibakteri alami dan membuka peluang untuk penelitian lanjutan terkait formulasi, mekanisme kerja, dan aplikasi klinisnya.

Terdapat perbedaan yang signifikan antara formulasi gel semprot ekstrak daun sintrong, yang menunjukkan aktivitas antibakteri dalam kategori sedang (zona hambat maksimum 9,57 mm), dan kontrol positif berupa Klindamisin Gel 1%, yang menunjukkan aktivitas antibakteri sangat kuat dengan zona hambat sebesar 38,83 mm. Perbedaan ini mencerminkan perbedaan mendasar antara antibiotik sintetis dan ekstrak herbal. Klindamisin, sebagai antibiotik sintetis, memiliki senyawa aktif tunggal dengan mekanisme kerja yang telah terstandarisasi dan diketahui secara spesifik menghambat sintesis protein bakteri. Sementara itu, ekstrak daun sintrong merupakan campuran kompleks berbagai metabolit sekunder seperti tanin, flavonoid, dan saponin, yang bekerja melalui mekanisme yang lebih bervariasi dan umumnya kurang spesifik [32,33].

Efektivitas antibakteri dari ekstrak daun sintrong menunjukkan peningkatan seiring dengan peningkatan konsentrasi, yang mengindikasikan bahwa kandungan senyawa bioaktif memainkan peran penting dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Namun demikian, aktivitas antibakterinya tetap lebih rendah dibandingkan klindamisin. Hal ini dapat disebabkan oleh rendahnya konsentrasi senyawa aktif spesifik dalam ekstrak, bioavailabilitas yang lebih rendah, serta kemungkinan adanya interaksi antagonis antar komponen fitokimia.

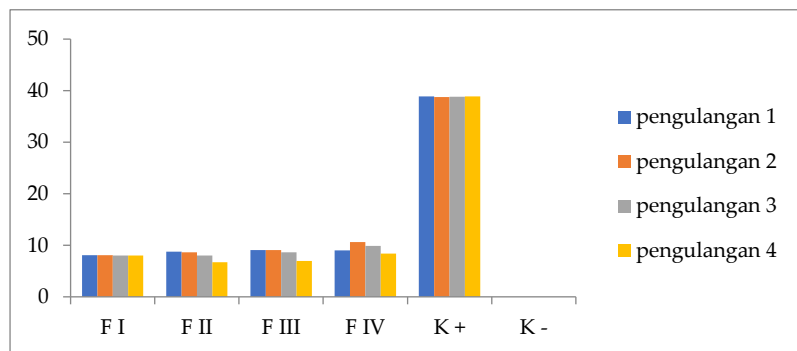
Selain itu, ekstrak herbal sering kali memiliki keterbatasan dalam hal penetrasi sel bakteri dan kestabilan kimia, yang dapat memengaruhi efikasinya secara keseluruhan. Oleh karena itu, untuk meningkatkan efektivitas antibakteri dari ekstrak daun sintrong, diperlukan pendekatan formulasi lanjutan, seperti kombinasi dengan bahan aktif lain, penggunaan enhancer permeabilitas, atau pengembangan sistem penghantaran berbasis nanopartikel. Pendekatan sinergistik ini telah terbukti dalam beberapa penelitian dapat meningkatkan aktivitas antibakteri dari senyawa alami jika dikombinasikan dengan antibiotik atau bahan tambahan lain [34]. Dengan demikian, meskipun ekstrak daun sintrong memiliki potensi sebagai agen antibakteri alami, penggunaannya secara tunggal masih belum dapat menandingi potensi antibiotik sintetis seperti klindamisin. Namun, hal ini tidak menutup kemungkinan pemanfaatan ekstrak ini sebagai terapi adjuvan atau pelengkap dalam formulasi sediaan topikal yang ramah lingkungan dan minim efek samping.

Flavonoid, saponin, dan tanin merupakan kelompok fitokimia yang diketahui memiliki aktivitas antibakteri melalui berbagai mekanisme kerja yang berbeda. Flavonoid bekerja dengan menghambat pertumbuhan dan perkembangan bakteri melalui beberapa mekanisme, antara lain: mengganggu sintesis asam nukleat, memengaruhi aktivitas membran sitoplasma, serta menghambat proses metabolisme energi yang esensial bagi kelangsungan hidup bakteri. Salah satu mekanisme spesifik flavonoid adalah penghambatan enzim DNA girase, yaitu enzim penting dalam proses replikasi DNA bakteri, yang jika terganggu akan menghambat proliferasi bakteri [35,36]. Selain itu, flavonoid dapat meningkatkan permeabilitas membran bakteri, merusak integritas membran, dan menyebabkan kebocoran isi sel, yang pada akhirnya mengarah pada kematian sel [37,38]. Efektivitas flavonoid sebagai agen antibakteri juga dipengaruhi oleh konfigurasi struktur kimianya, yang menentukan kekuatan interaksi dengan target-target biologis di dalam sel bakteri [36,39].

Sementara itu, saponin menunjukkan aktivitas antibakteri melalui mekanisme perusakan membran sel. Berkat sifat surfaktan alaminya, saponin dapat berintegrasi dengan lapisan lipid pada membran sel bakteri dan meningkatkan permeabilitasnya. Interaksi ini menyebabkan terganggunya struktur membran dan kebocoran isi sel, yang berujung pada lisis dan kematian sel bakteri [40,41]. Beberapa studi melaporkan bahwa

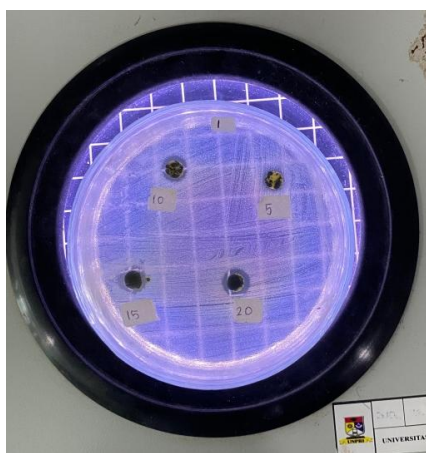
saponin dari berbagai sumber tanaman mampu secara signifikan menurunkan stabilitas membran sel bakteri, serta interaksinya lebih kuat pada spesies bakteri dengan kandungan kolesterol membran yang lebih tinggi [42,43].

Tanin juga berkontribusi terhadap aktivitas antibakteri, terutama melalui penghambatan enzim-enzim penting dalam metabolisme sel bakteri. Mekanisme utamanya adalah pembentukan kompleks dengan protein, termasuk enzim esensial, melalui ikatan hidrogen. Proses ini menyebabkan denaturasi protein dan gangguan pada fungsi enzimatis yang vital bagi proses metabolisme, sehingga menghambat pertumbuhan dan kelangsungan hidup bakteri [44–46].

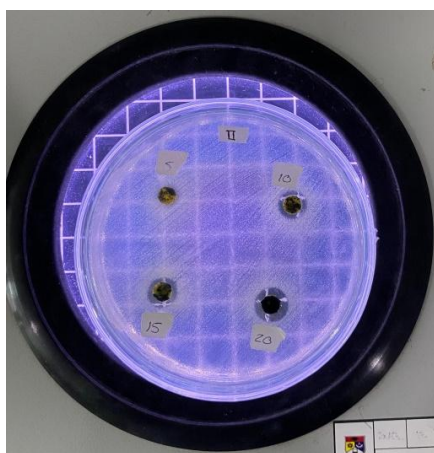


Gambar 4. Diagram Zona Hambat oleh Bakteri *Staphylococcus aureus*.

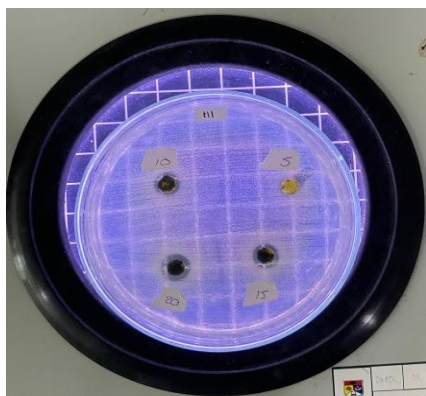
Oleh karena itu, metabolit sekunder seperti flavonoid, saponin, dan tanin berperan secara sinergis dalam meningkatkan efektivitas gel semprot sebagai agen antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* [14]. Hasil analisis data dari uji statistik ANOVA one-way mengungkapkan nilai signifikansi $<0,001$ ($p>0,05$), yang membuktikan varian substansial di antara kelompok perlakuan mengenai luas zona penghambatan bakteri *Staphylococcus aureus*.



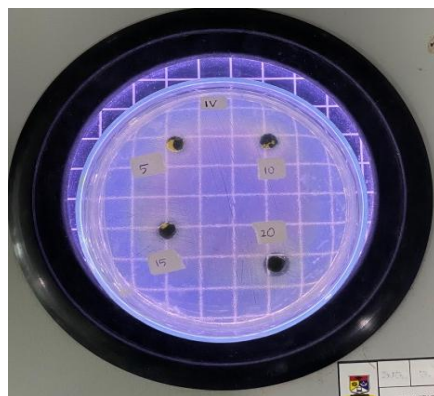
Pengulangan 1



Pengulangan 2



Pengulangan 3



Pengulangan 4

Gambar 5. Aktivitas Antibakteri Sediaan Gel Semprot Mengandung Ekstrak Daun Sintrong (*Crassocephalum crepidioides*) pada Konsentrasi 5%, 10%, 15%, dan 20%, serta Kontrol Positif Klindamisin Gel 1%.

Kesimpulan

Ekstrak etanol dari simplisia daun sintrong (*Crassocephalum crepidioides*) dapat dikembangkan menjadi sediaan gel semprot yang berkhasiat dan memiliki sifat antibakteri, terutama terhadap perkembangbiakan bakteri *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini mengungkapkan bahwa formulasi gel semprot berbasis ekstrak ethanol dari daun sintrong (*Crassocephalum crepidioides*) efektif dalam menekan menghambat proliferasi *Staphylococcus aureus*, sebagaimana terbukti dari ukuran diameter zona hambat yang dihasilkan pada masing-masing sediaan. Konsentrasi 5%, 10%, 15%, dan 20% menghasilkan ukuran zona hambat masing-masing 8,05 mm, 8,02 mm, 8,44 mm, dan 9,57 mm, yang menunjukkan khasiat penghambatan yang cukup besar. Konsentrasi 20% menunjukkan daya hambat tertinggi, dengan zona hambat berukuran 9,57 mm.

Conflict of Interest

Penelitian ini dilakukan secara mandiri dan objektif tanpa konflik kepentingan atau pengaruh eksternal.

Acknowledgment

Penelitian ini dapat terlaksana berkat dukungan dari Universitas Prima Indonesia atas kontribusi sumber daya dan infrastruktur penelitian.

Supplementary Materials

Referensi

- [1] Poznyak A, Grechko A V, Poggio P, Myasoedova VA, Alfieri V, Orekhov AN. The diabetes mellitus–atherosclerosis connection: The role of lipid and glucose metabolism and chronic inflammation. *Int J Mol Sci* 2020;21:1835.
- [2] World Health Organization. Diabetes. World Heal Organ 2022. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>.
- [3] Atlas D. International diabetes federation. IDF Diabetes Atlas, 7th Edn Brussels, Belgium Int Diabetes Fed 2015;33.
- [4] Magliano DJ, Boyko EJ. IDF diabetes atlas 2022.
- [5] Ogurtsova K, Guariguata L, Barengo NC, Ruiz PL-D, Sacre JW, Karuranga S, et al. IDF diabetes Atlas: Global estimates of undiagnosed diabetes in adults for 2021. *Diabetes Res Clin Pract* 2022;183:109118.
- [6] Rizqiyah H, Soleha TU, Hanriko R, Apriliana E. Pola Bakteri Ulkus Diabetikum Pada Penderita Diabetes Melitus di RSUD dr. H. Abdul Moeloek. *Majority* 2020;9:128–35.
- [7] Sukartini T, Theresia Dee TM, Probowati R, Arifin H. Behaviour model for diabetic ulcer prevention. *J Diabetes Metab Disord* 2020;19:135–43. <https://doi.org/10.1007/s40200-019-00484-1>.
- [8] Razoki R, Simanjuntak NJP. Potensi Antihiperglikemia Kombinasi Ekstrak Daun Salam dan Ikan Gabus. *J Indah Sains Dan Klin* 2024;5:19–23. <https://doi.org/10.52622/jisk.v5i3.04>.
- [9] Panji Ratih Suci, Cikra Ikhdha Nur Hamidah Safitri, Nisa'ul Choirroh. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sintrong (*Crassocephalum crepidioides* Benth. S. Moore) Pada *Salmonella typhi*. *AFAMEDIS* 2020;1:1–10. <https://doi.org/10.61609/afamedis.v1i2.21>.
- [10] Maimunah S, Pratama HA, Mayasari U. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sintrong (*Crassocephalum crepidioides*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*|| Antibacterial Activity Assay From Sintrong Leaf (*Crassocephalum crepidioides*) Against *Staphylococcus aureus* Bacteria. *J Pembelajaran Dan Biol Nukl* 2020;6:103–11.
- [11] Indalifiany A, Zubaydah WS, Kasim ER. Formulasi Spray Gel Ekstrak Etanol Batang *Etlingera Rubroloba* Menggunakan HPMC Sebagai Gelling Agent: Formulation Spray Gel Of *Etlingera Rubroloba* Ethanolic Extract Using HPMC As Gelling Agent. *J Sains Dan Kesehat* 2023;5:140–8.
- [12] Anindhita MA, Oktaviani N. Formulasi spray gel ekstrak daun pandan wangi sebagai antiseptik

- tangan. Parapemikir J Ilm Farm 2020;9:14–21.
- [13] Zubaydah WOS, Aspadiah V, Muammar M. Pengembangan Sediaan Spray Gel dari Ekstrak Etanol Batang Tumbuhan Bambu-bambu (*Polygonum pulchrum* Blume) Menggunakan Basis Kombinasi Gel Viskolam® dan Hydroxypropyl Methyl Cellulose (HPMC). *Medula* 2022;10:53–65.
 - [14] Estikomah SA, Amal ASS, Safaatsih SF. Uji daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Propionibacterium acnes* gel semprot ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura* L.) Karbopol 940. *Pharm J Islam Pharm* 2021;5:36–53.
 - [15] QUR'AN SCNUR. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Ekstrak Daun Eceng Gondok (*Eichhornia crassipes*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* 2020.
 - [16] Usman Y. Pemanfaatan potensi limbah kulit bawang merah (*Allium cepa*. l) sebagai sediaan gel hand sanitizer. *J Ris Kefarmasian Indones* 2020;2:63–71.
 - [17] Prasetya I, Putra GG, Wrasati LP. Pengaruh Jenis Pelarut dan Waktu Maserasi terhadap Ekstrak Kulit Biji Kakao (*Theobroma Cacao* L..) sebagai Sumber Antioksidan. *J Rekayasa Dan Manaj Agroindustri ISSN* 2020;2503:150–9.
 - [18] Rizal R, Maharani V. Formulasi sediaan spray gel ekstrak etanol pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) dan uji daya tabir surya. *J Sains Farm Dan Kesehat* 2023;1:48–59.
 - [19] Utami CA. Formulasi Spraygel Minyak Atsiri Daun Seledri (*Apium Graveolens* L.) Dan Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *Univ Islam Indones* 2020.
 - [20] Tanjung C, Al Fajr IT, Khoiriyah I, Senjaya MRH, Nabila SP, Akmal T. Formulasi dan Evaluasi Sediaan Spray gel Minyak Atsiri Niaouli (*Melaleuca quinquenervia* L.) dengan Karbopol 940 sebagai Pembentuk Gel. *Pharm Sci Clin Pharm* 2024;2:1–6.
 - [21] Humphries RM, Kircher S, Andrea F, Krause KM, Malherbe R, Hsiung A, et al. The Continued Value of Disk Diffusion for Assessing Antimicrobial Susceptibility in Clinical Laboratories: Report From the Clinical and Laboratory Standards Institute Methods Development and Standardization Working Group. *J Clin Microbiol* 2018;56. <https://doi.org/10.1128/jcm.00437-18>.
 - [22] Nurhayati LS, Yahdiyani N, Hidayatulloh A. Perbandingan pengujian aktivitas antibakteri starter yogurt dengan metode difusi sumuran dan metode difusi cakram. *J Teknol Has Peternak* 2020;1:41–6.
 - [23] Pisacha IM, Safutri W, Rahayu KW. Review Artikel: Aktivitas Antibakteri Ekstrak Bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *J Farm Univ Aisyah Pringsewu* 2023;2:70.
 - [24] Ernawati E, Jannah N. Aktivitas antimikroba perasan daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) terhadap *Candida albicans* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *J Kedokt Dan Kesehat* 2021;17:137–44.
 - [25] Matondang FH, Lubis MS, Yuniarti R, Rani Z. Formulasi masker wajah serbuk nano teh celup bekas dan aktivitas antibakteri terhadap *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*. *J Pharm Sci* 2025:1–21.
 - [26] Hombach M, Ochoa C, Maurer FP, Pfiffner T, Böttger EC, Furrer R. Relative Contribution of Biological Variation and Technical Variables to Zone Diameter Variations of Disc Diffusion Susceptibility Testing. *J Antimicrob Chemother* 2015;71:141–51. <https://doi.org/10.1093/jac/dkv309>.
 - [27] Liu Y, Ding L, Han R, Zeng B, Li J, Guo Y, et al. Assessment of Cefiderocol Disk Diffusion Versus Broth Microdilution Results When Tested Against *Acinetobacter Baumannii* Complex Clinical Isolates. *Microbiol Spectr* 2023;11. <https://doi.org/10.1128/spectrum.05355-22>.
 - [28] Chandrasekaran S, Abbott AN, Campeau S, Zimmer B, Weinstein MP, Thrupp L, et al. Direct-From-Blood-Culture Disk Diffusion to Determine Antimicrobial Susceptibility of Gram-Negative Bacteria: Preliminary Report From the Clinical and Laboratory Standards Institute Methods Development and Standardization Working Group. *J Clin Microbiol* 2018;56. <https://doi.org/10.1128/jcm.01678-17>.
 - [29] Lehtopolku M, Kotilainen P, Puukka P, Nakari U, Siitonen A, Eerola E, et al. Inaccuracy of the Disk Diffusion Method Compared With the Agar Dilution Method for Susceptibility Testing of *Campylobacter* SPP. *J Clin Microbiol* 2012;50:52–6. <https://doi.org/10.1128/jcm.01090-11>.
 - [30] Humphries RM, Ambler J, Mitchell SL, Castanheira M, Dingle T, Hindler JA, et al. CLSI methods development and standardization working group best practices for evaluation of antimicrobial susceptibility tests. *J Clin Microbiol* 2018;56:10–1128.
 - [31] Humphries RM, Ambler J, Mitchell SL, Castanheira M, Dingle T, Hindler JA, et al. on behalf of the CLSI Methods Development and Standardization Working Group of the Subcommittee on Antimicrobial Susceptibility Testing. 2018. CLSI Methods Development and Standardization Working Group best practices for evaluation of antimicrobial suscep. *J Clin Microbiol* 2018;56:1934.

- [32] Cushnie T, Lamb AJ. Antimicrobial activity of flavonoids International Journal of Antimicrobial Agents 26 (5): 343-56 2005.
- [33] Haslam E. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. J Nat Prod 1996;59:205–15.
- [34] Hemaiswarya S, Kruthiventi AK, Doble M. Synergism between natural products and antibiotics against infectious diseases. Phytomedicine 2008;15:639–52.
- [35] Cushnie TPT, Lamb AJ. Recent Advances in Understanding the Antibacterial Properties of Flavonoids. Int J Antimicrob Agents 2011;38:99–107. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2011.02.014>.
- [36] Wu T, Zang X, He M, Pan S, Xu X. Structure–Activity Relationship of Flavonoids on Their Anti-Escherichia Coli Activity and Inhibition of DNA Gyrase. J Agric Food Chem 2013;61:8185–90. <https://doi.org/10.1021/jf402222v>.
- [37] Rodríguez B, Pacheco LGC, Bernal I, Pina M. Mechanisms of Action of Flavonoids: Antioxidant, Antibacterial and Antifungal Properties. Cienc Ambient Y Clima 2023;6:33–66. <https://doi.org/10.22206/cac.2023.v6i2.3021>.
- [38] Xie Y, Yang W, Tang F, Chen X, Ren L. Antibacterial activities of flavonoids: structure-activity relationship and mechanism. Curr Med Chem 2015;22:132–49.
- [39] Xie Y, Yang W, Tang F, Chen X, Chen L. Antibacterial Activities of Flavonoids: Structure-Activity Relationship and Mechanism. Curr Med Chem 2014;22:132–49. <https://doi.org/10.2174/0929867321666140916113443>.
- [40] Khan MI, Ahhmed AM, Shin JH, Baek JS, Kim MY, Kim JD. Green Tea Seed Isolated Saponins Exerts Antibacterial Effects Against Various Strains of Gram Positive and Gram Negative Bacteria, a Comprehensive Study <i>In Vitro</i> and <i>In Vivo</i>. Evidence-Based Complement Altern Med 2018;2018. <https://doi.org/10.1155/2018/3486106>.
- [41] Zhang R, Du Z, Li Z, Feng Y, Yan X. Improving the Bioactivity of Water-soluble Alfalfa Saponins Using Biotransformation. J Food Sci 2024;89:8628–43. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.17523>.
- [42] Grzywaczyk A, Smulek W, Olejnik A, Guzik U, Nowak A, Kaczorek E. Co-Interaction of Nitrofurantoin Antibiotics and the Saponin-Rich Extract on Gram-Negative Bacteria and Colon Epithelial Cells. World J Microbiol Biotechnol 2023;39. <https://doi.org/10.1007/s11274-023-03669-2>.
- [43] Sudji IR, Subburaj Y, Frenkel N, García-Sáez AJ, Wink M. Membrane Disintegration Caused by the Steroid Saponin Digitonin Is Related to the Presence of Cholesterol. Molecules 2015;20:20146–60. <https://doi.org/10.3390/molecules201119682>.
- [44] Gordon NC, Wareham DW. Antimicrobial Activity of the Green Tea Polyphenol (–)-Epigallocatechin-3-Gallate (EGCG) Against Clinical Isolates of Stenotrophomonas Maltophilia. Int J Antimicrob Agents 2010;36:129–31. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2010.03.025>.
- [45] Shamsudin NF, Ahmed QU, Mahmood S, Shah SAA, Khatib A, Mukhtar S, et al. Antibacterial Effects of Flavonoids and Their Structure-Activity Relationship Study: A Comparative Interpretation. Molecules 2022;27:1149. <https://doi.org/10.3390/molecules27041149>.
- [46] Górniak I, Bartoszewski R, Króliczewski J. Comprehensive Review of Antimicrobial Activities of Plant Flavonoids. Phytochem Rev 2018;18:241–72. <https://doi.org/10.1007/s11101-018-9591-z>.