



Antibacterial Activity Test of Olive Leaf (*Olea europaea* L.) Extract Eyes Ointment on The Growth of *Staphylococcus aureus*

Nurhidayati Harun^{1*}, Ahfira P. Hariandja¹, Susan S. Ramdani¹

¹STIKes Muhammadiyah Ciamis, Jl. K.H. Ahmad Dahlan No. 20, Ciamis, Indonesia

Submitted 18 January 2024; Revised 11 July 2024; Accepted 11 July 2024; Published 19 September 2024

*Corresponding author: harunnurhidayati@gmail.com

Abstract

The use of herbal medicines is rapidly increasing among people around the world. Olive (*Olea europaea* L.) is a plant that has many known benefits, one of which is as an antibacterial. However, there is still minimal research using olive leaf as an antibacterial. This study aimed to determine the antibacterial activity of olive leaf extract eye ointment on *Staphylococcus aureus*. Three formulations of eye ointment with the active ingredient of olive leaf extract (*Olea europaea* L.), with concentrations of 25%, 50%, and 75%. All eye ointment preparations are tested for physical properties, including organoleptic, homogeneity, pH, spreadability, adhesion, and sterility tests. The antibacterial activity was tested using the well method technique by calculating the inhibition zone. The physical quality test results show that all formulas comply with good formula standards. Zone of inhibition (mm) antibacterial activity test showed that the concentrations of olive leaf extract eye ointment at 25% (15.67), 50% (16.67), and 75% (17.67). It can be concluded that the higher the extract concentration, the greater the inhibitory power given. Olive extract eye ointment is able to provide antibacterial effects, especially at a concentration of 50-75% which can inhibit the growth of *Staphylococcus aureus*.

Keywords: Antibacterial, Eye ointment, Olive leaf, *Staphylococcus aureus*

Uji Aktivitas Antibakteri Sediaan Salep Mata Ekstrak Daun Zaitun (*Olea europaea* L.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus Aureus*

Abstrak

Penggunaan obat herbal sangat pesat meningkat di kalangan masyarakat seluruh dunia. Zaitun (*Olea europaea* L.) merupakan tanaman yang telah banyak diketahui manfaatnya, salah satunya ialah sebagai antibakteri. Namun masih sedikit penelitian yang menggunakan daun zaitun sebagai antibakteri. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya aktivitas antibakteri dari salep mata ekstrak daun zaitun pada *Staphylococcus aureus*. Pada penelitian ini, formulasi salep mata dengan variasi konsentrasi ekstrak daun zaitun (*Olea europaea* L.) yaitu Formulasi 1 (25%), Formulasi 2 (50%), dan Formulasi 3 (75%). Untuk menentukan kualitas sediaan salep mata yang baik, dilakukan uji evaluasi meliputi uji organoleptik, uji Homogenitas, uji pH, uji daya sebar, dan uji daya lekat dan uji Sterilitas. Metode penelitian yang digunakan ialah eksperimental laboratorium, pengujian dilakukan dengan metode difusi sumuran dengan parameter mengukur zona hambat pertumbuhan mikroorganisme. Hasil uji mutu fisik menunjukkan bahwa seluruh formula memenuhi standar formula yang baik. Uji aktivitas antibakteri zona hambat (mm) menunjukkan konsentrasi salep mata ekstrak daun zaitun sebesar 25% (15,67), 50% (16,67), dan 75% (17,67). Dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin besar pula daya hambat yang diberikan. Salep mata ekstrak zaitun mampu memberikan efek antibakteri terutama pada konsentrasi 50-75% yang dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

Kata Kunci: Antibakteri, Salep mata, Daun zaitun, *Staphylococcus aureus*

1. Pendahuluan

Mata ialah salah satu panca indera yang sangat penting bagi manusia, namun sering kurang diperhatikan sehingga terkena berbagai macam penyakit. Infeksi mata dapat berupa konjungtivitis, blefaritis, keratitis, dakriosistitis, dan kanalikuliti.¹ Infeksi mata dapat ditandai dengan mata merah, terasa nyeri, berair, dan peka terhadap cahaya.²

Infeksi pada mata dapat disebabkan oleh faktor endogen seperti flora residen yang menjadi patogen, dan faktor eksogen seperti masuknya mikroorganisme dari lingkungan luar.³ Mikroorganisme penyebab infeksi pada mata antara lain bakteri, jamur, virus, dan parasit patogen.⁴ Bakteri merupakan penyebab utama infeksi pada mata dan kemungkinan bisa menyebabkan kebutaan.⁵ Wang et al menemukan bahwa kejadian infeksi mata di Cina pada periode 2010-2013 berkisar 610 pasien dengan penyebab infeksi bakteri gram positif 78,36% (478) dan gram negatif 21,64% (132).⁶ Penyebab infeksi mata yaitu *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Bacillus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacteriaceae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Moraxella* spp, dan *Haemophilus influenza*.⁷

Ilmu pengobatan tradisional telah berkembang sejak ribuan tahun lalu, pengalaman serta pengetahuan yang dikumpulkan sampai saat ini penting bagi kesehatan masyarakat.⁸ Pengobatan secara tradisional merupakan salah satu warisan budaya bangsa yang sangat berharga dan patut disarankan kembali kepada masyarakat.⁹

Penggunaan obat herbal relatif lebih aman karena efek samping yang relatif kecil jika digunakan secara tepat.¹⁰ Penggunaan antibiotik secara besar-besaran di masyarakat memicu terjadinya resistensi terhadap bakteri. Ziman et al menemukan bahwa resistensi antibiotik pada pasien infeksi mata cukup tinggi baik pada penisilin, ampicilin, tobramisin, piperasilin.⁵ Maka dari itu perlu adanya penelitian tentang alternatif lain terutama obat herbal sebagai antibakteri.

Salah satu tanaman yang memiliki banyak khasiat dalam mengobati penyakit ialah daun zaitun (*Olea europaea* L.). Daun

Olea europaea dengan karakteristik pahit karena kaya akan golongan secoiridoid yaitu oleuropein, hidroksitirosol, polifenol, flavonoid serta asam enolat.¹¹ Hasil riset menyebutkan bahwa daun *Olea europaea* telah terbukti dapat digunakan sebagai antioksidan, antiinflamasi, antimikroba, antinociceptive antikolesterol, antidiabetes, antikanker dan lain sebagainya.^{12,13}

Sebagai antibakteri ekstrak daun *Olea europaea* dapat membunuh *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 2-6 % (b/v).¹⁴ Oleh karena itu, ekstrak dapat diuji coba sebagai antibakteri infeksi mata.

Pada umumnya sediaan untuk mengobati infeksi mata dalam bentuk tetes mata dan salep mata steril. Salep mata memiliki viskositas yang lebih tinggi dibandingkan dengan sediaan mata lainnya, sehingga memberikan durasi kontak yang lebih panjang serta mengurangi toksisitas sistemik¹⁵ serta bioavailabilitas yang lebih besar dibandingkan dengan larutan tetes mata.¹⁶ Diharapkan dengan memformulasikan ekstrak daun *Olea europaea* dalam sediaan salep mata dapat memberikan kemampuan yang baik pada penghantaran zat aktif untuk mengobati infeksi mata.

2. Metode

2.1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya timbangan analitik, autoclave, Laminary Air Flow (LAF), inkubator, hotplate stirrer, rotary shaker, oven, laminary flow, lampu spritus (bunsen), erlenmeyer, tabung reaksi, gelas ukur, gelas kimia, cawan petri, batang pengaduk, mikro pipet, jarum ose, cakram disk, penggaris, jangka sorong, Spatel, Pinset, pH meter, kaca objek, kaca arloji, cawan penguap, mortar dan stamper, kertas saring, wadah tube.

2.2. Bahan

Bahan yang digunakan ekstrak daun *Olea europaea*, bakteri *Staphylococcus aureus*, setil alkohol, parafin cair, BaCl₂, dan Vaseline flavum sebagai basis.

2.3. Prosedur Penelitian

2.3.1. Uji Kualitas Ekstrak Daun zaitun (*Olea europae*)

a. Skrining Polifenol

Sebanyak 1 ml ekstrak pada tabung reaksi ditambahkan 2-3 tetes FeCl_3 1%. Hasil positif dari uji ini adalah timbulnya warna coklat, biru atau hijau kehitaman.¹³

b. Kromatografi Lapis Tipis

Timbang 1 gr ekstrak kemudian ditambahkan 1 ml ethanol 96%. Kemudian ditotolkan pada lempeng silica gel 60 GF254 dan dielusi dengan menggunakan Toluena : Etil asetat 93:7. Lempeng dikeringkan dan desamprot dengan pereaksi FeCl_3 , hasil positif polifenol ditandai dengan adanya spot/ bercak berwarna gelap (hitam,ungu,biru tua atau coklat tua) dengan terbentuknya R_f 0,25-0,35.¹³

c. Kadar Air

Ekstrak daun zaitun (*Olea europae*) ditimbang 1-2 gram menggunakan botol timbang tertutup yang sudah diketahui beratnya. Mengeringkan pada oven dengan suhu 105°C selama 5 jam, kemudian didinginkan menggunakan eksikator. Menimbang kembali hingga diperoleh bobot tetap.¹⁷

d. Kadar Abu

Ekstrak daun zaitun (*Olea europae*) ditimbang sebanyak 2-3 gram dengan

menggunakan cawan porselin yang sudah diketahui beratnya. kemudian sampel diletakkan diatas nyala pembakar, lalu abukan pada tanur listrik pada suhu bertahap hingga 600°C selama 3 jam. Kemudian, didinginkan menggunakan eksikator.¹⁶

2.3.2. Pembuatan Salep Mata

Alat dan bahan harus disiapkan terlebih dahulu. Menimbang masing-masing bahan yang ditaruh di dalam cawan porselin yang dilapisi kain kasa, di tutup dengan aluminium foil. Kemudian di sterilisasi dengan oven pada suhu 150°C selama 1 jam, Disinfeksi meja kerja dengan etanol 70%. Basis salep vaselin flavum yang sudah ditimbang diatas cawan porselin yang telah dialasi kasa steril Setelah melebur peras kasa tersebut selagi panas menggunakan pinset, temperatur kemudian diturunkan menjadi 65°C. Sambil diaduk dengan kuat sampai homogen (campuran 1). ekstrak daun zaitun (*Olea europae*) ditambahkan ke dalam Sebagian basis salep, kemudian gerus ad homogen (Campuran 2). Masukkan Benzalkonium Chloride ke dalam Sebagian basis salep, kemudian gerus ad homogen (Campuran 3). Masukan campuran 2 dan campuran 3 ke dalam campuran 1 lalu gerus ad homogen. Salep ditempatkan ke dalam wadah sediaan setelah dingin.¹⁷

2.3.3. Evaluasi Sediaan Salep Mata

a. Uji Organoleptik

Tabel 1. Formulasi Salep Mata Ekstrak Daun Zaitun (*Olea europae*)

Formulasi	Konsentrasi					Ket
	Kontrol Negatif	Kontrol Positif	F1 (25%)	F2 (50%)	F3 (75%)	
Salep Kloramfenikol merek X	-	1 %	-	-	-	
Ekstrak daun zaitun (<i>Olea europae</i>)	-		0,15	0,15	0,15	Zat aktif
Paraffin liquidum	1,5		1,5	1,5	1,5	Emolien
Setil Alcohol	0,45		0,45	0,45	0,45	Emolien
Benzalkonium Chloride	0,003		0,003	0,003	0,003	Pengawet
Vaselin flavum	Ad 15 g		Ad 15 g	Ad 15 g	Ad 15 g	Basis salep

Keterangan :

Kontrol negatif: Sediaan salep mata tanpa ekstrak

Kontrol positif : Sediaan salep mata dengan kloramfenikol 1 %

F1 : Sediaan salep mata ekstrak daun zaitun (*Olea europae*)(25%)

F2 : Sediaan salep mata ekstrak daun zaitun (*Olea europae*) (50%)

F3 : Sediaan salep mata ekstrak daun zaitun (*Olea europae*) (75%)

Uji Organoleptik dilakukan menggunakan panca indra dengan memperhatikan bentuk, warna, bau dari sediaan yang dibuat.¹⁸

b. Uji Homogenitas

Ditimbang 0,1 gram salep letakkan pada kaca obyek kemudian dioleskan secara merata dan tipis pada kaca. Pengujian ini dilakukan untuk melihat secara fisik mengenai keseragaman bentuk salep. Sediaan salep dikatakan homogen apabila tidak terdapat gumpalan atau butiran kasar.¹⁹

c. Uji pH

Uji pH dilakukan menggunakan kertas pH maupun pH meter. Sampel salep diambil sebanyak 1 gram dilarutkan dalam 10 ml aquadest, lalu celupkan alat elektroda ke dalamnya, kemudian tunggu beberapa detik sampai angka pada layar stabil dan dicatat nilai pH yang muncul pada layar. Pengukuran pH ditujukan untuk mengetahui kestabilan pH dari sediaan salep mata yang di hasilkan. pH sediaan salep mata yaitu antara pH 5-7,4.²⁰

d. Uji Daya sebar

Ditimbang 0,5 g salep kemudian letakkan ditengah cawan yang berada dalam posisi terbalik. Diletakkan cawan yang lain diatas salep. Dibiarkan selama 1 menit dan ukur diameternya. Ditambahkan lagi 100 g beban tambahan, lalu diamkan selama 1 menit dan ukur diameternya. Uji daya sebar bertujuan untuk mengetahui tingkat kemampuan sediaan dalam menyebar. Persyaratan untuk diameter daya sebar ialah 5-7 cm.²¹ Semakin luas diameter atau daya sebarnya maka semakin baik salep mata diabsorpsi di dalam mata dan efeknya pun lebih terasa cepat.

e. Uji Daya Lekat

Uji daya lekat bertujuan untuk mengevaluasi Salep Mata, dengan uji ini dapat diketahui sejauh mana salep mata yang dapat menempel pada mata, sehingga efek terapi yang dipakai bisa tercapai secara maksimal. Sediaan salep yang baik memiliki waktu daya lekat lebih dari 4 detik.²²

f. Uji Sterilitas

Uji sterilitas bertujuan untuk Uji sterilitas ditujukan untuk menganalisis senyawa-senyawa, sediaan, atau alat-alat kesehatan yang berdasarkan farmakope dipersyaratkan steril. Hasil uji dikatakan memenuhi syarat jika tidak ditemukan adanya kontaminasi mikroorganisme di dalam suatu sediaan uji selama kondisi pengujian.²³

2.3.4. Uji Aktivitas Antibakteri

Pembuatan media *Muller Hinton Agar* (MHA), Media yang digunakan sebanyak 9,5 gram agar *Muller Hinton Agar* dilarutkan dalam 250 mL aquadest, kemudian dipanaskan dan diaduk sampai homogen. media agar disterilkan di autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. Lalu agar dituangkan kedalam cawan petri steril dan didiamkan hingga dingin dan padat pada suhu kamar. Pembuatan stok bakteri dengan mengambil satu ose biakan murni, kemudian ditanamkan pada media *Muller Hinton Agar* dengan cara menggores, selanjutnya di inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Pembuatan larutan MC Farland dilakukan dengan mengambil larutan H₂SO₄ 1 sebanyak 9,5 ml dicampurkan dengan BaCl₂ 1.175% sebanyak 0,5 ml dalam Erlenmeyer kemudian dikocok sampai terbentuknya larutan yang keruh. Kekeruhan ini dipakai sebagai standar kekeruhan suspensi bakteri uji.²¹

Pembuatan Suspensi *Staphylococcus aureus* dengan mengambil koloni bakteri *Staphylococcus aureus* lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi bakteri NaCl 0,9% dihomogenkan dengan vortex, lalu dibandingkan dengan MC Farland 0,5%. Penanaman bakteri ke dalam media MHA dilakukan dengan mengambil kapas lidi, lalu masukkan ke dalam biakan murni *Staphylococcus aureus*, peras kapas lidi dengan cara memutarnya pada dinding tabung, goreskan kapas lidi pada media *Muller Hinton Agar* sehingga merata, biakan selama kurang lebih 24 jam pada agar miring pada suhu 37 °C dalam inkubator.²⁴

Uji penelitian dimulai *plate* yang berisi media *Muller Hinton Agar* ditanami

oleh bakteri *Staphylococcus aureus* dengan cara menstreak *Staphylococcus aureus* pada media plate sampai rata. Selanjutnya dibuat lubang sumuran menggunakan pecadang logam. Kemudian sumuran yang sudah dibuat dimasukan sediaan salep sebanyak 0,05 g lalu diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 35-37°C. Dalam keadaan terbalik dan diukur diameter zona hambatan (zona jernih) yang terbentuk.²⁵

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Uji Kualitas Ekstrak Daun zaitun (*Olea europeae*)

Hasil uji kualitas (tabel 2) ekstrak daun *Olea europeae* (pendahuluan) diperoleh hasil yang positif mengandung senyawa polifenol yang ditandai dengan munculnya perubahan warna pada ketiga replikasi menjadi hijau kehitaman.

Perubahan warna yang terjadi tersebut disebabkan ketika FeCl_3 ditambahkan akan bereaksi dengan salah satu gugus hidroksi terdapat pada senyawa fenolik.²⁶ Untuk hasil uji KLT ekstrak daun zaitun (*Olea europeae*) dilihat pada sinar UV 254 nm positif mengandung senyawa polifenol yang ditandai dengan muncul bercak berwarna coklat tua dengan rata-rata nilai rf sebesar 0,3 mm.

Hasil menunjukkan ekstrak daun zaitun (*Olea europeae*) sesuai dengan syarat mutu ekstrak kental yaitu memiliki kadar air antara 5-30%. Untuk hasil uji kadar abu didapatkan rata-rata hasil untuk ketiga replikasi uji sebesar 31%. Kadar abu kadar abu lebih tinggi dimaknai bahwa ekstrak mengandung mineral.²⁷

3.2. Uji Evaluasi Fisik Sediaan Salep Mata Daun zaitun (*Olea europeae*)

a. Uji Organoleptik

Pengamatan organoleptik dilakukan secara visual meliputi karakteristik bau, bentuk dan warna. Berdasarkan hasil pengujian organoleptis pada sediaan salep

(tabel 3). Sediaan salep ekstrak zaitun (*Olea europeae*) konsentrasi 25%, 50% dan 75% memiliki bentuk setengah padat, berwarna kuning dan tidak memiliki bau yang tengik dan khas dengan komponen masing-masing. Hal ini menandakan bahwa salep mata tidak mengalami oksidasi. oksidasi dapat terjadi pada komponen lemak dari basis.²⁸

b. Uji Homogenitas

Berdasarkan hasil uji homogenitas pada sediaan salep mata ekstrak daun zaitun (*Olea europeae*) (tabel 4) pada konsentrasi 25%, 50% dan 75% menghasilkan sediaan yang homogen dengan ditandai tidak adanya butiran kasar pada sediaan salep. Homogenitas yang baik pada sediaan salep mata dapat dihasilkan dengan pengadukan yang stabil dimana pengadukan dapat memperluas bidang kontak karena adanya proses agitasi sehingga terjadi pola sirkulasi.²⁹

c. Uji pH

Pengukuran pH dilakukan untuk memastikan apakah sediaan ini memiliki keamanan pada mata. Berdasarkan hasil pengujian (tabel 4) menunjukkan salep mata formulasi I, II, III dan IV berada pada rentang pH 6,5-7 sehingga telah memenuhi persyaratan pH yaitu antara pH 5-7,4.²⁰ Hal ini menunjukkan bahwa formulasi I, II, III dan IV yang dibuat aman untuk digunakan karena memiliki nilai pH yang sesuai untuk sediaan salep mata. Pada saat infeksi mata terjadi pH biasanya dalam keadaan asam untuk memberikan suasana yang baik bagi pertumbuhan bakteri. Salep mata dengan pH netral mampu melindungi kornea dari luka maupun iritasi serta meningkatkan penetrasi dari zat aktif serta distribusi yang merata.³⁰ Secara fisiologis pH normal permukaan mata pada manusia adalah $7,11 \pm 1,5$.³¹

d. Uji Daya Sebar

Pengujian daya sebar bertujuan untuk

Tabel 2. Hasil Uji Kualitas Ekstrak Daun Zaitun

Skrining Polifenol	KLT (Mean $\pm$ SD)	Kadar Air (Mean $\pm$ SD)	Kadar Abu (Mean $\pm$ SD)
Hijau kehitaman	0,3 $\pm$ 0,03	24,33 $\pm$ 3,512	31 $\pm$ 1,732

Tabel 3. Uji Organoleptik (n=3)

Formulasi	Bentuk	Warna	Bau
Kontrol Negatif	Setengah padat	Kuning	Bau khas salep
Kontrol Positif	Setengah padat	Putih	Bau khas salep
F1	Setengah padat	Kuning	Bau khas salep
F2	Setengah padat	Kuning kecoklatan	Bau khas zaitun
F3	Setengah padat	Kuning kecoklatan	Bau khas zaitun

Kontrol negatif : Sediaan salep mata tanpa ekstrak

Kontrol positif : Sediaan salep mata dengan kloramfenikol 1 %

F1 : Sediaan salep mata ekstrak daun zaitun (*Olea europea*)(25%)

F2 : Sediaan salep mata ekstrak daun zaitun (*Olea europea*) (50%)

F3 : Sediaan salep mata ekstrak daun zaitun (*Olea europea*) (75%)

mengetahui tingkat kemampuan sediaan dalam menyebar. Nilai daya sebar yang didapat yaitu pada rentang 5,2-5,5 cm ini menandakan daya sebar tiap formulasi yang dibuat memiliki daya sebar yang baik yaitu 5-7 cm.¹⁸ Seluruh formula (tabel 4) tidak memiliki perbedaan bermakna dalam kemampuan daya sebar pengaruh penambahan ekstrak daun zaitun (*Olea europeae*) terhadap daya sebar sediaan salep mata. Adanya penggabungan antara vaselin flavum yang merupakan hidrokarbon dan paraffin liq sebagai minyak mineral dapat mengatur keseimbangan viskositas dari salep mata dimana diketahui bahwa vaselin flavum cenderung memiliki kekentalan yang tinggi sedangkan paraffin mengurangi viskositas dan meningkatkan daya sebar salep.³² Salep yang dibuat dengan petrolatum dan hidrokarbon memiliki sifat reologi yang lebih rendah dan tingkat pelepasan obat in vitro yang lebih tinggi.³³

e. Uji Daya Lekat

Pengujian daya lekat pada sediaan salep mata ini bertujuan untuk mengetahui

sejauh mana salep dapat menempel pada permukaan mata. Hasil evaluasi (tabel 4) menunjukkan nilai daya lekat yang didapat yaitu pada rentang 5,18–7,88 detik atau lebih dari 4 detik.¹⁸ Hal ini menunjukkan bahwa daya lekat tiap formulasi yang dibuat memiliki daya lekat yang baik. Keseluruhan formulasi memiliki daya lekat yang tidak berbeda hal ini karena kombinasi dari basis hidrokarbon dan minyak mineral menyebabkan viskositas yang seimbang. Parafin mengimbangi kemampuan lekat dari vaselin sehingga daya lekat tidak terlalu lama karena secara estetik dapat menyebabkan ketidaknyamanan pada saat penggunaan. parafin liquid dapat membantu dan meningkatkan kehalusan dari partikel salep mata.³²

3.3. Uji Sterilitas

Uji sterilitas ditujukan untuk menganalisis senyawa-senyawa, sediaan, atau alat-alat kesehatan yang berdasarkan farmakope dipersyaratkan steril. Hasil uji sterilitas (tabel 5) menunjukkan bahwa tidak terjadinya kekeruhan dan tidak terdapat

Tabel 4. Evaluasi sediaan Salep (n=3)

Formulasi	Homogenitas	PH*	Daya Sebar*	Daya lekat*
		X±S (cm)	X±S (cm)	X±S (cm)
Kontrol Negatif	Homogen	6.660 ± 0.315	5.3667 ± 0.0577	6.913 ± 0.904
Kontrol Positif	Homogen	7.0567 ± 0.0907	5.2667 ± 0.1528	6.160 ± 0.522
F1	Homogen	6.610 ± 0.305	5.4000 ± 0.1000	6.237 ± 0.904
F2	Homogen	6.590 ± 0.375	5.3333 ± 0.0577	6.243 ± 1.045
F3	Homogen	6.507 ± 0.253	5.2667 ± 0.1155	6.467 ± 0.616

Kontrol negatif : Sediaan salep mata tanpa ekstrak

Kontrol positif : Sediaan salep mata dengan kloramfenikol 1 %

F1 : Sediaan salep mata ekstrak daun zaitun (*Olea europea*)(25%)

F2 : Sediaan salep mata ekstrak daun zaitun (*Olea europea*) (50%)

F3 : Sediaan salep mata ekstrak daun zaitun (*Olea europea*) (75%)

*P>0,05 : tidak berbeda signifikan

Tabel 5. Hasil Evaluasi Sterilitas (n=3)

Formulasi	Hari Pertumbuhan bakteri pada media uji (jumlah koloni)				
	1	3	5	7	14
Kontrol negatif	-	-	-	-	-
Kontrol positif	-	-	-	-	-
F1	-	-	-	-	-
F2	-	-	-	-	-
F3	-	-	-	-	-

Keterangan :

Kontrol negatif : Sediaan salep mata tanpa ekstrak

Kontrol positif : Sediaan salep mata dengan kloramfenikol 1 %

F1 : Sediaan salep mata ekstrak daun zaitun (*Olea europea*)(25%)F2 : Sediaan salep mata ekstrak daun zaitun (*Olea europea*) (50%)F3 : Sediaan salep mata ekstrak daun zaitun (*Olea europea*) (75%)

(-) : Tidak tumbuh bakteri

pertumbuhan bakteri pada kurun waktu dari selama 14 hari. maka dapat disimpulkan sediaan salep mata ini masih berada dalam kondisi steril dan tidak terkontaminasi dari luar. Proses aseptik yang sesuai dengan tuntunan pembuatan sediaan steril akan menjamin kualitas dari sediaan steril yang dihasilkan. Pada proses pembuatan sediaan salep mata, preparasi dilakukan di LAF yang mampu menciptakan aliran udara yang stabil dan seragam dalam ruang tertutup, umumnya digunakan dalam berbagai aplikasi yang memerlukan lingkungan yang bersih dan bebas dari kontaminasi.³⁴

3.4. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri merupakan metode pengujian yang dilakukan untuk mengetahui kemampuan suatu bahan dalam menghambat pertumbuhan bakteri.³⁵ Pengujian yang dilakukan untuk mengetahui kemampuan suatu bahan dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Berdasarkan hasil uji (tabel 6), menunjukkan tidak terjadi aktivitas antibakteri pada kontrol negatif karena tidak mengandung senyawa aktif. seluruh formula uji memiliki aktivitas antibakteri dengan diameter daya hambat yang berbeda tetapi secara statistik tidak berbeda. Kontrol positif menggunakan kloramfenikol memiliki daya hambat terhadap *staphylococcus aureus* yang sensitif. Studi yang dilakukan oleh Afzal et al menyebutkan bahwa kerentanan *staphylococcus aureus* pada kloramfenikol masih cukup baik sekitar 76 %.³⁶

Kloramfenikol cukup kuat menghambat biosintesis protein bakteri. Akan tetapi saat ini akibat penggunaan berlebihan dalam pengobatan infeksi mata memicu berbagai mekanisme resistensi, termasuk yang berasal dari penyebaran gen resistensi melalui plasmid dan transposon.³⁷ Beberapa penelitian menyebutkan bahwa kategori dari hambatan antibiotik berhubungan dengan tingkat sensitivitas. *Laboratory Standards*

Tabel 6. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Salep Mata Ekstrak Zaitun (*Olea europeae*) (n=3)

Formulasi	X $\pm$ SD (mm)	P Value
Kontrol Negatif	0.00 $\pm$ 0.00*	0.000
Kontrol Positif	20.33 $\pm$ 3.21	
F1	15.67 $\pm$ 3.51	
F2	16.67 $\pm$ 4.51	
F3	17.67 $\pm$ 4.51	

Keterangan :

Kontrol negatif : Sediaan salep mata tanpa ekstrak

Kontrol positif : Sediaan salep mata dengan kloramfenikol 1 %

F1 : Sediaan salep mata ekstrak daun zaitun (*Olea europea*)(25%)F2 : Sediaan salep mata ekstrak daun zaitun (*Olea europea*) (50%)F3 : Sediaan salep mata ekstrak daun zaitun (*Olea europea*) (75%)

P<0.05 dengan terhadap kontrol negatif

Institute (CLSI)³⁸ menyebutkan aktivitas antibiotik sangat sensitif biasanya memiliki diameter zona hambat yang luas, sering kali lebih dari 22 mm, Sensitif biasanya memiliki diameter zona hambat antara 16-22 mm. Moderat dengan zona hambat yang lebih kecil, biasanya antara 11-15 mm. Dan terakhir, resisten dengan zona hambat kurang dari 11 mm atau bahkan tidak ada.

Formula yang mengandung zat aktif ekstrak daun zaitun (*Olea europaea*) baik formulasi I dengan jumlah konsentrasi ekstrak 25 % masuk dalam kategori moderat sedangkan formula II dan III masuk dalam kategori sensitif seperti halnya kontrol positif (kloramfenikol). Hal ini diduga bahwa semakin pekat konsentrasi ekstrak maka semakin tinggi kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam sediaan ekstrak.³⁹ Kandungan oleuropein, hidroksitirosol pada ekstrak diyakini memberikan kemampuan dalam menghambat aktivitas antibakteri *staphylococcus aureus*. Penelitian menyatakan bahwa kandungan oleuropein dapat hidroksitirosol yang terdapat dalam larutan campuran kompleks menunjukkan aktivitas yang lebih unggul dibandingkan dengan senyawa tunggal murni.⁴⁰

4. Kesimpulan

Penambahan ekstrak daun zaitun (*Olea europaea* L.) dari tiap-tiap konsentrasi berpengaruh terhadap persentase zona hambat yang terbentuk. Salep mata ekstrak zaitun dapat memberikan aktivitas yang setara dengan kemampuan daya hambat antibiotik kloramfenikol dengan konsentrasinya antara 50-75%. Penelitian ini memiliki keterbatasan sehingga perlu untuk melakukan penelitian yang mendalam dengan tingkat evaluasi sediaan yang lebih luas.

Referensi

1. Shiferaw B, Gelaw B, Assefa A, Assefa Y, Addis Z. Bacterial isolates and their antimicrobial susceptibility pattern among patients with external ocular infections at Borumeda hospital, Northeast Ethiopia. *BMC Ophthalmol*. 2015.
2. Tehamen M, Rares L, Supit W. Gambaran Penderita Infeksi Mata di Rumah Sakit Mata Manado Provinsi Sulawesi Utara Periode Juni 2017 - Juni 2019. *e-CliniC*. 2019 Dec 31;8(1).
3. Eguchi H, Hotta F, Kuwahara T, Imaohji H, Miyazaki C, Hirose M, et al. Diagnostic approach to ocular infections using various techniques from conventional culture to next-generation sequencing analysis. *Cornea*. 2017.
4. Sherwal BL, Verma AK. Epidemiology of ocular infection due to bacteria and fungus - A prospective study. *JK Sci*. 2008.
5. Ayehubizu Z, Mulu W, Biadglegne F. Common bacterial causes of external ocular infections, associated risk factors and antibiotic resistance among patients at ophthalmology unit of Felege Hiwot Referral Hospital, Northwest Ethiopia: a cross-sectional study. *J Ophthalmic Inflamm Infect*. 2021.
6. Wang N, Yang Q, Tan Y, Lin L, Huang Q, Wu K. Bacterial Spectrum and Antibiotic Resistance Patterns of Ocular Infection: Differences between External and Intraocular Diseases. *J Ophthalmol*. 2015;2015:1-7.
7. Miller JM, Binnicker MJ, Campbell S, Carroll KC, Chapin KC, Gilligan PH, et al. A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2018 Update by the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology. *Clin Infect Dis*. 2018.
8. Harun N, Nopia D, Kurniasih N. Studi Etnomedisin : Pengobatan Diabetes Batra Ciamis. *Med Sains J Ilm Kefarmasian*. 2022.
9. Sudirman S, Skripsa TH. Pemanfaatan Pelayanan Pengobatan Tradisional (Batra) Sebagai Role Model Back To Nature Medicine di Masa Datang. *ARSY J Apl Ris Kpd Masy*. 2020.
10. Azizah N, Halimah E, Puspitasari IM, Hasanah AN. Simultaneous use of herbal medicines and antihypertensive drugs among hypertensive patients in the community: A review. *J Multidiscip*

- Healthc. 2021.
11. Selim S, Albqmi M, Al-Sanea MM, Alnusaire TS, Almuhayawi MS, AbdElgawad H, et al. Valorizing the usage of olive leaves, bioactive compounds, biological activities, and food applications: A comprehensive review. *Frontiers in Nutrition*. 2022.
 12. Özcan MM, Matthäus B. A review: benefit and bioactive properties of olive (*Olea europaea* L.) leaves. *Eur Food Res Technol*. 2017.
 13. Harun N, Ketut Adnyana I, Damayanti S, Kurniati NF. Oleuropein and Hydroxytyrosol as Antidiabetics: A Review on Extraction Method, Effectiveness and Toxicity Effect. *Mil Med Sci Lett [Internet]*. 2023 Nov 16;7025(10):1–9. Available from: <http://mmsl.cz/doi/10.31482/mmsl.2023.037.html>
 14. Romani A, Ieri F, Urciuoli S, Noce A, Marrone G, Nediani C, et al. Health effects of phenolic compounds found in extra-virgin olive oil, by-products, and leaf of *olea europaea* L. *Nutrients*. 2019.
 15. Renukuntla J, Palakurthi SS, Bolla PK, Clark BA, Boddu SHS, Manda P, et al. Advances in in-vitro bioequivalence testing methods for complex ophthalmic generic products. *International Journal of Pharmaceutics*. 2022.
 16. Maulvi FA, Shetty KH, Desai DT, Shah DO, Willcox MDP. Recent advances in ophthalmic preparations: Ocular barriers, dosage forms and routes of administration. *International Journal of Pharmaceutics*. 2021.
 17. Najib A, Malik A, Ahmad AR, Handayani V, Syarif RA, Waris R. Standarisasi Ekstrak Air Daun Jati Belanda dan Teh Hijau. *J Fitofarmaka Indones*. 2017.
 18. Isti Nurfaizah, Desy Nawangsari, Dina Febrina. Formulasi dan Uji Sifat Fisik Sediaan Salep Ekstrak Etanol Rimpang Kunyit (*Curcuma longa* L.) dalam Berbagai Basis. In: *Prosiding Seminar Nasional Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat (SNPPKM 2021)*. Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat (LPPM) Universitas Harapan Bangsa; 2021.
 19. Elmitra. *Dasar-dasar Farmasetika dan Sediaan Semi Solid*. Yogyakarta: Deepublish ; 2017.
 20. Agoes Goeswin. *Sediaan Farmasi Steril*. Bina Rupa Aksara; 2009.
 21. Davis SE, Tulandi SS, Datu OS, Sangande F, Pareta DN. Formulasi Dan Pengujian Sediaan Salep Ekstrak Etanol Daun Kembang Sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) Dengan Berbagai Variasi Basis Salep. *Biofarmasetikal Trop*. 2021.
 22. Lasut TM, Tiwow G, Tumbel S, Karundeng E. Uji Stabilitas Fisik Sediaan Salep Ekstrak Etanol Daun Nangka *Artocarpus heterophyllus* Lamk. *Biofarmasetikal Trop*. 2019.
 23. RI D. *Farmakope Indonesia edisi V*. Kementerian Kesehat Republik Indones. 2018.
 24. Simorangkir M, Maha AP. Antibacterial Activity And Phytochemical Screening From Chromatography Fraction Of Ethanol Extract Of Sarang Banua (*Clerodendrum fragrans* Vent Willd) Against *Salmonella enterica*. *Indones J Chem Sci Technol*. 2020.
 25. Arista Y, Kumesan N, Yamlean PVY, Supriati HS. Formulasi dan Uji Aktivitas Gel Antijerawat Ekstrak Umbi Bakung (*Crinum asiaticum* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi-UNSRAT*. 2013.
 26. Wahid AR, Safwan S. Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Terhadap Ekstrak Tanaman Ranting Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* L.). *Lambung Farm J Ilmu Kefarmasian*. 2020.
 27. Aisah A, Harini N, Damat D. Pengaruh Waktu dan Suhu Pengeringan Menggunakan Pengering Kabinet dalam Pembuatan MOCAF (Modified Cassava Flour) dengan Fermentasi Ragi Tape. *Food Technol Halal Sci J*. 2021.
 28. Lisnawati E, Taurina W, Andrie M. Formulasi Salep Ekstrak Ikan Gabus (*Channa striata*) dan Madu Kelulut (*Heterotrigona itama*) Sebagai

- Antioksidan. *J Syifa Sci Clin Res*. 2021.
29. Khan BA, Akhtar N, Khan HMS, Waseem K, Mahmood T, Rasul A, et al. Basics of pharmaceutical emulsions: A review. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2011.
 30. Somayajulu M, McClellan SA, Bessert DA, Pitchaikannu A, Hazlett LD. Ocular Effects of Glycyrrhizin at Acidic and Neutral pH. *Front Cell Infect Microbiol*. 2022.
 31. Lim LT, Ah-Kee EY, Collins CE. Common eye drops and their implications for pH measurements in the management of chemical eye injuries. *International Journal of Ophthalmology*. 2014.
 32. Bao Q, Jog R, Shen J, Newman B, Wang Y, Choi S, et al. Physicochemical attributes and dissolution testing of ophthalmic ointments. *Int J Pharm*. 2017.
 33. Bao Q, Burgess DJ. Perspectives on Physicochemical and In Vitro Profiling of Ophthalmic Ointments. *Pharmaceutical Research*. 2018.
 34. Harjanto S, Raharjo R. Peran Laminar Air Flow Cabinet Dalam Uji Mikroorganisme Untuk Menunjang Keselamatan Kerja Mahasiswa Di Laboratorium Mikrobiologi. *METANA*. 2017.
 35. Magani AK, Tallei TE, Kolondam BJ. Uji Antibakteri Nanopartikel Kitosan terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *J BIOS LOGOS*. 2020.
 36. Afzal M, Vijay AK, Stapleton F, Willcox MDP. Susceptibility of ocular *staphylococcus aureus* to antibiotics and multipurpose disinfecting solutions. *Antibiotics*. 2021.
 37. Čivljak R, Giannella M, Di Bella S, Petrosillo N. Could chloramphenicol be used against ESKAPE pathogens? A review of in vitro data in the literature from the 21st century. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*. 2014.
 38. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (2018): Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Twenty-ninth informational supplement, M100-S29. 2018.
 39. Drevinskas T, Mickiene R, Maruška A, Stankevičius M, Tiso N, Šalomska A, et al. Confirmation of the antiviral properties of medicinal plants via chemical analysis, machine learning methods and antiviral tests: A methodological approach. *Anal Methods*. 2018.
 40. Thielmann J, Kohnen S, Hauser C. Antimicrobial activity of *Olea europaea* Linné extracts and their applicability as natural food preservative agents. *International Journal of Food Microbiology*. 2017.