

Aktivitas Antibakteri Fraksi Teraktif Kulit Batang Trengguli (*Cassia fistula* L.) Terhadap *Propionibacterium acnes* Isolat Klinis dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dalam Sediaan Salep

*Antibacterial Activity of the Most Active Fraction of Trengguli Bark (*Cassia fistula* L.) Against *Propionibacterium acnes* Clinical Isolate and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 in Ointment Preparation*

Tiana Milanda^{1*}, Septiyani Mustikawati¹, Anis Yohana Chaerunisaa¹

¹ Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran, Indonesia

ABSTRAK

Infeksi bakteri pada kulit umumnya disebabkan oleh *Propionibacterium acnes* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Tanaman trengguli (*Cassia fistula* L.) diketahui memiliki aktivitas antibakteri yang sangat kuat. Pada penelitian ini dilakukan formulasi sediaan salep antibakteri dari fraksi teraktif kulit batang trengguli. Evaluasi fisik dan uji aktivitas terhadap kedua bakteri uji dilakukan terhadap sediaan dengan pengujian stabilitas setelah 28 hari penyimpanan. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar. Nilai Konsentrasi Hambat Tumbuh Minimum (KHTM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditentukan dengan metode mikrodilusi. Formula salep dibuat dengan konsentrasi fraksi teraktif 2–4 X KHTM. Karakteristik fisik dari sediaan yang diamati meliputi perubahan organoleptik, pH, dan viskositas selama penyimpanan. Profil Kromatografi Lapis Tipis dari fraksi dibandingkan antara sebelum dan setelah dibuat sediaan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi etil asetat sebagai fraksi teraktif memiliki KHTM dan KBM sebesar 175 dan 350 ppm untuk *Propionibacterium acnes*, serta 400 dan 800 ppm untuk *Pseudomonas aeruginosa*. Dari hasil evaluasi terhadap formula dapat disimpulkan bahwa karakteristik fisik dari sediaan salep basis hidrofob dan hidrofil tidak berubah selama 28 hari penyimpanan. Dari kedua jenis salep tersebut, salep basis hidrofil memiliki aktivitas lebih baik dengan diameter zona hambat yang tidak mengalami perubahan selama 28 hari penyimpanan.

ABSTRACT

Generally, skin bacterial infections are caused by *Propionibacterium acnes* and *Pseudomonas aeruginosa*. Trengguli (*Cassia fistula* L.) has already known to have strong antibacterial activity. Formulation of antibacterial ointments containing active fractions of trengguli had been carried out. Evaluation on the physical characteristics and antibacterial activity against both bacteria were also performed including stability study after 28 days of storage. Antibacterial activity were conducted using agar diffusion method. Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) values were determined by microdilution method. Most active fraction with concentration of 2-4 X MIC were formulated as ointments. Physical characteristics evaluation included changes in the organoleptic, pH and viscosity during storage. Thin Layer Chromatography profiles were compared before and after formulation. The result showed that the ethyl acetate fraction as the most active fraction revealed MIC and MBC values of 175 and 350 ppm for *Propionibacterium acnes* while those against *Pseudomonas aeruginosa* were 400 and 800 ppm. From the evaluation on formula, it can be concluded that hydrophobic and hydrophilic ointment base were stable during 28 days of storage. Comparison study on those ointments showed that the hydrophilic base was better than hydrophobic, by showing the unchanged inhibition zone against tested bacteria during the 28 days of storage.

Kata kunci/Keyword : Kulit batang trengguli, salep antibakteri, *Propionibacterium acnes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Trengguli's Barks*, *Antibacterial Ointment*, *Propionibacterium acnes*, *Pseudomonas aeruginosa* .

INFO ARTIKEL

Received: 06 Feb 2021;
Revised: 10 Mar 2021;
Accepted: 15 Apr 2021

* coresponding author: tiana.milanda@unpad.ac.id
DOI: <https://doi.org/10.22437/jisic.v13i1.13049>

PENDAHULUAN

Kulit merupakan bagian terluar dari tubuh manusia yang berhubungan langsung dengan lingkungan sekitar dan berperan sebagai sistem pertahanan pertama terhadap paparan mikroorganisme baik yang bersifat patogen dan non patogen (Cogen *et al.*, 2008; Findley & Grice, 2014). Permukaan kulit yang lembab menyebabkan kulit dapat menjadi media yang baik untuk pertumbuhan bakteri dan meningkatkan resiko terjadinya infeksi kulit (Grice, 2014).

Satu dari banyak bakteri yang seringkali menyebabkan infeksi pada kulit adalah *Propionibacterium acnes* dan *Pseudomonas aeruginosa* (Grice & Segre, 2011). *Propionibacterium acnes* merupakan bakteri Gram positif yang bersifat patogen oportunistik yang sering menyebabkan terjadinya jerawat (*acne vulgaris*) pada kulit (Perry & Lambert, 2006; Contassot & French, 2014). Jerawat (*acne vulgaris*) merupakan peradangan kulit yang umum terjadi dan memengaruhi sekitar 80% individu (Williams *et al.*, 2012). *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri Gram negatif yang juga bersifat patogen oportunistik yang sering menyebabkan infeksi pada kulit yang luka, termasuk luka bakar dan membentuk nanah berwarna biru hijau (Jawetz *et al.*, 2007).

Terapi yang umumnya dilakukan terhadap infeksi kulit akibat bakteri tersebut adalah dengan pemberian antibiotik baik secara oral maupun topikal dan biasanya dikombinasikan dengan bahan-bahan kimia seperti asam salisilat, benzoil peroksida, dan derivat-derivat vitamin A seperti tretinoin dan isotretinoin (Movita, 2013). Namun, penggunaan jangka panjang dari antibiotik seringkali memicu terjadinya resistensi sehingga antibiotik tersebut tidak lagi sensitif terhadap bakteri penyebab infeksi (Oprica, 2004). Oleh sebab itu, maka perlu dilakukan penelitian untuk mencari alternatif zat antibakteri dari bahan alam yang telah dipercaya lebih aman dibandingkan dengan obat-obatan berbahan kimia.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, ekstrak dan fraksi kulit batang trengguli memiliki aktivitas terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Pseudomonas aeruginosa* (Duraipandiyana & Ignacimuthu, 2007; Ahmed & Baig, 2014; Somantri, 2015). Dari pengujian terhadap beberapa fraksi, diketahui bahwa fraksi etil asetat dinilai memiliki aktivitas antibakteri terbaik, dengan nilai KHTM untuk kedua bakteri tersebut sebesar 100 ppm (Duraipandiyana & Ignacimuthu, 2007; Somantri, 2015).

Untuk memudahkan dalam penggunaan dan mengaplikasikan fraksi aktif kulit batang trengguli pada kulit, maka perlu dilakukan formulasi dalam bentuk sediaan topikal, diantaranya adalah sediaan salep. Salep merupakan sediaan yang memiliki waktu kontak yang lebih lama pada kulit dibandingkan sediaan topikal lain sehingga cocok digunakan untuk terapi infeksi kulit yang disebabkan oleh bakteri (Ansel, 2005; Sandhu *et al.*, 2012). Oleh karena itu dilakukan formulasi sediaan salep dengan zat aktif dari fraksi aktif kulit batang trengguli untuk memanfaatkan potensi antibakterinya.

BAHAN DAN METODE

a. Bahan

Bahan Tumbuhan: Bagian tumbuhan yang digunakan berupa kulit batang tumbuhan trengguli (*Cassia fistula* L.) yang diperoleh dari Kebun Tumbuhan Obat Manoko, Lembang, Bandung.

Bahan Kimia : Bahan kimia yang digunakan adalah etanol 70% (Merck), *n*-heksan (Merck), etil asetat (Merck), amonia 10% (Merck), kloroform (Merck), asam klorida 2 N (Merck), pereaksi Mayer, pereaksi Dragendorf, serbuk magnesium, amil alkohol, pereaksi besi (III) klorida, larutan gelatin 1%, eter (Merck), pereaksi vanillin sulfat (larutan vanillin 10% dalam H₂SO₄ pekat), natrium hidroksida 1 N (Merck), DMSO (dimetil sulfoksida) (Merck), NaCl fisiologis 0.9%

steril (Sanbe Farma) dan air suling (Amidis). Bahan-bahan untuk formulasi salep antibakteri adalah asam oleat (Brataco Chemical), Cutina® (Cognis), Emulgin B2 (Cognis), gliserin (Brataco Chemical), metil paraben, parafin cair (Tudapetrol (H & R), PEG 400 (Brataco Chemical), PEG 4000 (Brataco Chemical), propilen glikol (Dow Chemical Pasific), parafin (Brataco Chemical), stearil alkohol (Brataco Chemical), dan vaselinum album (Tudapetrol KG (H & R).

Bakteri Uji: Bakteri yang digunakan adalah *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27583 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Analis Kesehatan Politeknik Kesehatan Bandung dan *Propionibacterium acnes* isolat klinis dari Laboratorium Mikrobiologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran.

Media Pertumbuhan Bakteri: Medium pertumbuhan bakteri yang digunakan adalah *Mueller-Hinton Agar* (Oxoid) dengan konsentrasi 38 g/L dan *Mueller-Hinton Broth* (Oxoid) dengan konsentrasi 21 g/L.

b. Alat

Maserator, rotary evaporator (IKA® RV 10 basic), penangas air (Memmert), desilator toluen (Barstead), corong pisah (Pyrex), plat KLT, Lampu UV 254/366 nm (Camag), neraca analitik (Mettler Toledo, AL204), oven (Memmert 200 dan Memmert 400-800), spatel, inkubator (Sakura, IF-4), autoklaf (Hirayama), ose, mikropipet volume 10-100 µL (Boihit Proline), mikropipet volume 100-1000 µL (Socorex Acura 825), tip mikropipet, perforator, cawan petri (Pyrex), microtiter 96 well plate, pemanas elektrik (Cimarec®), jangka sorong (Tricle Brand), pembakar spiritus, viscometer Rion® VT 04F Manual, pH-indikator strip pH 0-14 universal - Merck®, pH-indikator strip pH 4.0 – 7.0 – Merck Millipore®, serta alat-alat gelas yang umum digunakan di Laboratorium Fitokimia, Mikrobiologi, dan Farmasetika.

c. Metode

Determinasi Tumbuhan dan Penyiapan Simplisia

Determinasi tumbuhan dilakukan di Laboratorium Taksonomi, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Padjadjaran. Simplisia berupa kulit batang tumbuhan trengguli (*Cassia fistula* L.) diperoleh dari Kebun Percobaan Manoko, Lembang, Bandung. Simplisia kulit batang trengguli dikumpulkan dan disortir, kemudian digiling menjadi bagian-bagian yang lebih kecil (serbuk simplisia).

Ekstraksi Simplisia

Simplisia diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70% selama 3 kali 24 jam. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan dilanjutkan dengan penguapan di atas penangas air pada suhu 50°C hingga diperoleh berat ekstrak yang konstan. Seluruh ekstrak akhir yang diperoleh kemudian ditimbang untuk dihitung rendemennya dan dilakukan pula pemeriksaan organoleptik ekstrak, meliputi bentuk, warna, bau, dan rasa dari ekstrak, dilakukan juga penapisan fitokimia ekstrak serta pemeriksaan parameter ekstrak kental meliputi kadar air ekstrak, kadar sari larut air dan kadar sari larut etanol.

Fraksinasi Ekstrak

Sebanyak 20 gram ekstrak ditimbang dan dilarutkan dalam 30 mL etanol 70%, kemudian sebanyak 170 mL air suling ditambahkan sedikit demi sedikit hingga seluruh ekstrak terlarut dan dimasukkan ke dalam corong pisah. Setelah itu, ke dalam corong pisah ditambahkan 200 mL *n*-heksana sebagai pelarut non-polar, kemudian corong dikocok konstan hingga seluruh pelarut dan ekstrak bercampur. Corong pisah didiamkan sampai didapatkan dua fasa cairan yang tidak bercampur. Fraksi *n*-heksana ditampung. Setelah itu ke dalam corong pisah berisi fraksi air ditambahkan 200 mL pelarut semi polar yaitu etil asetat, kemudian corong dikocok konstan hingga seluruh pelarut dan ekstrak bercampur. Fraksi etil asetat ditampung. Masing-masing fraksi yang sudah ditampung dipekatkan dengan *rotary evaporator* kemudian diuapkan dengan menggunakan *waterbath* hingga didapat bobot fraksi yang konstan.

Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak dan berbagai fraksi dari kulit batang trengguli dilakukan dengan metode difusi agar. Sebanyak 500 mg masing-masing ekstrak dan fraksi dilarutkan dalam 10 mL DMSO, sehingga didapat konsentrasi 50.000 ppm. Sebanyak 20 μ L masing-masing suspensi bakteri dan 20 mL MHA yang masih cair dimasukkan ke dalam cawan petri steril, kemudian digoyangkan hingga merata. Setelah didiamkan hingga memadat pada suhu kamar, medium dilubangi dengan menggunakan perforator berdiameter 8 mm. Sebanyak 50 μ L masing-masing ekstrak, fraksi dan 50 μ L DMSO sebagai kontrol negatif dimasukkan ke dalam lubang. Cawan petri diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 18-24 jam, lalu diukur diameter zona hambatnya dan ditentukan fraksi teraktifnya.

Penentuan Konsentrasi Hambat Tumbuh Minimum (KHTM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) Fraksi Teraktif

Penentuan Konsentrasi Hambat Tumbuh Minimum (KHTM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) fraksi teraktif kulit batang trengguli dilakukan menggunakan metode mikrodilusi dengan *microtiter plates 96 wells*. Kolom kesatu diisi 200 μ L MHB sebagai kontrol negatif, sedangkan kolom 2 diisi 100 μ L MHB dan 100 μ L larutan stok fraksi teraktif sebagai kontrol fraksi. Kolom kedua belas diisi dengan 100 μ L MHB dan 10 μ L suspensi bakteri uji sebagai kontrol positif. Kolom ketiga sampai kesebelas diisi dengan 100 μ L MHB. Pengenceran kontrol positif dilakukan dengan cara memipet 100 μ L larutan dari kolom kedua ke dalam kolom ketiga, kemudian dipipet 100 μ L larutan dari kolom ketiga ke kolom keempat, dan seterusnya dengan prosedur yang sama hingga kolom ke sebelas, selanjutnya sebanyak 100 μ L larutan dari kolom kesebelas dibuang. Kolom ketiga berisi fraksi teraktif dengan konsentrasi tertinggi dan kolom kesebelas berisi fraksi teraktif dengan konsentrasi terendah. Sebanyak 10 μ L

suspensi bakteri uji masing-masing dimasukkan ke dalam kolom ketiga sampai kolom ke sebelas. *Microtiter plate* ditutup menggunakan plastik wrap dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.

Kolom berisi fraksi teraktif dengan konsentrasi terkecil yang tidak menunjukkan pertumbuhan bakteri uji ditentukan sebagai nilai KHTM. Penentuan nilai KBM dilakukan dengan memipet 10 μ L larutan dari setiap kolom yang bening ke dalam 10 mL MHA dalam cawan petri, lalu diratakan dengan menggunakan *spreader*. Setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam, diamati ada tidaknya pertumbuhan bakteri. Konsentrasi terkecil fraksi teraktif yang tidak menunjukkan pertumbuhan bakteri uji ditentukan sebagai nilai KBM.

Analisis Profil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak dan Fraksi Teraktif

KLT dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa kimia di dalam ekstrak dan fraksi teraktif. Analisis KLT menggunakan fase diam berupa pelat silika gel GF 254 dan fase gerak berupa kombinasi pelarut toluen : etil asetat : asam format dengan perbandingan 5:4:1. Pelat gel disiapkan dengan ukuran 10 cm x 3 cm, kemudian ekstrak dan fraksi teraktif ditotolkan ditempat yang berbeda pada garis awal (berjarak 1 cm) menggunakan pipa kapiler. Pelat silika kemudian dimasukkan ke dalam bejana kromatografi yang sebelumnya telah dijenuhkan dengan cairan pengembang. Proses kromatografi dihentikan ketika cairan pengembang mencapai garis akhir. Pola kromatogram diamati pada sinar tampak, di bawah lampu UV 254 dan 366 nm. Setiap bercak yang teramati dihitung nilai R_f nya.

Formulasi Salep Antibakteri

Berdasarkan hasil orientasi basis, ditetapkan 2 formula basis salep yang paling stabil. Formulasi sediaan salep antibakteri dilakukan dengan menambahkan fraksi teraktif kulit batang trengguli (*Cassia fistula* L.) sebanyak 2 – 4 kali KHTM (Tabel 1 dan Tabel 2). Sebagai blanko, dibuat juga basis salep tanpa penambahan fraksi aktif.

Tabel 1. Formula Salep Hidrofob

Komponen Salep	Formula (%)			
	F0	F1	F2	F3
Fraksi teraktif	-	2x KHTM	3x KHTM	4x KHTM
Stearil alkohol	2.2	2.2	2.2	2.2
Paraffin	0.8	0.8	0.8	0.8
Paraffin cair	20	20	20	20
Vaselin album ad	100	100	100	100

Tabel 2. Formula Salep Hidrofil

Komponen Salep	Formula (%)			
	F0	F1	F2	F3
Fraksi teraktif	-	2x KHTM	3x KHTM	4x KHTM
PEG 4000	40	40	40	40
PEG 400	30	30	30	30
Propilen glikol	15	15	15	15
Metil Paraben	0.2	0.2	0.2	0.2
Air suling ad	100	100	100	100

Evaluasi Sediaan Salep

Evaluasi sediaan salep meliputi pengamatan organoleptik, pengamatan perubahan viskositas, dan pengamatan perubahan pH. Hasil pengamatan organoleptis, viskositas, dan pH selanjutnya dianalisis dengan ANOVA (Analysis of Variance) Satu Arah untuk melihat apakah ada pengaruh penambahan fraksi teraktif terhadap sediaan salep.

Analisis Profil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Sediaan Salep

KLT sediaan dilakukan untuk melihat kandungan fraksi di dalam sediaan. Analisis KLT menggunakan metode yang dijelaskan pada point 3.

Uji Aktivitas Sediaan Salep

Uji aktivitas antibakteri sediaan salep terhadap *Propionibacterium acnes* dan *Pseudomonas aeruginosa* dilakukan menggunakan metode difusi agar dengan

metode perforasi. Sebanyak 20 mL MHA dimasukkan ke dalam cawan petri steril, didiamkan hingga memadat pada suhu kamar, kemudian 20 μ L suspensi bakteri dimasukkan dan diratakan di atas permukaan agar dengan menggunakan *spreader*. Setelah itu, agar dilubangi dengan perforator 8 mm, lalu ke dalam lubang-lubang tersebut diisi dengan sediaan salep dengan variasi konsentrasi fraksi teraktif kulit batang trengguli (basis, 2 x KHTM, 3 x KHTM, dan 4 x KHTM) masing-masing untuk salep hidrofil dan hidrofob. Cawan petri ini kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 18 – 24 jam lalu diukur diameter zona hambatnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Determinasi Tumbuhan dan Penyiapan Simplisia

Hasil determinasi tumbuhan yang dilakukan di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran menunjukkan bahwa tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah trengguli (*Cassia fistula* L.) dari famili *Fabaceae*

Hasil Ekstraksi Simplisia

Hasil pengamatan organoleptik ekstrak menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit batang trengguli berupa cairan kental, berwarna coklat tua, berbau khas trengguli, serta berasa pahit. Hasil penapisan fitokimia ekstrak etanol kulit batang trengguli dapat dilihat pada tabel 3 yang menunjukkan bahwa dalam ekstrak etanol kulit batang trengguli terkandung golongan metabolit sekunder polifenol, saponin, flavonoid, monoterpenoid dan seskuiterpenoid, serta kuinon. Hasil penapisan fitokimia ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Seasotiya *et al.* (2014) mengenai evaluasi fitokimia tumbuhan trengguli (*Cassia fistula*).

Tabel 3. Hasil penapisan fitokimia simplisia kulit buah manggis

Golongan Senyawa Kimia	Hasil Pengujian
Alkaloid	-
Tanin	-
Polifenolat	+
Saponin	+
Flavonoid	+
Monoterpenoid dan Seskuiterpenoid	+/+
Steroid	-
Triterpenoid	-
Kuinon	+

Keterangan : (+) = terdeteksi

(-) = tidak terdeteksi

Hasil pemeriksaan parameter ekstrak menunjukkan bahwa kadar air ekstrak etanol kulit batang trengguli sebesar 9.955%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak tersebut telah memenuhi persyaratan standar kadar air. Persyaratan kadar air ekstrak menurut parameter standar yang dikeluarkan oleh Dirjen POM adalah tidak lebih dari 10% (Depkes, 2000).

Hasil penentuan kadar sari larut air diketahui bahwa kadar sari larut air ekstrak etanol kulit batang trengguli sebesar 76,765 % b/b. Hal ini menunjukkan bahwa 76,765% senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol kulit batang trengguli merupakan senyawa yang bersifat polar sehingga larut dalam air.

Hasil penentuan kadar sari larut etanol diketahui bahwa kadar sari larut etanol yang lebih besar dari kadar sari larut air menunjukkan bahwa jumlah senyawa kurang polar (semi polar maupun non polar) yang dapat terlarut dalam etanol, lebih besar dibandingkan dengan jumlah senyawa polar yang dapat terlarut dalam air.

Hasil Fraksinasi Ekstrak

Fraksinasi ekstrak etanol kulit batang trengguli dilakukan melalui proses ekstraksi cair-cair (ECC) menggunakan 3 pelarut yang berbeda kepolarannya, yaitu n-heksana, etil asetat, dan air. Dari 60.8 g ekstrak etanol, diperoleh 3 fraksi sesuai dengan Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Fraksinasi Ekstrak Etanol Kulit Batang Trengguli

Fraksi	Bobot Fraksi (g)	Rendemen (%)
<i>n</i> -Heksana	0.44	0.724
Etil Asetat	19.37	31.86
Air	8.48	13.95

Hasil pengamatan organoleptik terhadap ketiga fraksi menunjukkan bahwa fraksi air berbentuk cairan kental, berwarna coklat tua, berbau khas. Fraksi etil asetat berbentuk serbuk berwarna coklat kemerahan, berbau khas. Fraksi *n*-heksana berbentuk cairan kental, berwarna hijau tua.

Hasil Uji Aktivitas Ekstrak dan Fraksi

Berdasarkan hasil uji aktivitas diketahui bahwa ekstrak dan fraksi kulit batang trengguli memiliki aktivitas terhadap bakteri uji. Dari ketiga fraksi yang diuji, fraksi etil asetat memiliki aktivitas antibakteri paling tinggi yang ditunjukkan dengan diameter zona hambat yang paling besar dibandingkan dengan fraksi *n*-heksana dan fraksi air sehingga fraksi etil asetat dipilih sebagai fraksi teraktif.

Tabel 5. Hasil pengujian aktivitas ekstrak dan fraksi kulit batang trengguli pada konsentrasi 50.000 ppm terhadap *P. acnes* dan *P. aeruginosa*

Sampel	Diameter Zona Hambat (mm)*	
	<i>P. acnes</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Ekstrak	18.6	16.4
Fraksi <i>n</i> -heksana	13.5	-
Fraksi etil asetat	21.2	19.6
Fraksi air	17.2	15.5

Keterangan:

(-) = tidak memberikan zona hambat

*Diameter lubang 8 mm

Hasil Penapisan Fitokimia Fraksi Teraktif

Penapisan fitokimia fraksi dilakukan untuk mengetahui golongan metabolit sekunder yang terkandung dalam fraksi teraktif, yaitu fraksi etil asetat. Berdasarkan penapisan fitokimia fraksi dari ekstrak etanol kulit batang trengguli, diperoleh hasil pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil penapisan fitokimia fraksi teraktif

Golongan Senyawa Kimia	Hasil pengujian Fraksi Etil Asetat
Alkaloid	-
Tanin	-
Polifenol	+
Saponin	-
Flavonoid	+
Monoterpenoid dan Seskuiterpenoid	-/-
Steroid	-
Triterpenoid	-
Kuinon	+

Keterangan: (+) = terdeteksi
(-) = tidak terdeteksi

Berdasarkan tabel 6 diatas diketahui bahwa fraksi etil asetat kulit batang trengguli mengandung senyawa dari golongan polifenol, flavonoid, dan kuinon.

Hasil Penentuan Konsentrasi Hambat Tumbuh Minimum (KHTM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) Fraksi Teraktif

Penentuan KHTM fraksi teraktif dilakukan untuk mengetahui konsentrasi terkecil dari fraksi tersebut yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji, yaitu *Propionibacterium acnes* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Setelah diinkubasi hasil menunjukkan bahwa pada konsentrasi 175 ppm terlihat adanya penghambatan pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* dimana bakteri tersebut tidak tumbuh dalam well berisi larutan fraksi, namun masih dapat tumbuh setelah di subkultur ke media yang baru, sehingga KHTM fraksi untuk *Propionibacterium acnes* terletak pada konsentrasi 175 ppm. KBM terletak pada konsentrasi 350 ppm karena konsentrasi tersebut merupakan konsentrasi terkecil yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri, sehingga dinyatakan sebagai KBM.

Hasil pengamatan memperlihatkan bahwa pada konsentrasi 400 ppm terlihat adanya penghambatan pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dimana bakteri tersebut tidak tumbuh dalam well berisi larutan fraksi, namun masih dapat tumbuh

setelah di subkultur ke media yang baru, sehingga KHTM fraksi untuk *Pseudomonas aeruginosa* terletak pada konsentrasi 400 ppm. KBM terletak pada konsentrasi 800 ppm karena konsentrasi tersebut merupakan konsentrasi terkecil yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri, sehingga dinyatakan sebagai KBM.

Hasil Analisis Profil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak dan Fraksi Teraktif

KLT dilakukan dengan fase diam silica gel GF254 dan fase gerak toluen : etil asetat : asam format (5 : 4 : 1). Profil KLT ekstrak dan fraksi diamati dibawah sinar UV 254nm dan UV 366nm. Hasil KLT dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil pola kromatogram lapis tipis (klt) ekstrak dan fraksi teraktif kulit batang trengguli

Sampel	No. Bercak	R _f	Sinar Tampak	Sinar UV	
				254 nm	366 nm
Ekstrak	1	0.39	-	-	Biru
	2	0.49	-	-	Biru
	3	0.55	-	-	Merah
	4	0.76	-	-	Merah
Fraksi Etil Asetat	1	0.50	-	-	Biru
	2	0.64	-	-	Biru
	3	0.69	-	-	Merah
	4	0.90	-	-	Merah

Keterangan: (-) = tidak terdeteksi

Hasil Formulasi Sediaan Salep

Berdasarkan hasil formulasi sediaan salep antibakteri bahwa kedua basis salep, salep basis hidrofob maupun salep basis hidrofil dapat bercampur dengan baik dengan fraksi aktif kulit batang trengguli membentuk sediaan yang homogen

Hasil Evaluasi Sediaan Salep

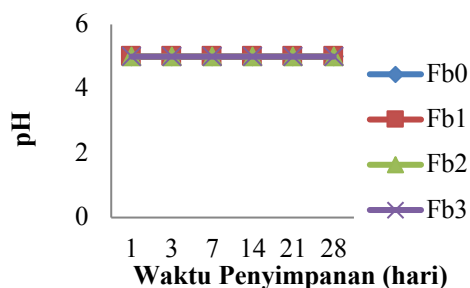
Pengamatan Perubahan Organoleptik

Berdasarkan pengamatan perubahan organoleptis sediaan didapatkan hasil bahwa sediaan salep berbasis hidrofob maupun basis hidrofil dengan berbagai konsentrasi fraksi teraktif kulit batang trengguli (*Cassia fistula* L.) cukup stabil, karena tidak mengalami

perubahan konsistensi, warna, dan bau selama 28 hari masa penyimpanan.

Pengamatan Perubahan pH

Hasil pengamatan perubahan pH sediaan salep dengan berbagai konsentrasi fraksi teraktif kulit batang trengguli (*Cassia fistula* L.) dapat dilihat pada Gambar 1 dan 2.



Gambar 1. Grafik perubahan pH berbagai sediaan salep antibakteri berbasis hidrofob selama 28 hari penyimpanan

Keterangan:

Fb0 : Salep hidrofob tanpa bahan aktif

Fb1 : Salep hidrofob dengan konsentrasi bahan aktif 2 x KHTM

Fb2 : Salep hidrofob dengan konsentrasi bahan aktif 3 x KHTM

Fb3 : Salep hidrofob dengan konsentrasi bahan aktif 4 x KHTM

Dari kedua grafik tersebut dapat disimpulkan bahwa salep dengan berbagai konsentrasi fraksi teraktif kulit batang trengguli (*Cassia fistula* L.) cukup stabil, karena tidak mengalami perubahan pH selama masa penyimpanan, pH dari kedua jenis salep pun sesuai dengan rentang pH kulit yaitu 4.0 – 7.0 (Lambers *et al.*, 2006). Dari nilai pH sediaan yang cenderung stabil tersebut dapat disimpulkan bahwa tidak ada pengaruh dari penambahan fraksi teraktif terhadap pH sediaan salep baik dengan basis hidrofob maupun basis hidrofil.



Gambar 2. Grafik perubahan pH berbagai sediaan salep antibakteri berbasis hidrofil selama 28 hari penyimpanan

Keterangan:

Fd0 : Salep hidrofil tanpa bahan aktif

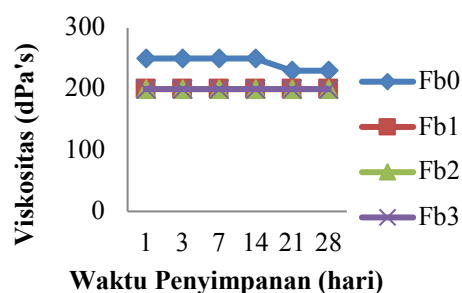
Fd1 : Salep hidrofil dengan konsentrasi bahan aktif 2 x KHTM

Fd2 : Salep hidrofil dengan konsentrasi bahan aktif 3 x KHTM

Fd3 : Salep hidrofil dengan konsentrasi bahan aktif 4 x KHTM

Pengamatan Perubahan Viskositas

Hasil pengamatan viskositas sediaan salep dengan berbagai konsentrasi fraksi teraktif kulit batang trengguli (*Cassia fistula* L.) dapat dilihat pada Gambar 3 dan Gambar 4.



Gambar 3. Grafik perubahan viskositas berbagai sediaan salep antibakteri berbasis hidrofob selama 28 hari penyimpanan

Keterangan:

Fb0 : Salep hidrofob tanpa bahan aktif

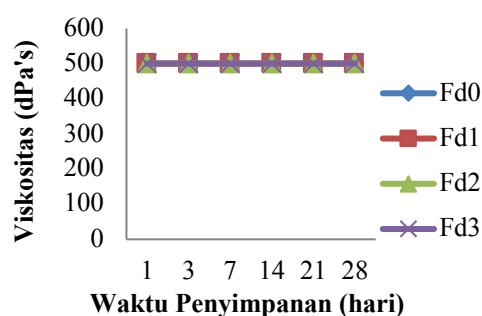
Fb1 : Salep hidrofob dengan konsentrasi bahan aktif 2 x KHTM

Fb2 : Salep hidrofob dengan konsentrasi bahan aktif 3 x KHTM

Fb3 : Salep hidrofob dengan konsentrasi bahan aktif 4 x KHTM

Pada awal penyimpanan, viskositas sediaan salep berbasis hidrofob memiliki viskositas lebih kecil dibandingkan dengan sediaan salep berbasis hidrofil. Sediaan salep basis hidrofob tanpa penambahan fraksi memiliki viskositas awal 250 dPa's, viskositas ini sedikit menurun pada hari ke-21 menjadi 230 dPa's. Sediaan salep basis hidrofob dengan penambahan fraksi memiliki viskositas awal 200 dPa's dan tetap stabil selama 28 hari masa penyimpanan, hal tersebut menunjukkan bahwa penambahan fraksi berpengaruh terhadap viskositas sediaan salep basis hidrofob.

Perhitungan statistik yang menggunakan metode Anova Satu Arah Desain Blok Lengkap Acak (DBLA) dengan taraf kepercayaan 0.05 ($\alpha = 0.05$), didapatkan hasil H_0 ditolak, sehingga disimpulkan bahwa penambahan fraksi teraktif kulit batang trengguli (*Cassia fistula* L.) berpengaruh terhadap viskositas sediaan salep dengan basis hidrofob.



Gambar 4. Grafik perubahan viskositas berbagai sediaan salep antibakteri berbasis hidrofil selama 28 hari penyimpanan

Keterangan:

Fd0 : Salep hidrofil tanpa bahan aktif

Fd1 : Salep hidrofil dengan konsentrasi bahan aktif 2 x KHTM

Fd2 : Salep hidrofil dengan konsentrasi bahan aktif 3 x KHTM

Fd3 : Salep hidrofil dengan konsentrasi bahan aktif 4 x KHTM

Pada Gambar 4.4 dapat dilihat bahwa viskositas sediaan salep dengan basis hidrofil (dengan atau tanpa fraksi teraktif kulit batang trengguli) memiliki viskositas awal 500 dPa's, dan viskositas ini stabil selama 28 hari masa penyimpanan, hal tersebut

menunjukkan bahwa penambahan fraksi tidak berpengaruh terhadap viskositas sediaan salep basis hidrofil. Dilihat dari pengaruh dari penambahan fraksi terhadap viskositas sediaan salep dengan kedua jenis basis diatas, dapat ditarik kesimpulan bahwa pengaruh penambahan fraksi terhadap viskositas sediaan salep berbeda-beda tergantung basis salep yang digunakan dan komponen-komponen di dalam basis karena kemungkinan adanya interaksi antara basis dengan fraksi teraktif kulit batang trengguli (*Cassia fistula* L.).

Hasil Analisis Profil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Sediaan Salep

Analisis profil KLT sediaan salep dilakukan sebagai uji kualitatif dari sediaan untuk menegaskan bahwa di dalam sediaan salep terkandung fraksi teraktif kulit batang trengguli. Pengembangan yang digunakan dalam analisis profil KLT sediaan salep ini adalah toluen : etil asetat : asam format (5 : 4 : 1). Hasil analisis profil KLT sediaan salep dapat dilihat pada Gambar 5.

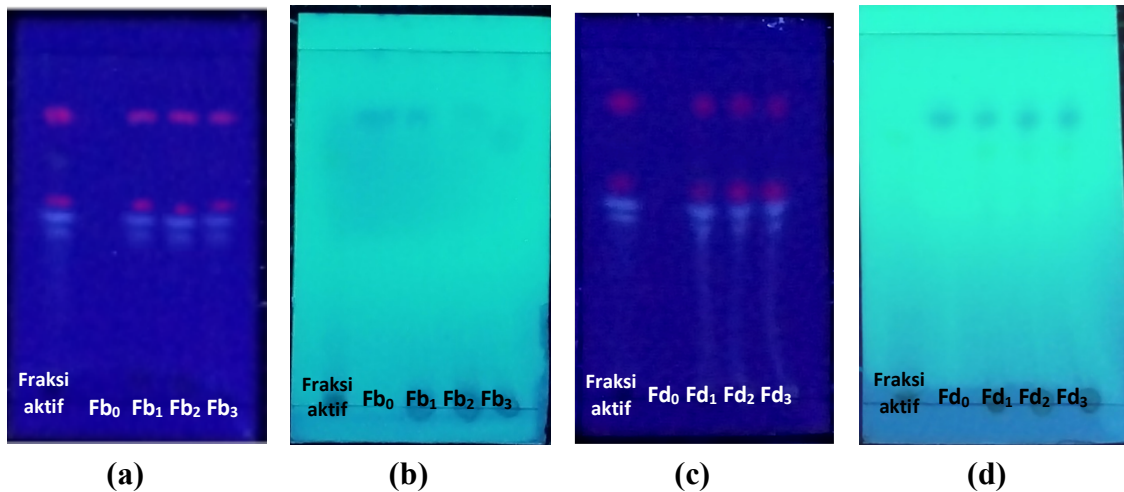
Dari gambar tersebut diketahui bahwa fraksi aktif dan salep hidrofob Fb₁, Fb₂, Fb₃ memiliki jumlah dan warna bercak beserta R_f yang serupa, hal ini berarti pada salep Fb₁, Fb₂, Fb₃ mengandung fraksi aktif karena memiliki pola KLT yang serupa dengan sampel pembanding (fraksi aktif). Salep hidrofob Fb₀ tidak menampilkan bercak apapun karena salep hidrofob Fb₀ tidak mengandung fraksi aktif. Pada hari ke-1 dan hari ke-28 pola KLT sediaan salep basis hidrofob masih sama, hal ini berarti sediaan salep antibakteri dengan basis hidrofob masih mengandung fraksi teraktif kulit batang trengguli (*Cassia fistula* L.).

Berdasarkan hasil KLT, diketahui bahwa fraksi aktif dan sediaan salep basis hidrofil Fd₁, Fd₂, Fd₃ memiliki jumlah dan warna bercak beserta R_f yang serupa, hal ini berarti pada salep Fd₁, Fd₂, Fd₃ mengandung fraksi aktif karena memiliki pola KLT yang serupa dengan sampel pembanding (fraksi aktif). Pada pola KLT sediaan salep basis hidrofil formula 0, formula 1, formula 2, dan formula 3 terdapat bercak baru yang tampak pada sinar UV 254 nm, bercak tersebut merupakan bercak dari basis salep hidrofil

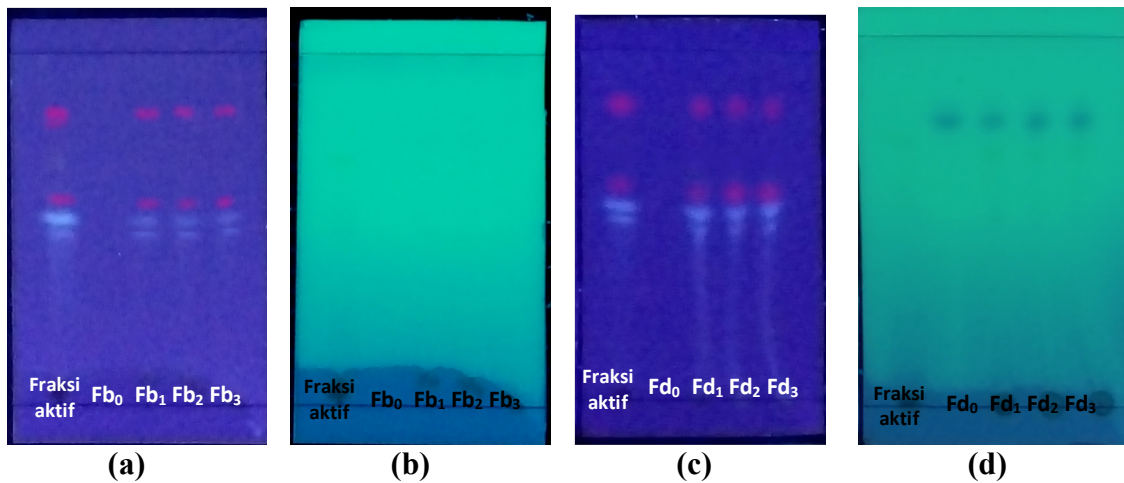
yang terlarut pada proses pemisahan fraksi dari sediaan saat preparasi analisis profil KLT. Pada hari ke-1 dan hari ke-28 pola KLT sediaan salep basis hidrofil masih sama, hal

ini berarti sediaan salep antibakteri dengan basis hidrofil masih mengandung fraksi teraktif kulit batang trengguli (*Cassia fistula* L.).

Hari ke-1



Hari ke-28



Gambar 5. Hasil analisis profil kromatografi lapis tipis sediaan salep antibakteri

- (a) Salep anti bakteri dengan basis hidrofob (2 – 4 X KHTM) 366 nm
- (b) Salep anti bakteri dengan basis hidrofob (2 – 4 X KHTM) 254 nm
- (c) Salep anti bakteri dengan basis hidrofil (2 – 4 X KHTM) 366 nm
- (d) Salep anti bakteri dengan basis hidrofil (2 – 4 X KHTM) 254 nm

Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Sediaan Salep

Hasil pengujian aktivitas antibakteri dari sediaan salep dengan basis hidrofob menunjukkan bahwa sediaan salep dengan basis tersebut tidak memiliki aktivitas terhadap bakteri uji. Hal ini dapat terjadi karena basis salep yang bersifat hidrofob

menyebabkan fraksi teraktif kulit batang trengguli (*Cassia fistula* L.) kesulitan untuk berdifusi kedalam media agar yang bersifat hidrofil sehingga sediaan salep dengan basis hidrofob tidak mampu memberikan aktivitas terhadap bakteri uji tersebut.

Berbeda dengan sediaan salep berbasis hidrofob, sediaan salep berbasis hidrofil

mampu memberikan aktivitas antibakteri yang cukup baik terhadap bakteri uji. Hal ini disebabkan karena semua komponen-komponen yang terdapat dalam salep yang bersifat hidrofil sehingga didalam media agar yang mengandung air sediaan salep basis hidrofil ini akan melarut secara perlahan sehingga memudahkan fraksi teraktif kulit batang trengguli (*Cassia fistula* L.) untuk berdifusi kedalam media agar dan memberikan aktivitas terhadap bakteri uji. Hasil pengujian aktivitas antibakteri dari sediaan salep dengan basis hidrofil dapat dilihat pada Tabel 6.

Dari data yang ditunjukkan tabel diatas dapat dilihat bahwa selama 28 hari penyimpanan, sediaan salep basis hidrofil masih memberikan aktivitas terhadap bakteri uji. Semakin tinggi konsentrasi fraksi teraktif kulit batang trengguli (*Cassia fistula* L.) di dalam sediaan, semakin besar zona hambat yang diberikan oleh sediaan salep basis hidrofil. Selain dilakukan uji aktivitas pada sediaan salep juga dilakukan uji aktivitas terhadap fraksi teraktif (etil asetat) pada konsentrasi tertinggi pada sediaan yaitu pada konsentrasi 1.600 ppm (4 x KHTM) dimana zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Propionibacterium acnes* sebesar 14.1 mm sedangkan pada *Pseudomonas aeruginosa* sebesar 17.5 mm. Pada bakteri *Propionibacterium acnes* sediaan salep basis hidrofil dengan konsentrasi bahan aktif 2 - 4 x KHTM memberikan zona hambat yang lebih besar dibandingkan dengan kontrol fraksi aktifnya. Hal ini disebabkan karena pengaruh dari basis salep hidrofil yang mengandung Polietilenglikol (PEG). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Hatmoko *et al.* (2015) penambahan PEG 400 dapat meningkatkan aktivitas antibakteri salep, hal ini disebabkan PEG 400 dapat membantu meningkat laju difusi senyawa aktif dalam sediaan salep dengan menurunkan viskositasnya sehingga dapat meningkatkan daya antibakteri dari fraksi teraktif kulit batang trengguli (*Cassia fistula* L.).

Pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, diameter hambat yang dihasilkan oleh kontrol fraksi aktif 1600 ppm tidak jauh berbeda dengan yang dihasilkan pada sediaan salep basis hidrofil dengan konsentrasi bahan aktif 1.600 ppm (4 x KHTM) yaitu sebesar ± 17.7 mm sehingga dapat dikatakan bahwa fraksi teraktif kulit batang trengguli (*Cassia fistula* L.) di dalam sediaan salep basis hidrofil terdifusi dengan baik ke dalam media agar. **Tabel 6.** Hasil Uji Aktivitas Salep Hidrofil Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Pseudomonas aeruginosa*

Sampel	Diameter Zona Hambat (mm)*			
	<i>P. acnes</i>		<i>P. aeruginosa</i>	
	Hari ke-1	Hari ke-28	Hari ke-1	Hari ke-28
Fd ₀	-	-	-	-
Fd ₁	15,2	15,1	15,6	15,6
Fd ₂	16	15,8	15,9	15,8
Fd₃	17	16,8	17,7	17,6

Keterangan:

- Fd₀ = Salep hidrofil tanpa bahan aktif
- Fd₁ = Salep hidrofil dengan konsentrasi bahan aktif 2 x KHTM
- Fd₂ = Salep hidrofil dengan konsentrasi bahan aktif 3 x KHTM
- Fd₃ = Salep hidrofil dengan konsentrasi bahan aktif 4 x KHTM

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian didapatkan bahwa ekstrak dan fraksi kulit batang trengguli (*Cassia fistula* L.) memiliki aktivitas terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan fraksi etil asetat sebagai bahan uji yang memberikan aktivitas antibakteri terbaik. Konsentrasi Hambat Tumbuh Minimum (KHTM) dari fraksi etil asetat terletak pada konsentrasi 175 ppm untuk bakteri *P. acnes* dan 400 ppm untuk bakteri *P. aeruginosa*. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari fraksi etil asetat terletak pada konsentrasi 350 ppm untuk bakteri *P. acnes* dan 800 ppm untuk bakteri *P. aeruginosa*. Sediaan salep dengan basis hidrofob dan hidrofil yang mengandung fraksi etil asetat kulit batang trengguli (2 - 4 X KHTM) stabil secara

organoleptis, pH, dan viskositas, namun sediaan salep basis hidrofob tidak memiliki aktivitas terhadap bakteri uji karena fraksi aktifnya tidak dapat berdifusi ke dalam media agar. Berbeda dengan salep basis hidrofob, sediaan salep dengan basis hidrofil memiliki aktivitas terhadap kedua bakteri uji sehingga pada formulasi sediaan salep antibakteri yang

mengandung fraksi etil asetat kulit batang trengguli sebaiknya dipilih basis dengan sifat hidrofilisitas tinggi seperti polietilenglikol (PEG) yang membantu meningkat laju difusi fraksi etil asetat sehingga dapat meningkatkan daya antibakteri dari fraksi terhadap bakteri uji.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, S. A. dan M. M. V. Baig. 2014. In Vitro Antimicrobial Activity of Leaf and Bark Extract of *Cassia Fistula* L. *International Journal of Biosciences* 4(1): 231 - 237.
- Ansel, H. C. 2005. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Jakarta: UI Press.
- Cogen, A. L., V. Nizet, dan R. L. Gallo. 2008. Skin Microbiota: A Source of Disease or Defence? *Br J Dermatol* 158(3): 442 - 455.
- Contassot, E. dan L. E. French. 2014. New Insights into Acne Pathogenesis: Propionibacterium Acnes Activates the Inflammasome. *Journal of Investigative Dermatology* 134: 310 - 313.
- Depkes. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. D. J. P. O. d. Makanan. Jakarta: 3 - 38.
- Draelos, Z. D., A. Potts, dan A. B. Aliós. 2010. Randomizedvtolerability Analysis of Clindamycin Phosphate 1.2%-Tretinoin 0.025% Gel Used with Benzoyl Peroxide Wash 4% for Acne Vulgaris. *Cutis* 86: 310 - 318.
- Duraipandiyani, V. dan S. Ignacimuthu. 2007. Antibacterial and Antifungal Activity of *Cassia Fistula* L.: An Ethnomedicinal Plant. *Journal of Ethnopharmacology* 112: 590 - 594.
- Findley, K. dan E. A. Grice. 2014. The Skin Microbiome: A Focus on Pathogens and Their Association with Skin Disease. *PLOS Pathogens* 10(11): 1 - 3.
- Grice, E. A. 2014. The Skin Microbiome: Potential for Novel Diagnostic and Therapeutic Approaches to Cutaneous Disease. *Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery* 33: 1085 - 5629.
- Grice, E. A. dan J. A. Segre. 2011. The Skin Microbiome. *Nat Rev Microbiol* 9(4): 244 - 253.
- Hatmoko, B. D., Suprpto, dan R. Munawaroh. 2015. *Optimasi Formula Salep Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (Garcinia Mangostana Linn.) Basis Peg 400 Dan Peg 4000 Dengan Metode Desain Faktorial*. [SKRIPSI]. Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Jawetz, Melnick, dan Adelberg. 2007. *Medical Microbiology 24 Edition*. United State: McGraw-Hill Companies.
- Kar, A. 2008. *Pharmaceutical Microbiology*. New Delhi: New Age International (P) Ltd., Publishers.
- Lambers, H., S. Piessens, A. Bloem, H. Pronk, dan P. Finkel. 2006. Natural Skin Surface Ph Is on Average Below 5, Which Is Beneficial for Its Resident Flora. *International Journal Cosmetic Science* 28(5): 359 - 370.

- Movita, T. 2013. Acne Vulgaris. *CDK-202* 40(4): 269 - 272.
- Omoya, F. O., B. E. Boboye, dan F. A. Akinyosoye. 2009. Mosquito-Degradative-Potential of Cockroach and Mosquito Borne Bacteria. *Journal of Medical Sciences* 9: 202 - 207.
- Oprica, C. 2004. Antibiotic Resistant *Propionibacterium Acnes* on the Skin of Patient with Moderate to Severe Acne. *Journal of Pharmacology* 10(3): 155 - 164.
- Perry, A. L. dan P. A. Lambert. 2006. *Propionibacterium Acnes*. *Journal Compilation Letters in Applied Microbiology* 42: 185 - 188.
- Poole, K. 2004. Efflux-Mediated Multiresistance in Gram-Negative Bacteria. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 10(1): 12 - 26.
- Raj, M. S. dan P. Roselin. 2012. The Antibacterial Activity of ZnO Nanoparticles against *Propionibacterium Acnes*. *International Journal of Pharma and Bio Sciences* 3(1): 267 - 276.
- Sandhu, P., A. Bilandi, et al. 2012. Additives in Topical Dosage Form. *International Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences* 2(1): 78 - 96.
- Seasotiya, L., P. Siwach, A. Malik, Sheema Bai, dan P. B. S. Dalal. 2014. Phytochemical Evaluation and Hptlc Fingerprint Profile of *Cassia Fistula*. *International Journal Of Advances In Pharmacy, Biology And Chemistry* 3(3): 604 - 611.
- Shinkafi, S. A. dan H. Ndanusa. 2013. Antibacterial Activity of Citrus Limon on Acne Vulgaris (Pimples). *International Journal* 2(5): 397 - 409.
- Soemiati, A., E. Hanani, M. Radji, dan Nelly. 1997. Pemeriksaan Pendahuluan Daya Antibakteri Trengguli Terhadap Kuman Penyakit Kulit. *Warta Tumbuhan Indonesia* 3(4): 32 - 34.
- Somantri, A. E. 2015. *Formulasi Dan Uji Aktivitas Gel Antibakteri Dari Fraksi Aktif Kulit Batang Trengguli (Cassia Fistula L.)*. [SKRIPSI]. Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Jatinangor
- Williams, H. C., R. P. Dellavalle, dan S. Garner. 2012. Acne Vulgaris. *Lancet* 379: 361 - 362.