

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Sabun Padat

Sabun padat adalah suatu surfaktan atau campuran surfaktan yang digunakan dengan air untuk membersihkan dan menghilangkan lemak (kotoran). Sabun memiliki struktur kimia dengan panjang rantai karbon C12 sampai C16. Sabun bersifat amfipatik. Artinya, kepala memiliki gugus hidrofilik (polar) dan ekor memiliki gugus hidrofobik (non-polar). Oleh karena itu, dalam fungsinya, gugus hidrofobik berikatan dengan molekul lemak dan kotoran, yang kemudian tertarik pada gugus hidrofilik yang dapat larut dalam air (Sukeksi et al., 2017).

Kemampuan sabun dalam menghilangkan noda bergantung pada kemampuannya mengemulsi atau memecah zat yang tidak larut dalam air. Kemampuan ini dapat dibuktikan dengan struktur molekul sabun. Ketika sabun ditambahkan ke dalam air yang mengandung minyak atau zat yang tidak larut dalam air, molekul sabun mengelilingi tetesan minyak (Mishra & Debesh, 2013)

Sabun mandi padat memiliki beberapa bentuk yaitu yang berlisensi, opaque, dan transparan. Dari masing-masing bentuk tersebut memiliki kemampuan untuk berbusa dengan baik di dalam air yang mengandung garam (air sadah), sabun mandi opaque adalah jenis sabun mandi biasa yang berbentuk batang dan tidak transparan. Sabun transparan, juga dikenal sebagai sabun gliserin, menghasilkan busa yang lebih lembut di kulit dan membuatnya terlihat lebih menarik karena transparansinya (Doni, 2018)

Proses pembersihan sabun adalah sebagai berikut: saat sabun bersentuhan dengan udara, sabun berpenetrasi di antara kulit dan kotoran, yang membuatnya lebih mudah dihilangkan. Selanjutnya kotoran dapat dihilangkan

secara fisik dan kemudian disebarkan ke dalam larutan sabun karena molekul sabun mengemulsifikasinya. Beberapa kotoran juga dapat dihilangkan dengan tersolubilisasi dalam misel yang dibuat oleh sabun. (Mitsui, 1997)

Sabun memiliki berbagai tingkat kualitas. Sabun grade A biasanya digunakan untuk mandi dan terbuat dari bahan baku minyak atau lemak terbaik dengan sedikit bebas alkali. Sabun grade B terbuat dari bahan baku minyak atau lemak yang lebih rendah dan memiliki sedikit bebas alkali, tetapi kandungan alkalinya tidak menyebabkan iritasi kulit. Sebagian besar orang mencuci pakaian dan piring dengan sabun ini. Sebaliknya, sabun grade C mengandung banyak alkali bebas yang berasal dari bahan baku lemak atau minyak yang berwarna gelap (R et al., 1954)

2.2. Syarat Mutu Sabun Padat

Syarat mutu dirancang untuk membantu industri besar dan industri rumah tangga yang memproduksi sabun mandi membuat sabun yang berkualitas tinggi dan dapat bersaing di pasar lokal. Sifat mutu yang paling penting pada sabun adalah total asam lemak, asam lemak bebas, dan alkali bebas. Semua sifat mutu pada sabun yang dapat dipasarkan harus memenuhi standar mutu sabun SNI 3532:2021, dan parameter tersebut dapat diuji sesuai dengan standar prosedur standar SNI (Aznury et al., 2021)

Tabel 2 1. Syarat Muttu

No.	Parameter Uji	Satuan	Persyaratan Mutu
1.	Kadar air	Fraksi massa, %	Maksimal 23
2.	pH 0,1%	-	6,0-11,0
3.	Total lemak	Fraksi massa, %	Minimal 60,0

4.	Nahan tak larut dalam etanol	Fraksi massa, %	Maksimal 10,0
5.	Alkali bebas (dihitunga sebagai NaOH)	Fraksi massa, %	Maksimal 0,1
6.	Asam lemak bebas (dihitung sebagai asam oleat)	Fraksi massa, %	Maksimal 2,5
7.	Kadar klorida (Cl)	Fraksi massa, %	Maksimal 1,0
8.	Lemak tidak tersabunkan	Fraksi massa, %	Maksimal 0,5
9.	Cemaran mikroba		
9.1	Angka Lempeng Total (ALT)	Koloni/g	Maksimal 1 x 10 ³
9.2	Angka kapang dan khamir	Koloni/g	Maksimal 1 x 10 ³
9.3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Per 0,1 g contoh	Negatif
9.4	<i>Staphylococcus aureus</i>	Per 0,1 g contoh	Negatif
9.5	<i>Candida albicans</i>	Per 0,1 g contoh	Negatif
CATATAN : Alkali bebas atau asam lemak bebas merupakan pilihan bergantung pada sifatnya asam atau basa			

1. Uji pH

Nilai pH adalah nilai yang menunjukkan keasaman suatu zat. Nilai pH dapat mempengaruhi kapasitas adsorpsi kulit dan dapat menyebabkan iritasi kulit. Oleh karena itu, produk sabun padat yang diproduksi harus menyesuaikan

pH kulit. Nilai pH sabun padat yang dipersyaratkan SNI berkisar antara 6,0 – 11,0 (BSN, 2021).

2. Uji tinggi busa

Pengecekan tinggi busa merupakan salah satu cara untuk mengontrol produk deterjen atau surfaktan agar menghasilkan formulasi yang dapat menghasilkan busa (Faikoh & Elok, 2017). Tinggi dan kestabilan busa pada air suling diukur untuk mengetahui tinggi busa yang dihasilkan dan untuk mengetahui kestabilan busa setelah didiamkan selama 5 menit. Hal ini merupakan kemampuan larutan sabun padat 1% dalam akuades untuk membentuk busa setelah dikocok (Apgar & Satrias, 2010)

3. Kadar air

Salah satu parameter yang dapat digunakan untuk mengukur umur simpan suatu produk adalah kadar air. Kadar air yang tinggi menyebabkan reaksi kelebihan air dengan lemak yang tidak disaponifikasi, yang menghasilkan asam lemak bebas dan gliserol selama penyimpanan (Idoko et al., 2010).

Kadar air menggunakan standar yang telah ditentukan oleh SNI 3532:2021. Nilai yang telah dipersyaratkan SNI adalah maksimal 23% (BSN, 2021). Kadar air yang sangat tinggi membuat sabun lebih cepat menyusut beratnya. Jumlah udara yang ditambahkan pada sabun juga mempengaruhi seberapa larut sabun. Semakin banyak udara yang ditambahkan pada sabun, semakin mudah sabun menyusut saat digunakan (Mumpuni & Sasongko, 2017). Sebaliknya, sabun dengan kadar air yang lebih sedikit akan lebih lama bertahan (Habib, et al., 2016)

4. Total lemak

Total asam lemak adalah jumlah lemak sabun yang telah maupun yang tidak mengalami reaksi dengan alkali. Bahan baku minyak nabati yang

digunakan adalah sumber asam lemak dalam sabun. Asam lemak dan trigliserida yang ditemukan dalam minyak dan lemak dapat digunakan untuk membuat sabun (Ningrum et al., 2021).

Lemak yang tidak larut dalam air yang diperoleh dari penguraian sabun dengan asam mineral pada kondisi tertentu, termasuk di dalamnya lemak yang tidak disabunkan (unsaponifiable matter), gliserida, dan asam rosin pada sabun. Pengujian total lemak menggunakan standar yang telah ditentukan oleh SNI, dengan nilai minimal 60,0% (BSN, 2021).

5. Lemak tidak tersabunkan

Lemak tak tersabunkan adalah jumlah lemak pada sabun yang belum mengalami reaksi dengan alkali. Ini menunjukkan seberapa besar bagian sabun yang tidak tersabunkan. Lemak tidak bereaksi dalam proses saponifikasi (Ningrum et al., 2021). Pada pengujian lemak tak tersabunkan menggunakan standar yang sudah ditentukan oleh SNI dengan nilai maksimal 0,5% (BSN, 2021)

6. Kadar klorida

Sabun padat mengandung kadar klorida karena merupakan garam dari asam lemak yang berasal dari lemak hewani atau minyak nabati. Sesuai dengan SNI, sabun adalah garam natrium dan kalium yang terbuat dari asam lemak dan alkali (Ningrum et al., 2021). Pengujian ini menggunakan standar yang ditentukan pada SNI dengan maksimal 1,0% (BSN, 2021)

7. Bahan tak larut dalam etanol

Uji ini melibatkan pelarut sabun dalam etanol, penyaringan, dan penimbangan residu yang tidak larut untuk mengukur jumlah sabun yang tidak larut dalam etanol (Ningrum et al., 2021). Pengujian bahan tak larut dalam etanol menggunakan standar SNI dengan maksimal 10,0% (BSN, 2021)

8. Alkali bebas

Sabun padat berbentuk batang atau padat yang dihasilkan dari reaksi saponifikasi NaOH dengan minyak atau lemak nabati. NaOH merupakan jenis asam yang sangat kuat yang dimilikinya tingkat alkali yang tinggi. Asam bebas merupakan jumlah basa yang bebas dari ikatan dengan asam lemak (Ningrum et al., 2021). Pada pengujian alkali bebas tergantung pada sifatnya, pengujian ini menggunakan standar SNI dengan maksimal 0,1% (BSN, 2021)

9. Asam lemak bebas

Asam lemak bebas adalah asam lemak yang tidak terikat dengan alkali selama pembuatan sabun. Hal ini dapat terjadi karena banyaknya minyak yang digunakan atau karena jumlah alkali dan asam lemak bebas yang tinggi pada sabun (Quinn et al., 2009). Pada pengujian asam lemak bebas tergantung pada sifatnya, pengujian ini menggunakan standar SNI dengan maksimal 2,5% (BSN, 2021)

2.3. Bunga Rosella



Gambar 2. 1. Bunga Rosella

Spesies : *Hibiscus sabdariffa* L.

Kingdom : Plantae

Divisio :Spermatophyta

Famili : Malvaceae

Genus :Hibiscus

Subdivisio :Angiospermae

Kelas : Dicotyledonae

Ordo : Malvaceae

Pada tahun 1576, ahli botani asal Belanda M.de L'Obel menemukan Rosella untuk pertama kalinya di Indonesia, tepatnya di halaman sebuah rumah di Pulau Jawa. Ada kemungkinan bahwa tanaman itu dibawa ke Indonesia oleh pedagang India pada abad ke-14 (Sumarno, 2010). Menurut Rahmawati (2012), nama Rosella telah dikenal di Indonesia sejak tahun 1922. Rosella tumbuh subur di Indonesia terutama selama musim hujan, kelopakinya bermekaran dengan indah. Rosella sangat cantik dan biasanya digunakan sebagai tanaman hias di luar ruangan, pagar, atau bunga rangkai. Rosella, tanaman asli Afrika, sekarang tersebar luas ke negara-negara tropik dan subtropik seperti Amerika Tengah dan India Barat (Rahmawati, 2012).

2.3.1 Morfologi Tanaman Rosella

Tanaman ini adalah semak tegak yang tingginya antara 3 dan 5 meter. Batang dan daunnya berwarna hijau saat masih muda. Batang-batangnya berwarna cokelat kemerahan saat masih berbunga dan beranjak dewasa. Batang berkayu, berbentuk silindris, dan memiliki banyak percabangan. Daun-daun berseling, berwarna hijau, berbentuk bulat telur dengan pertulangan menjari dan tepi meringgit terletak pada batang. Daun memiliki tulang merah dan ujungnya runcing atau bercangap. Daun dapat mencapai panjang hingga 6–15 cm dan lebar hingga 5–8 cm. Akar tunggang adalah akar yang menopang batang (Widyanto, 2008)

2.3.2 Kandungan Bunga Rosella

Kelopak bunga rosella mengandung bahan aktif seperti flavonoid, fenol, polifenol, asam sitrat, saponin, tanin, dan anti oksidan seperti gossyptin, antosianin, dan glucoside hibiscin. Ini adalah alasan mengapa bunga rosella memiliki manfaat ini. Karena flavonoid memiliki kemampuan untuk membentuk senyawa kompleks dengan protein melalui ikatan hidrogen, fenol dan polifenol bertindak sebagai antibakteri dengan mengubah protein sel dan merusak

membran plasma bakteri. Ini menghentikan mikroorganisme untuk berkembang. Tanin berfungsi dengan berbagai cara, termasuk mencegah mikroba membuat enzim, menghilangkan substrat, berikatan dengan dinding sel, menghancurkan membran, dan kompleksasi ion logam. Saponin adalah senyawa alami yang bersifat seperti sabun dan mengandung glikosida. Dengan berinteraksi dengan membrane sterol, saponin menghentikan atau membunuh mikroba. Adanya pelepasan protein dan enzim dari dalam sel adalah efek utama saponin (Mardiah et al., 2009).

Komposisi kimia dalam kelopak bunga rosella tidak mengurangi manfaatnya. Menurut Depkes RI No. 10.65/35.15/05, setiap 100 gram rosella mengandung 486 mg kalsium, omega 3, magnesium, betakaroten, dan asam amino esensial, seperti lisin dan agrinin. Selain itu, bunga rosella memiliki banyak serat, yang membantu menjaga kesehatan saluran pencernaan. Tanaman rosella sangat populer sebagai tanaman obat tradisional karena berbagai kandungannya. Bunga rosella memiliki banyak vitamin, termasuk vitamin A, vitamin C, vitamin D, vitamin B1, dan vitamin B2. Vitamin C-nya, atau asam askorbat, diketahui tiga kali lebih banyak dari anggur hitam, sembilan kali lebih banyak dari jeruk sitrus, sembilan kali lebih banyak dari buah belimbing, dan tiga kali lebih banyak dari jambu biji. Salah satu antioksidan paling penting adalah vitamin C, yang lebih tinggi daripada pada kumis kucing (Widyanto, 2008).

Rosella juga mengandung vitamin B1, B2, niasin, dan vitamin D. 18 dari 22 asam amino yang dibutuhkan tubuh manusia dapat ditemukan dalam bunga rosella. Arginin adalah salah satunya, yang bertanggung jawab atas proses pematangan sel tubuh. Banyak orang menggunakan bunga rosella untuk mengurangi nafsu makan, gangguan pernafasan akibat flu, dan rasa tidak enak di perut. Rosella digunakan untuk mengobati bisul dan radang kulit, luka bakar, sariawan, dan infeksi herpes zoster. Alohidroksi asam sitrat laktat, asam malat, dan asam tartar adalah bahan kimia tanaman ini. Sisyptin, anthocyanin, dan

glucoside hibiscin adalah bahan penting lainnya yang ditemukan dalam tanaman rosela. Rosela memiliki banyak manfaat bagi kesehatan manusia selain menjadi tanaman yang cantik (RI B. , 2010)

Kadungan kimia tanaman bunga rosella (*Hisbiscus sabdariffa* L.) terdeteksi adanya alkaloid, flavanoid, saponin dan tanin, diantara senyawa yang terdeteksi salah satunya mempunyai aktivitas sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli*, *Salmonella typhy* dan *Stapylococcus aureus* (Rostinawati, 2009)

Kelopak bunga rosella mengurangi efek alkohol pada tubuh kita, mencegah pembentukan batu ginjal, dan membunuh jamur/bakteri/parasit penyebab demam tinggi. Ini terjadi karena asam organik, poly-sakarida dan flavonoid yang terkandung dalam ekstrak kelopak bunga Rosella sebagai farmakologi. Kelopak bunga rosella memiliki efek antifungi terhadap koloni *Candida albicans* (Tanjong, 2011)

2.4. Ekstraksi

Ekstraksi menggunakan pelarut cair untuk menghilangkan komponen kimia yang larut untuk memisahkannya dari zat yang tidak larut (Utami, abrianti, Hermansyah, Reza, & Ahmad, 2009). Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi bahan aktif dari simplisia tumbuhan atau hewan dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Seluruh atau hampir seluruh pelarut kemudian diuapkan dan sisa massa atau bubuk diproses hingga memenuhi kriteria yang ditentukan (Utami et al., 2009).

Ada metode ekstraksi menggunakan pelarut: cara dingin dan cara panas. Metode ekstraksi dingin terdiri dari maserasi dan perkolasi, sedangkan metode suhu tinggi diekstraksi dengan cara refluks, Soxhlet, digesti, infus, dan dekok (Indonesia, 2000)

2.4.1 Maserasi

Maserasi adalah proses ekstraksi sederhana dengan menggunakan pelarut dan beberapa kali pengadukan pada suhu kamar. Prosedur ini dilakukan dengan merendam Simplisia dalam pelarut yang sesuai dalam wadah tertutup. Kecepatan ekstraksi dapat ditingkatkan dengan mengaduk. Kekurangan dari maserasi adalah prosesnya memakan waktu yang sangat lama. Ekstraksi yang menyeluruh dapat menghabiskan sejumlah besar pelarut, yang dapat menyebabkan hilangnya metabolit. Beberapa senyawa tidak dapat diekstraksi secara efisien jika kelarutannya rendah pada suhu kamar (270 °C). Ekstraksi maserasi dilakukan pada suhu kamar (270 °C) untuk menghindari degradasi metabolit yang tidak stabil terhadap panas (Kesehatan, 2006).

Selama proses maserasi, isi sel dilarutkan dan dipindahkan ke molekul pelarut melalui difusi melalui ruang antar sel. Gaya kerja adalah perbedaan konsentrasi antara larutan dalam sel dengan pelarut yang mula-mula tidak mengandung bahan aktif. Zat yang terkandung di dalam sel melewati membran ke dalam cairan luar selama difusi sampai tercapai keseimbangan konsentrasi antara larutan di dalam dan di luar sel (Voigt, 1995).

2.4.2 Remaserasi

Variasi maserasi adalah maserasi ulang. Untuk remaserasi, filtrat dibagi menjadi dua bagian dan seluruh serbuk Simplisia dimaserasi dengan filtrat pertama. Filtrat hasil maserasi pertama dimaserasi kembali dengan filtrat kedua (RI D, 1986).

Menurut penelitian Fauzana (2010), hasil rendemen dengan metode pengolahan ulang menunjukkan rendemen tertinggi pada kisaran 15,60% hingga 16,70%. Metode maserasi memiliki rendemen paling rendah dengan nilai berkisar antara 12,20% hingga 12,60%. Metode pengolahan ulang menggunakan lebih banyak pelarut dibandingkan metode maserasi dan memberikan rendemen yang lebih tinggi. Saat mengekstraksi menggunakan metode remaserasi, sisa pelarut adalah pelarut segar dan tak jenuh, sehingga

meningkatkan kapasitas ekstraksi. Larutan jenuh adalah larutan yang mengandung terlalu banyak zat terlarut pada suhu tertentu sehingga kelebihan zat tersebut tidak dapat larut. Kejenuhan menunjukkan bahwa pelarut telah menyeimbangkan zat terlarut, atau larutan tidak mampu lagi melarutkan zat terlarut yang ditambahkan dan konsentrasi telah mencapai titik maksimum (D.L, 2010).

2.4.3 Perkolasi

Perkolasi adalah proses penyarian simplisia dengan melewati pelarutan yang sesuai secara lambat pada simplisia dalam perkolator. Hal ini dilakukan untuk membuat zat berkhasiat tertarik seluruhnya, dan biasanya digunakan untuk zat berkhasiat yang tahan atau tidak tahan terhadap pemanasan (RI D. k., 2006)

2.4.4 Soxhlet

Metode ekstraksi soxhlet meliputi perendaman dan pemanasan sampel. Hal ini menyebabkan dinding dan membran sel pecah karena perbedaan tekanan di dalam dan di luar sel. Oleh karena itu, metabolit sekunder yang terdapat di sitoplasma akan larut dalam pelarut organik. Larutan itu kemudian menguap ke atas dan pendingin melewati udara, mengembunkan uap menjadi tetesan yang kemudian akan terkumpul kembali. Sirkulasi terjadi ketika larutan melewati batas lubang pipa samping soxhlet. Sirkulasi berulang menghasilkan ekstrak yang baik (RI D. k., 2006)

2.4.5 Reflux

Apabila pelarut yang mudah menguap terlibat dalam sintesis, metode refluks digunakan untuk sintesis senyawa anorganik. Dalam situasi ini, pemanasan biasa akan menyebabkan pelarutan menguap sebelum reaksi berakhir (RI D. k., 2006)

2.5. Bakteri *Salmonella typhi*

Kingdom : Bacteria

Filum : Proteobacteria

Ordo : Gamma Proteobacteria

Class : Enterobacteriales

Family : Enterobacteriaceae

Genus : Salmonella

Spesies : *Salmonella enteric*

Subspesies : *enteric I*

Serotipe : *typhi*

Salmonella typhi adalah bakteri gram negatif yang berkapsul, tidak membentuk spora, dan memiliki flagel.

Salmonellatyphi memiliki 3 antigen utama :

- 1) Antigen O, juga dikenal sebagai antigen somatik, terletak pada lapisan luar tubuh bakteri. Bagian ini memiliki endotoksin, atau lipopolisakarida, yang memiliki struktur kimia. Meskipun tidak tahan terhadap formaldehid, antigen ini tahan terhadap suhu panas dan alkohol.
- 2) Antigen H, juga dikenal sebagai antigen flagela, adalah antigen yang ditemukan pada flagela, fimbriae, atau fili kuman. Antigen ini mirip dengan protein dalam bentuk kimia dan tidak tahan terhadap formaldehid, tetapi tidak tahan terhadap panas di atas 60⁰ C, asam, dan alkohol.
- 3) Antigen Vi adalah polimer polisakarida bersifat asam yang berada pada kapsul (envelope) untuk melindungi bakteri salmonella dari fagositosis.

Mayoritas serotipe *Salmonella* tumbuh pada suhu 5–47 °C, dengan suhu terbaik 35–37 °C, namun, beberapa serotipe dapat tumbuh pada suhu serendah 2–4°C atau bahkan sampai 54°C. *Salmonella* sangat sensitif terhadap panas dan dapat mati pada suhu 70⁰ C atau lebih. *Salmonella* tumbuh di pH antara 4 dan 9, dengan tingkat pH yang ideal adalah antara 6,5 dan 7,5. Bakteri ini

membutuhkan aktivitas udara tinggi (aw) 0,99–0,94 (aw air murni = 1,0), tetapi dapat bertahan di aw <0,2, seperti pada makanan kering. Pertumbuhannya akan terhambat pada suhu di bawah 7⁰C, pH di bawah 3,8, atau aktivitas udara <0,94.

2.5.1 Morfologi *Salmonella typhi*

Bakteri *Salmonella typhi* berbentuk batang, tidak berspora, berukuran 103,5 µm x 0,5-0,8 µm, dan koloninya rata-rata 2-4 mm dengan flagela peritrikh. Meskipun bakteri ini tidak memfermentasi glukosa dan manosa menjadi gas, mereka memfermentasi laktosa dan sukrosa. H₂S dihasilkan oleh sebagian besar isolat *Salmonella* dari bahan klinik (Jawetz et al., 2006). Menurut Nugraha (2012), isolat *salmonella typhi* pada media SSA (*salmonella* dan *shigella* agar) menunjukkan koloni yang cembung, transparan, dan bercak hitam di pusat. Koloni ini ditunjukkan pada suhu 37⁰ Celcius. Pasteurisasi, pendidihan, dan khlorinasi menyebabkan bakteri *Salmonella typhi* mati selama 15–20 menit pada suhu 60⁰ C.

2.6. Pengujian Antibakteri

Antibakteri merupakan senyawa yang dapat menghambat proses kehidupan atau bahkan membunuh mikroorganisme pada konsentrasi rendah. Nilai minimum yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan mikroba dan membunuh mikroorganisme disebut nilai penghambatan minimum (MIC) atau tingkat pembunuhan minimum (CBM). Ketika konsentrasi antimikroba meningkat di atas MIC, aktivitas antimikroba spesifik dapat meningkat dari bakteriostatik menjadi bakterisidal.

Tujuan pengujian efektivitas antibakteri adalah untuk mengetahui kemampuan suatu agen antibakteri dalam menghambat atau membunuh bakteri tertentu. Dalam penelitian ini digunakan metode difusi cakram (uji Kirby-Bauer). Kelebihan metode ini adalah mudah dilakukan, tidak memerlukan peralatan khusus, dan relatif murah.

2.6.1 Metode Difusi Cakram (*Kirby-Bauer*)

Metode ini digunakan untuk mengetahui aktivitas agen antimikroba. Lempengan yang berisi zat antibakteri pada piring agar dan sebarkan bakteri ke piring agar, biarkan bakteri menyebar. Adanya zona (area) bening di sekitar kertas cakram menunjukkan bahwa pertumbuhan mikroba dihambat oleh zat antimikroba pada permukaan media agar. Setelah inkubasi, diameter zona hambat transparan di sekitar piringan diukur dengan jangka sorong untuk mengetahui kekuatan inhibisi obat terhadap mikroorganisme uji. Metode ini dipengaruhi oleh beberapa faktor fisik dan kimia, seperti jenis media dan difusi, ukuran dan stabilitas molekul obat, selain faktor obat versus biologis (Jawetz et al., 2005).

2.6.2 Metode Difusi Sumuran

Salah satu cara untuk mengukur sensitivitas terhadap aktivitas antibakteri adalah dengan membuat sumuran pada media uji. Metode sumuran dilakukan dengan membuat lubang dengan ujung berdiameter 6 mm di sekitar media uji. Zat antimikroba uji (ekstrak kirinyuh) ditambahkan ke dalam sumur di atas media padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Setelah diinkubasi selama 24 jam, zona hambat di sekitar sumur dapat diamati (Wulandari & Umam, 2023)