

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI *SPRAY GEL* MINYAK ATSIRI RIMPANG
BANGLE (*Zingiber cassumunar* Roxb.) TERHADAP *Staphylococcus aureus*
ATCC 25923 SECARA *IN VIVO***



Diajukan oleh :

**Feronika Rochyani
20144091 A**

**Kepada
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI *SPRAY GEL* MINYAK ATSIRI RIMPANG
BANGLE (*Zingiber cassumunar* Roxb.) TERHADAP *Staphylococcus aureus*
ATCC 25923 SECARA *IN VIVO***

SKRIPSI

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
derajat Sarjana Farmasi (S.Farm)
Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

Oleh:

**Feronika Rochyani
20144091 A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

PENGESAHAN SKRIPSI

berjudul

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI *SPRAY GEL* MINYAK ATSIRI RIMPANG
BANGLE (*Zingiber cassumunar* Roxb.) TERHADAP
Staphylococcus aureus ATCC 25923 SECARA *IN VIVO***

Oleh

Feronika Rochyani
20144091A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada Tanggal : 28 Oktober 2017

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi

Dekan,



Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., MSc., Apt.

Pembimbing Utama

Ismi Rahmawati, M.Si., Apt

Pembimbing Pendamping

Dewi Ekowati, M.Sc., Apt

Penguji:

1. Dra. Nony Puspawati, M.Si
2. Ilham Kuncahyo, M.Sc., Apt
3. Destik Wulandari, S.Pd., M,Si
4. Ismi Rahmawati, M.Si., Apt



Bacalah dengan menyebut nama Tuhanmu

Dia telah menciptakan manusia dari segumpal darah Bacalah, dan Tuhanmulah yang maha mulia

Yang mengajar manusia dengan pena,

Dia mengajarkan manusia apa yang tidak diketahuinya (QS: Al-'Alaq 1-5)

Maka nikmat Tuhanmu yang manakah yang kamu dustakan ? (QS: Ar-Rahman 13)

Ya Allah,

Waktu yang sudah kujalani dengan jalan hidup yang sudah menjadi takdirku, sedih, bahagia, dan bertemu orang-orang yang memberiku sejuta pengalaman bagiku, yang telah memberi warna-warni kehidupanku. Kubersujud dihadapan Mu, Engaku berikan aku kesempatan untuk bisa sampai Di penghujung awal perjuanganku Segala Puji bagi Mu ya Allah.

"Orang yang pintar bukanlah orang yang merasa pintar, akan tetapi ia adalah orang yang merasa bodoh, dengan begitu ia tak akan pernah berhenti untuk terus belajar"

Skripsi ini kupersembahkan kepada :

- ✚ Allah SWT sebagai penutun, pelindung hidupku, dan penjawab atas segala doa-doaku. Alhamdulillah atas ridha-Nya lah skripsi ini dapat terselesaikan dengan cepat
- ✚ Ibunda dan ayahanda tercinta sebagai tanda bakti, rasa hormat, dan terima kasihku yang telah memberikanku doa yang tak terhingga, kasih sayang, segala dukungan dan cinta kasih yang tiada terhingga. Semoga ini menjadi langkah awal untuk membuat ibu dan bapak bahagia.
- ✚ Dosen pembimbing ibu Ismi Rahmawati, M.Si., Apt dan Ibu Dewi Ekowati M.Sc., Apt terima kasih telah bersedia membimbing skripsi ini dan telah meluangkan waktunya
- ✚ Adik perempuanku tercinta dan Jenn yang telah memberikan semangat, dukungan dan waktunya yang tiada henti
- ✚ Sahabat-sahabatku tercinta dan tersayang satu perjuangan Petra, Ayu, Widhya, Dewanti, Yunda, Isti, Diny, Regina, Iyem terima kasih telah memberikan dukungan, bantuan selama skripsi, dan atas segala waktunya
- ✚ Teman-temanku yang tidak bisa di sebutkan satu persatu trima kasih banyak, atas segala bantuan selama proses pengerjaan skripsi ini
- ✚ Agama, bangsa, negara, dan almamaterku.

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 28 Oktober 2017.



Feronika Rochyani

KATA PENGANTAR

Assalammu'alaikum Wr.Wb

Puji syukur kehadirat Allah SWT, karena atas segala rahmat dan hidayahNya, Penulis dapat menyelesaikan Skripsi guna memenuhi persyaratan untuk mencapai derajat Sarjana Farmasi (S.Farm) di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

Alhamdulillahirobbil'alamin, akhirnya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI *SPRAY GEL* MINYAK ATSIRI RIMPANG BANGLE (*Zingiber cassumunar* Roxb.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 SECARA *IN VIVO*”** diharapkan dapat memberikan sumbangan bagi ilmu pengetahuan dalam bidang teknologi farmasi.

Penyusunan Skripsi ini tidak bisa lepas dari bantuan banyak pihak baik secara langsung maupun tidak langsung, oleh karena itu Penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Allah SWT yang senantiasa memberikan anugerah, nikmat serta petunjuk disetiap langkah hidupku.
2. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
4. Ismi Rahmawati, M.Si., Apt. selaku Dosen Pembimbing yang telah banyak memberikan ilmu, masukan, pengarahan dan bimbingan selama penyusunan Skripsi ini.
5. Dewi Ekowati, M.Sc., Apt. selaku Dosen Pembimbing yang telah banyak memberikan ilmu, masukan, pengarahan dan bimbingan selama penyusunan Skripsi ini.
6. Dra. Nony Puspawati, M.Si selaku Dosen Penguji yang telah meluangkan waktu untuk menguji dan memberikan masukan untuk Skripsi ini.
7. Ilham Kuncahyo, M.Sc., Apt selaku Dosen Penguji yang telah meluangkan waktu untuk menguji dan memberikan masukan untuk Skripsi ini.

8. Destik Wulandari, S.Pd., M.Si selaku Dosen Penguji yang telah meluangkan waktu untuk menguji dan memberikan masukan untuk Skripsi ini.
9. Segenap dosen, instruktur laboratorium yang banyak memberikan bantuan dan kerjasama selama penyusunan penelitian Skripsi ini.
10. Orang tuaku (Rochana & Turyani) tercinta, adikku, keponakanku, semua saudara dan teman yang telah membantu, mendukung, dan memberi semangat serta doa.
11. Sahabat dan rekan-rekan seperjuangan tercinta yang tak henti memberikan dukungan dan motivasi kepada penulis.

Tak ada gading yang tak retak, begitu pula dengan penyusunan Skripsi ini. Penulis menyadari banyak kekurangan dan masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu Penulis mengharap segala saran dan kritik dari pembaca untuk menyempurnakan Skripsi ini. Semoga Skripsi ini bisa berguna bagi siapa saja yang membacanya.

Wassalamu 'alaikum Wr.Wb

Surakarta, 28 Oktober 2017



Feronika Rochyani

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
INTISARI	xvii
ABSTRACT	xviii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Tanaman Bangle (<i>Zingiber cassumunar</i> Roxb.)	5
1. Sistematika tanaman.....	5
2. Nama lain	5
3. Morfologi tanaman	5
4. Kandungan kimia	6
5. Kegunaan rimpang bangle (<i>Zingiber cassumunar</i> Roxb)	6
6. Aktivitas antibakteri bangle.....	6
B. Simplisia	7
1. Pengertian simplisia	7
2. Pengumpulan simplisia.....	8
C. Minyak Atsiri.....	8
1. Pengertian.....	8
2. Sifat minyak atsiri	8
3. Metode isolasi minyak atsiri.....	9
3.1 Destilasi minyak atsiri.....	9
4. Identifikasi minyak atsiri.....	10
D. <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	11

1.	Sistematika <i>Staphylococcus aureus</i>	11
2.	Morfologi dan sifat.....	11
3.	Patogenesis	12
E.	Antibakteri.....	13
1.	Mekanisme kerja	13
2.	Antimikroba yang menghambat metabolisme sel mikroba....	14
3.	Antimikroba yang menghambat sintesis dinding sel mikroba.....	14
4.	Antimikroba yang mengganggu keutuhan membrane sel mikroba.....	14
5.	Antimikroba yang menghambat sintesis protein sel mikroba.....	14
6.	Antimikroba yang menghambat sintesis asam nukleat sel mikroba.....	15
F.	Hewan Percobaan	15
1.	Hewan Uji Kelinci New Zealand White.....	15
2.	Data Biologi	16
3.	Cara Handling.....	16
G.	Infeksi	16
H.	Gel Semprot (<i>Spray Gel</i>).....	17
I.	Monografi Bahan.....	18
1.	Carbopol 940 (Polyacrilic acid)	18
2.	Propilen glikol	19
3.	Triethanolamin	19
4.	Metil paraben (Nipagin)	19
5.	Propil paraben (Nipazol)	19
6.	Akuadest.....	20
7.	Gentamisin.....	20
J.	Uji Mutu Fisik <i>Spray Gel</i>	20
1.	Pemeriksaan Organoleptik	20
2.	Pemeriksaan Homogenitas	20
3.	Pengukuran Viskositas	20
4.	Pengukuran pH.....	20
5.	Pemeriksaan Pola Penyemprotan	21
6.	Pengujian Daya Sebar Lekat	21
K.	Uji Stabilitas <i>Spray Gel</i>	21
1.	Freeze Thaw	21
L.	Landasan Teori	22
M.	Hipotesa.....	24
BAB III METODE PENELITIAN		25
A.	Populasi dan Sampel.....	25
1.	Populasi	25
2.	Sampel.....	25
B.	Variabel Penelitian	25
1.	Identifikasi variabel utama	25

2.	Klasifikasi variabel utama	25
3.	Definisi operasional variabel utama	26
C.	Bahan dan Alat	27
1.	Bahan.....	27
1.1	Bahan Sampel. Bahan sampel yang digunakan adalah minyak atsiri dari rimpang bangle yang masih segar dan bebas dari penyakit.	27
1.2	Bahan Kimia.	27
1.3	Bakteri Uji. Bakteri uji.....	27
1.4	Hewan Uji.	27
2.	Alat	27
D.	Jalannya Penelitian	27
1.	Determinasi tanaman rimpang bangle	28
2.	Pengambilan bahan.....	28
3.	Isolasi minyak atsiri dengan metode destilasi uap air	28
4.	Analisis Minyak Atsiri	28
4.1	Pengamatan organoleptik.....	29
4.2	Identifikasi minyak atsiri.	29
4.3	Penetapan indeks bias minyak atsiri.	29
4.4	Penetapan bobot jenis minyak atsiri.	29
4.5	Penetapan kelarutan dalam alkohol. Minyak atsiri dipipet sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam gelas ukur 10 ml.....	29
5.	Formula <i>Spray Gel</i>	30
6.	Pembuatan Sediaan <i>Spray Gel</i>	30
7.	Pembuatan kontrol.....	30
7.1.	Kontrol negatif.....	31
7.2.	Kontrol positif.....	31
7.3.	Kontrol normal.....	31
8.	Pengujian sifat fisik sediaan <i>spray gel</i>	31
8.1.	Uji organoleptik.	31
8.2.	Uji homogenitas <i>spray gel</i>	31
8.3.	Uji pH <i>spray gel</i>	31
8.4.	Uji viskositas <i>spray gel</i>	31
	Uji daya lekat <i>spray gel</i>	31
8.5.	Pemeriksaan pola penyemprotan.	32
8.6.	Uji daya sebar <i>spray gel</i>	32
8.7.	Uji stabilitas sediaan <i>spray gel</i>	32
9.	Identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	32
9.1	Identifikasi makroskopik pada media deferensial.....	32
9.2	Identifikasi mikroskopis dengan pewarnaan Gram.....	33
9.3	Identifikasi bakteri dengan uji biokimia.	33
10.	Pembuatan suspensi bakteri.....	33
E.	Pengujian Aktivitas Antibakteri secara <i>in vivo</i>	34
F.	Pengamatan Pengujian Efek Antibakteri.....	34

G.	Perhitungan jumlah koloni bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dari nanah.....	34
H.	Analisis Data	35
I.	Skema Penelitian	35
BAB IV	HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	41
A.	Hasil Penelitian.....	41
1.	Determinasi tanaman rimpang bangle	41
2.	Pengambilan Bahan	41
3.	Isolasi minyak atsiri dengan metode destilasi uap air	41
4.	Analisa minyak atsiri.....	42
4.1.	Pengamatan organoleptik minyak atsiri.....	42
4.2.	Identifikasi minyak atsiri.....	42
4.3.	Penetapan indeks bias minyak atsiri.....	43
4.4.	Penetapan bobot jenis minyak atsiri.....	44
4.5.	Penetapan kelarutan dalam alkohol.....	44
5.	Hasil pengujian sifat fisik sediaan <i>spray gel</i> minyak atsiri rimpang bangle	44
5.1.	Organoleptik.....	44
5.2.	Hasil uji homogenitas <i>spray gel</i>	46
5.3.	Hasil uji pH <i>spray gel</i>	46
5.4.	Hasil uji viskositas <i>spray gel</i>	48
5.5.	Hasil uji daya sebar <i>spray gel</i>	49
5.6.	Hasil uji daya sebar lekat <i>spray gel</i>	50
5.7.	Uji pemeriksaan pola penyemprotan	51
6.	Hasil pengujian stabilitas <i>spray gel</i>	52
6.1.	Hasil uji organoleptik.....	53
6.2.	Hasil uji pH <i>spray gel</i>	53
6.3.	Uji viskositas <i>spray gel</i>	55
7.	Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 berdasarkan koloni	56
8.	Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 dengan metode pewarnaan Gram	56
9.	Hasil Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 secara biokimia.....	57
10.	Pembuatan suspensi bakteri uji	58
11.	Hasil pengujian aktivitas antibakteri secara <i>in vivo</i>	58
12.	Hasil perhitungan jumlah koloni bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 dari nanah.....	61
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	66
A.	Kesimpulan.....	66
B.	Saran	66
	DAFTAR PUSTAKA.....	67

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 1. Rimpang bangle 6	
Gambar 2. Skema isolasi minyak atsiri rimpang bangle 36	
Gambar 3. Skema kerja pembuatan formulasi <i>spray gel</i> 37	
Gambar 4. Skema kerja pembuatan formulasi <i>spray gel</i> 38	
Gambar 5. Skema pengujian <i>spray gel</i> minyak atsiri rimpang bangle. 39	
Gambar 6. Hasil uji pH spary gel minyak atsiri rimpang bangle 47	
Gambar 7. Hasil viskositas <i>spray gel</i> minyak atsiri rimpang bangle dengan berbagai konsentrasi minyak atsiri 48	
Gambar 8. Hasil pemeriksaan pola penyemprotan <i>spray gel</i> minyak atsiri rimpang bangle 52	
Gambar 9. Hasil uji pH sebelum dan setelah uji kestabilan dengan metode freeze thaw <i>spray gel</i> minyak atsiri rimpang	

bangle	54
Gambar 10. Hasil pengukuran viskositas <i>spray gel</i> minyak atsiri rimpang bangle sebelum dan setelah uji kestabilan dengan metode freeze thaw	55
Gambar 11. Waktu penyembuhan infeksi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 pada kulit punggung kelinci setelah disemprotkan <i>spray gel</i> rimpang bangle dengan berbagai konsentrasi	61

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Formulasi Semprot	Gel
.....	
30	
Tabel 2. Rancangan Formula <i>Spray Gel</i> yang telah Dimodifikasi	
.....	
30	
Tabel 3. Rendemen minyak atsiri rimpang bangle (<i>Zingiber cassumunar</i> Roxb.)	
.....	
41	
Tabel 4. Hasil pemeriksaan organoleptik minyak atsiri rimpang bangle	
.....	
42	
Tabel 5. Hasil uji identifikasi minyak atsiri rimpang bangle	
.....	
43	
Tabel 6. Hasil uji indeks bias minyak atsiri rimpang bangle	
.....	
43	
Tabel 7. Hasil penetapan bobot jenis minyak atsiri rimpang bangle	
.....	
44	
Tabel 8. Hasil organoleptik formula gel minyak atsiri rimpang bangle	
.....	
45	
Tabel 9. Hasil homogenitas <i>spray gel</i> minyak atsiri rimpang bangle dengan berbagai konsentrasi minyak atsiri.	

	46
Tabel 10.	Hasil uji pH <i>sprary gel</i> minyak atsiri rimpang bangle.
	46
Tabel 11.	Hasil viskositas <i>spray gel</i> minyak atsiri rimpang bangle dengan berbagai konsentrasi minyak atsiri
	48
Tabel 12.	Hasil pengukuran daya sebar <i>spray gel</i> minyak atsiri rimpang bangle dengan berbagai konsentrasi minyak atsiri
	49
Tabel 13.	Hasil daya lekat <i>spray gel</i> minyak atsiri rimpang bangle dengan berbagai konsentrasi minyak atsiri
	51
Tabel 14.	Hasil pemeriksaan pola penyemprotan <i>spray gel</i> minyak atsiri rimpang bangle
	51
Tabel 15.	Hasil uji organoleptik stabilitas <i>spray gel</i> minyak atsiri rimpang bangle dengan berbagai konsentrasi minyak atsiri dengan menggunakan metode freeze thaw.
	53
Tabel 16.	Hasil uji pH sebelum dan setelah uji kestabilan dengan metode freeze thaw <i>spray gel</i> minyak atsiri rimpang bangle.
	53
Tabel 17.	Hasil pengukuran viskositas <i>spray gel</i> minyak atsiri rimpang bangle sebelum dan setelah uji kestabilan dengan metode freeze	

thaw.

.....
55

Tabel 18. Hasil uji aktivitas antibakteri *spray gel* minyak atsiri rimpang bangle terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

.....
59

Tabel 19. Waktu penyembuhan infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada kulit punggung kelinci setelah disemprotkan *spray gel* rimpang bangle dengan berbagai konsentrasi

.....
60

Tabel 21. Hasil perhitungan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 setelah pengurangan jumlah koloni kontrol normal

..... 62

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman.....	75
Lampiran 2. Surat Keterangan Hewan Uji	76
Lampiran 3. Rimpang bangle dan destilasi	77
Lampiran 9. Hasil identifikais bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	83
Lampiran 11. Hasil identifikasi koloni <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 yang diinfeksiikan pada kulit punggung kelinci	84
Lampiran 12. Hasil pengujian efek antibakteri minyak atsiri rimpang bangle terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923secara <i>in vivo</i>	85
Lampiran 13. Hasil perhitungan kadar minyak atsiri rimpang bangle	87
Lampiran 14. Hasil perhitungan indeks bias minyak atsiri rimpang bangle	87
Lampiran 15. Perhitungan bobot jenis minyak atsiri rimpang bangle	87
Lampiran 16. Hasil uji pH <i>spray gel</i>	89
Lampiran 17. Analisis uji pH <i>spray gel</i>	90
Lampiran 18. Hasil uji viskositas <i>spray gel</i>	94
Lampiran 19. Analisis uji viskositas <i>spray gel</i>	95
Lampiran 21. Analisis uji stabilitas pH <i>spray gel</i>	99
Lampiran 22. Hasil uji stabilitas viskositas <i>spray gel</i>	102
Lampiran 23. Analisis uji stabilitas viskositas <i>spray gel</i>	102
Lampiran 24. Hasil daya sebar <i>spray gel</i>	106
Lampiran 25. Analisis daya sebar <i>spray gel</i>	107
Lampiran 26. Hasil perhitungan jumlah koloni bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	110
Lampiran 27. Analisis jumlah koloni bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	111

Lampiran 28. Hasil pola penyemprotan <i>spray gel</i>	116
Lampiran 29. Analisis pola penyemprotan <i>spray gel</i>	117
Lampiran 30. Komposisi media.....	121

INTISARI

ROCHYANI, F., 2017, UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI *SPRAY GEL* MINYAK ATSIRI RIMPANG BANGLE (*Zingiber cassumunar* Roxb.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 SECARA *IN VIVO*, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Komponen utama rimpang bangle terpinen-4-ol dan sabinen memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Berdasarkan aktivitas antibakteri minyak atsiri rimpang bangle dibuat sediaan *spray gel* yang mudah digunakan dan nyaman dipakai pada infeksi kulit. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri *spray gel* minyak atsiri rimpang bangle yang berkhasiat sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara *in vivo*.

Minyak atsiri rimpang bangle diperoleh dengan metode destilasi uap air, dan pembuatan *spray gel* dengan konsentrasi 1,56%; 3,125%; 6,25%, kemudian diuji mutu fisik dan stabilitas gel. Uji aktivitas antibakteri *spray gel* minyak atsiri rimpang bangle dilihat dengan mengamati lamanya penyembuhan infeksi ditandai dengan keringanya luka, hilangnya nanah dan penurunan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Data yang diperoleh diolah dengan spss metode dua jalur.

Minyak atsiri rimpang bangle dapat dibuat sediaan *spray gel* dengan mutu fisik baik dan stabilitas yang baik pada konsentrasi 1,56%. Hasil uji aktivitas antibakteri *spray gel* minyak atsiri rimpang bangle dengan berbagai konsentrasi memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diinfeksi pada kelinci. Berdasarkan uji kolmogrov signifikansinya $0,083 > 0,05$ *spray gel* minyak atsiri rimpang bangle konsentrasi 6,25% memiliki efek penyembuhan paling optimal terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diinfeksi pada kelinci.

Kata kunci: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Spray Gel*, Minyak Atsiri, *Zingiber cassumunar* Roxb.

ABSTRACT

ROCHYANI, F., 2017, *SPRAY GEL* ANTIBACTERIAL ACTIVITY TESTS ESSENTIAL OIL RHIZOME BANGLE (*Zingiber cassumunar* Roxb.) *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ON THE *IN VIVO*, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

The main components of rhizome bangle-4-ol terpinen and sabinen have antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Based on the antibacterial activity of essential oil rhizome bangle made *spray gel* preparations are easy to use and comfortable to use on skin infections. This study aims to determine the antibacterial activity of essential oil *spray gel* of bangle rhizome which is efficacious as antibacterial to *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 *in vivo*.

Essential oil of bangle rhizome obtained by water vapor distillation method, and manufacture of spray gel with concentration 1.56%; 3.125%; 6.25%, then tested the physical quality and gel stability. Test of antibacterial activity of *spray gel* of essential oil of rhizome bangle seen by observing the duration of healing infection marked by dryness of wound, loss of pus and decreasing number of colony of bacterium *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. The data obtained is processed by spss method two lane.

Essential oil bangle rhizome can be made *spray gel* preparations with good physical quality and good stability at a concentration of 1.56%. The antibacterial activity test of *spray gel* of essential oil of bangle rhizome with various concentrations has antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 infected on rabbit. Based on the kolmogrov significance test of $0.083 > 0.05$ *spray gel* essential oil rhizome bangle concentration of 6.25% has the most optimal healing effect against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 bacteria infected in rabbits.

Keywords: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Spray Gel*, Essential Oils, *Zingiber cassumunar* Roxb.

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Infeksi merupakan suatu ancaman yang besar bagi kesehatan. Salah satu penyebabnya adalah kurangnya menjaga kebersihan. Kurangnya menjaga kebersihan kulit. Infeksi yang disebabkan oleh bakteri dapat menimbulkan iritasi yang berkepanjangan. Infeksi bakteri dapat terjadi oleh siapa saja, kapan saja, dan dimana saja. Salah satu bakteri yang menyebabkan infeksi adalah bakteri *Staphylococcus aureus*. Bakteri ini umumnya hidup pada kulit dan membran mukosa manusia. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang menyebabkan infeksi kulit ringan, keracunan makanan, sampai infeksi berat. Pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dihambat dengan suatu antibakteri. Antibakteri merupakan suatu zat yang dapat menghambat atau bahkan mematikan bakteri dengan jalan menghambat dan mengganggu metabolisme dari bakteri.

Tanaman yang digunakan sebagai antibakteri adalah rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb). Tanaman yang termasuk suku *Zingiberaceae* ini banyak ditanam pada pekarangan rumah sebagai obat. Bagian tanaman yang sering digunakan untuk obat adalah rimpang. Penggunaan rimpang bangle disuling dengan destilasi uap air dan diambil minyak atsirinya. Minyak atsiri merupakan salah satu sumber alam yang cukup menarik untuk dikembangkan karena ketersediaannya yang cukup tinggi dan mengandung berbagai zat aktif. Komponen utama yang berperan aktif terhadap aktivitas rimpang bangle sebagai antibakteri adalah terpinen-4-ol dan sabinen. Terpinen-4-ol juga diketahui memiliki kemampuan dalam menghambat biofilm (Bhuiyan *Met al* 2008). Rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) menghasilkan 0,95% minyak atsiri dengan salah satu komponen utamanya 4-terpineol (Bhuiyan *et al* 2008). Minyak atsiri dari rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) teruji secara *invitro* dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif, fungi dermatophyta dan ragi (Pithayanukul dkk 2007; Tripathi dkk 2008; Jantan dkk 2003). Berdasarkan penelitian sebelumnya menunjukkan minyak atsiri rimpang

bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) aktif terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan konsentrasi hambat minimum (KHM) 3,125% dan 12,5% (Lia Marlioni 2012, Lanjar Raharjo dan Gunardi 2009).

Berdasarkan aktivitas antibakteri yang dimiliki minyak atsiri rimpang bangle maka perlu dikembangkan suatu sediaan farmasi untuk mempermudah penggunaannya. Salah satu sediaan farmasi yang dapat mempermudah penggunaannya ialah *spray gel*. Sediaan untuk antiseptik salah satunya adalah gel dan spray. Gel semprot atau *spray gel* menurut Hollan *et al* (2002) mengatakan istilah “gel atau hidrogel” mengacu bahan yang memiliki fase berair dengan setidaknya 10% sampai 90% dari berat sediaan. Menurut Kamishita *et al* (1992) gel semprot dapat diformulasikan dengan obat yang larut maupun tidak larut dalam air. Penggunaan obat yang tidak larut dalam air maka zat aktif terlebih dahulu dilarutkan atau didispersikan dalam pelarut organik atau pelarut yang dapat melarutkan zat aktif namun dapat larut dalam air (water-soluble organic solvent). Kunci dari formulasi *spray gel* adalah adanya ketepatan dalam pemilihan polimer dan *plasticizer* (Widyaningrum dkk 2015) ketika digunakan akan mudah kering dan tidak lengket di kulit. Pemanfaatan polimer sebagai pembentukan film untuk membalut sekaligus mengobati luka sedang gencar dilakukan (Widyaningrum dkk 2015).

Teknik semprot merupakan salah satu sediaan baru yang memiliki keuntungan dimana dengan teknik semprot memungkinkan sediaan yang akan dihantarkan ke luka tanpa melalui kontak dengan kapas swab, sehingga dapat meminimalkan limbah, mengurangi kemungkinan kontaminasi atau infeksi dan trauma pada pasien. Sediaan topikal dengan teknik semprot lebih disukai dibandingkan salep atau gel, terutama untuk luka di kulit (Jauregui 2009) *spray delivery* dapat meningkatkan penetrasi polimer ke area luka sehingga membuat potensi pengiriman zat aktif semakin efisien. Sediaan *spray gel* mempunyai kelebihan dari sediaan topikal lainnya yaitu lebih aman, lebih praktis penggunaannya, dan lebih mudah dicuci. Sediaan *spray gel* merupakan sediaan larutan yang dimasukkan dalam sebuah alat sprayer sehingga pemakaiannya dengan cara disemprot. Larutan adalah campuran homogen dari dua atau lebih macam zat

yang terdiri dari zat yang terlarut (solute) dan zat pelarut (solven) (Marzuki *et al* 2010).

Berdasarkan latar belakang diatas, maka peneliti ingin mengetahui potensi sediaan *spray gel* antibakteri minyak atsiri rimpang bangle terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Hasil penelitian ini diharapkan dapat dimanfaatkan untuk mencegah dan mengobati infeksi yang disebabkan aktivitas bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang masalah diatas, maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

Pertama, apakah minyak atsiri rimpang bangle dapat dibuat dalam bentuk sediaan *spray gel* dengan mutu fisik baik dan stabilitas yang baik?

Kedua, apakah sediaan *spray gel* minyak atsiri rimpang bangle memiliki daya aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diinfeksi pada kelinci?

Ketiga, pada konsentrasi berapakah penyembuhan paling optimal dari konsentrasi 1,56%, 3,125%, 6,25% pada sediaan *spray gel* minyak atsiri rimpang bangle terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diinfeksi pada kelinci?

C. Tujuan Penelitian

Pertama, mengetahui minyak atsiri rimpang bangle dapat dibuat dalam bentuk sediaan *spray gel* dengan mutu fisik baik dan stabilitas yang baik.

Kedua, mengetahui apakah sediaan *spray gel* minyak atsiri rimpang bangle memiliki daya aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diinfeksi pada kelinci.

Ketiga, mengetahui konsentrasi penyembuhan paling optimal dari konsentrasi 1,56%, 3,125%, 6,25% pada sediaan *spray gel* minyak atsiri rimpang bangle terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diinfeksi pada kelinci.

D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat bagi masyarakat luas pengembangan ilmu pengetahuan dibidang ilmu kesehatan terutama tentang dalam pengobatan secara tradisional yang saat ini masih berdasarkan pengalaman, dengan penambahan data hasil penelitian. Uji aktivitas antibakteri *spray gel* minyak atsiri rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diinfeksi pada kelinci diharapkan dapat menjadi referensi tambahan dan dapat memberikan landasan ilmiah bagi penelitian selanjutnya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.)

1. Sistematika tanaman

Menurut Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (2013) sistematika tumbuhan bangle adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Kelas	: Monocotyledoneae
Bangsa	: Zingiberales
Suku	: Zingiberaceae
Marga	: <i>Zingiber</i>
Jenis	: <i>Zingiber montanum</i> (J.König) Link ex A. Dietr
Sinonim	: <i>Zingiber purpureum</i> Roscoe <i>Zingiber cassumunar</i> Roxb

2. Nama lain

Panglai (Sunda), bangle (Jawa), pandiyang (Madura), manglai (Sulawesi), bale (Makasar), bangalai (Kalimantan), mungle (Aceh), banglai (Palembang), bunglai, bangle, kunit bolai (Melayu), banggele (Bali), unin pakei (Ambon), bangle (Ternate, Tidore) (Syukur *et al* 2001).

3. Morfologi tanaman

Bangle tumbuh di daerah Asia tropika dari India sampai Indonesia. *Zingiber purpureum* Roxb merupakan tanaman herba semusim. Batangnya tegak, berwarna hijau, dengan rimpang kuat, menjalar berdaging, tangkai daun pendek, daun tunggal, persilangan menyirip, pangkal tumpul, ujung sangat lancip, kedua permukaan berbulu halus, panjang helai daun 23-25 cm, lebar 20-25 cm. Bagian yang mengandung bunga berbentuk tandan, bentuk bundar telur atau seperti gelondong, panjang 6-10 cm, lebar 4-5 cm. Daun kelopak tersusun seperti sisik tebal. Kelopak seperti tabung, ujungnya bergerigi 3, panjang lebih kurang 1,5 cm, warna merah menyala. Akar serabut, berwarna putih kotor (Syukur *et al* 2001).



Gambar 1. Rimpang bangle

4. Kandungan kimia

Zingiber purpureum Roxb mengandung bahan-bahan berupa minyak atsiri 1,8 % atas dasar bahan kering, mengandung komponen antara lain sabinen, terpinen-4-ol, seskuifelandren, sineol, asam dan gom, asam-asam organik dan albuminoid serta kurkuminoid (Hanani 2000; Depkes 1989; Syamsuhidayat dan Hutapea 1991). Kandungan senyawa organik lainnya adalah damar, lemak, gom, gula, mineral albuminoid dan asam-asam organik (Wonohadi *et al* 2000).

5. Kegunaan rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb)

Rimpang bangle digunakan secara tradisional untuk mengobati demam, sakit kepala, batuk berdahak, masuk angin, sembelit, sakit kuning, cacangan, reumatik, ramuan jamu pada wanita setelah melahirkan, mengecilkan perut setelah melahirkan dan kegemukan (Agoes 2010).

6. Aktivitas antibakteri bangle

Aktivitas minyak atsiri rimpang bangle sebagai antibakteri diduga disebabkan oleh komponen utamanya terdiri dari terpinen-4-ol (Bhuiyan *et al* 2008). Mekanisme terpinen-4-ol sebagai antimikroba berdasarkan atas kemampuannya merangsang kerusakan membran dengan pembentukan mesosom dan penghilangan material sitoplasma sel. Jenis komponen kimia lain dalam minyak atsiri rimpang bangle memungkinkan tidak hanya satu mekanisme dan satu komponen yang bertanggung jawab terhadap aktivitasnya sebagai antibakteri (Carson *et al* 2002). Sifat lipofilitas dari minyak atsiri memiliki peran penting dalam aktivitasnya sebagai antibakteri. Lipofilitas minyak atsiri berkaitan dengan kemampuannya dalam menembus dinding dan membran sel serta mengganggu

struktur pada lapisan polisakarida, asam lemak fosfolipid dan permeabilitas sel. Permeabilitas membran berkaitan erat dengan hilangnya ion, reduksi potensi membran, kerusakan pompa proton, dan ketiadaan ATP. Minyak atsiri juga memiliki kemampuan mengkoagulasi sitoplasma dan merusak lipid dan protein (Tripathi *et al* 2013).

Aktivitas minyak atsiri rimpang bangle sebagai agen antibiofilm diduga oleh adanya senyawa aktif terpinen-4-ol yang mampu menghambat formasi biofilm (Budzynska *et al* 2011). Target utama aksi penghambatan biofilm dari terpinen-4-ol yaitu dinding sel dan sitoplasma membran atau protein pada membran sel berakibat pada kebocoran sel yang dapat menyebabkan kematian sel. Begitu pula pada dinding sel, dinding yang rusak dapat mengakibatkan hilangnya kemampuan bakteri untuk menempel pada permukaan dan membentuk biofilm, selain itu aktivitas penghambatan biofilm oleh terpinen-4-ol diketahui oleh adanya aktivitas sebagai anti quorum sensing (Kerekes *et al* 2013). Quorum sensing dikenal sebagai komunikasi antar bakteri yang merupakan salah satu regulasi ekspresi gen yang merespon untuk meningkatkan densitas sel saat terjadinya perubahan lingkungan. Adanya komunikasi berperan penting dalam membentuk komunikasi bakteri pada permukaan, sehingga merangsang terjadinya perubahan dari bentuk planktonik menjadi bentuk biofilm (Kerekes *et al* 2013). Kemampuan degradasi dari minyak atsiri diduga disebabkan oleh kemampuan senyawa dalam minyak atsiri yang mampu menembus atau terpenetrasi kedalam lapisan lender atau extracellular polymeric substances (EPS) pada biofilm, dan mampu menghilangkan EPS yang sudah terbentuk (Yosephine *et al* 2013).

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alami yang digunakan untuk obat dan belum mengalami perubahan proses apapun, dan kecuali dinyatakan lain umumnya berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dibagi menjadi tiga golongan, yaitu simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan atau mineral. Simplisia nabati adalah simplisia berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat

tanaman. Simplisia hewani adalah simplisia berupa hewan utuh atau bagian hewan yang masih berupa zat kimia murni. Simplisia mineral adalah simplisia berupa bahan mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat murni (Gunawan & Mulyani 2004).

2. Pengumpulan simplisia

Simplisia yang digunakan pada penelitian ini adalah simplisia nabati dan yang digunakan adalah seluruh bagian herba. Pemanenan dan pengumpulan herba pada umumnya ketika herba telah berbunga. Pengumpulan herba dilakukan sebaiknya pada saat cuaca kering, bila suasana basah akan menurunkan mutu dan warnanya akan hilang serta berubah selama pengeringan (Depkes RI 2007).

C. Minyak Atsiri

1. Pengertian

Minyak atsiri adalah zat berbau yang terkandung dalam tanaman. Minyak ini juga disebut minyak menguap, minyak eteris, atau minyak esensial karena pada suhu biasa (kamar) mudah menguap di udara terbuka. Istilah esensial dipakai karena minyak atsiri mewakili bau dari tanaman asalnya (Gunawan dan Mulyani 2004). Minyak atsiri sering disebut dengan minyak menguap, karena pada suhu kamar mudah menguap. Minyak atsiri dalam keadaan segar dan murni, umumnya tidak berwarna. Minyak atsiri pada penyimpanan lama dapat teroksidasi. Untuk mencegahnya, minyak atsiri harus disimpan dalam bejana gelas yang berwarna gelap, diisi penuh, ditutup rapat, serta disimpan ditempat yang kering dan sejuk (Armando 2009). Minyak atsiri merupakan senyawa yang pada umumnya berwujud cairan, yang diperoleh dari bagian tanaman, akar, kulit, batang, daun, buah, dan biji maupun dari bunga dengan beberapa cara penyulingan minyak atsiri (Sastrahamidjojo 2004).

2. Sifat minyak atsiri

Sifat-sifat minyak atsiri antara lain tersusun oleh bermacam-macam komponen senyawa memiliki bau khas. Umumnya bau ini memiliki bau tanaman aslinya, mempunyai rasa getir, kadang-kadang terasa tajam, menggigit memberi kesan hangat sampai panas, atau justru dingin ketika terasa dikulit, tergantung dari

jenis komponen penyusunnya, dalam keadaan murni (belum tercemar oleh senyawa lain) mudah menguap pada suhu kamar, bersifat tidak bias disabunkan dengan alkali dan tidak bisa berubah menjadi tengik, pada umumnya tidak dapat bercampur dengan air, tetapi cukup larut dapat larut hingga dapat memberikan baunya kepada air walaupun kelarutannya sangat kecil, sangat mudah larut dalam pelarut organik (Gunawan dan Mulyani 2004).

Minyak atsiri ini berupa cairan jernih, tidak berwarna selama penyimpanan akan mengental dan berwarna kekuningan atau kecoklatan. Hal tersebut terjadi karena adanya pengaruh oksidasi dan resinifikasi (berubah menjadi damar atau resin). Mencegah atau memperlambat proses oksidasi dan resinifikasi tersebut, minyak atsiri harus dilindungi dari pengaruh sinar matahari yang dapat merangsang terjadinya oksidasi dan oksigen udara yang akan mengoksidasi minyak atsiri. Minyak atsiri tersebut sebaiknya disimpan dalam wadah berbahan dasar kaca yang berwarna gelap (misalnya, botol berwarna coklat atau biru gelap) untuk mengurangi sinar yang masuk. Selain itu, botol penyimpanan minyak atsiri harus terisi penuh agar oksigen udara yang ada dalam ruang udara tempat penyimpanan tersebut kecil (Koensoemardiyah 2010). Beberapa jenis minyak atsiri yang memiliki aroma yang mirip, tetapi tidak persis sama dan sangat bergantung pada komponen kimia penyusun minyak tersebut. Tidak semua jenis tumbuhan menghasilkan minyak atsiri, hanya tumbuhan yang memiliki sel glandula sajalah yang bisa menghasilkan minyak atsiri (Agusta 2000). Bagian utama adalah terpenoid, biasanya terpenoid terdapat pada fraksi yang tersuling uap. Zat inilah penyebab wangi, harum atau bau khas pada tumbuhan (Harborne 2007).

3. Metode isolasi minyak atsiri

3.1 Destilasi minyak atsiri. Salah satu cara yang sering dilakukan untuk mengisolasi minyak atsiri yang terkandung dari bagian tanaman adalah dengan cara destilasi. Destilasi yang digunakan karena lebih mudah dan murah. Destilasi adalah proses pemisahan komponen yang berupa cairan atau padatan dari dua macam campuran zat atau lebih. Pengaruh penting selama destilasi berlangsung adalah suhu terhadap minyak atsiri. Semua senyawa penyusun minyak atsiri tidak stabil atau peka terhadap suhu tinggi, sehingga untuk memperoleh kualitas minyak

atsiri diupayakan suhu pemanasan tetap rendah. Pada suhu pemanasan tinggi maka pemanasan destilasi diusahakan dalam waktu yang sesingkat mungkin (Sastrohamidjojo 2004).

3.1.1 Destilasi Air. Metode ini, bahan tanaman yang akan disuling mengalami kontak langsung dengan air mendidih. Bahan dapat mengapung diatas air atau terendam secara sempurna, tergantung pada berat jenis dan jumlah bahan yang disuling. Ciri khas model ini yaitu adanya kontak langsung antara bahan dan air mendidih. Penyulingan ini sering disebut dengan penyulingan langsung. Kelebihannya adalah alatnya sederhana dan waktu yang dibutuhkan untuk mendapatkan minyak atsiri sebentar. Kekurangannya adalah destilasi air tidak cocok untuk bahan baku yang tidak tahan uap panas dan kualitas hasil penyulingan tidak sebaik destilasi uap-air. Penyulingan dengan cara langsung ini dapat menyebabkan banyaknya rendemen minyak yang hilang (tidak tersuling) dan terjadi pula penurunan mutu minyak yang diperoleh (Sastrohamidjojo 2004).

3.1.2 Destilasi uap dan air. Bahan tanaman yang akan diproses secara penyulingan uap dan air ditempatkan dalam suatu tempat yang bagian bawah dan tengah berlobang – lobang dan ditopang diatas dasar penyulingan. Bahan tanaman yang akan disuling hanya terkena air yang mendidih (Sastrohamidjojo 2004).

3.1.3 Destilasi uap langsung. Model penyulingan ini, bahan tanaman yang akan disuling diletakkan di atas rak-rak atau saringan berlubang. Ketel penyulingan diisi dengan air sampai permukaannya tidak jauh dari bagian bawah saringan. Ciri khas model ini yaitu uap selalu dalam keadaan basah, jenuh dan tidak terlalu panas. Bahan tanaman yang akan disuling hanya berhubungan dengan uap dan tidak dengan air panas. Destilasi uap ini merupakan destilasi yang paling baik karena dapat menghasilkan minyak atsiri dengan kualitas yang tinggi karena tidak bercampur dengan air.

4. Identifikasi minyak atsiri

Minyak atsiri ditetaskan pada permukaan air, minyak atsiri akan menyebar dan permukaan air tidak keruh. Minyak atsiri ditetaskan pada kertas saring. Minyak yang dibiarkan akan menguap sempurna tanpa meninggalkan noda lemak (Gunawan dan Mulyani 2004).

D. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

1. Sistematika *Staphylococcus aureus*

Sistematika bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menurut Garrity *et al* (2007) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Class	: Bacili
Ordo	: Bacillales
Famili	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>

2. Morfologi dan sifat

Staphylococcus berasal dari perkataan *staphyle* yang berarti kelompok buah anggur dan kokus yang berarti benih bulat. Kuman ini merupakan gram positif yang berbentuk sferis, tidak bergerak, berspora dan menggerombol dalam susunan yang tidak teratur dengan diameter masing-masing antara 0,8-1,0 mikron (Jawetz *et al* 2001).

Staphylococcus aureus ATCC 25923 normal terdapat pada kulit, mulut, tenggorokan, dan hidung manusia. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat masuk kedalam tubuh melalui kerusakan kulit atau melalui rusaknya folikel rambut dan saluran pada jaringan penghasil keringat. Selain dapat menyebabkan intoksikasi, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 juga dapat menyebabkan bermacam-macam infeksi seperti jerawat, bisul, meningitis, osteomielitis, pneumonia dan mastitis pada manusia dan hewan (Jawetz *et al* 2001).

Staphylococcus aureus ATCC 25923 mempunyai warna khas kuning keemasan hanya intensitas warnanya dapat bervariasi, koloni yang masih sangat

muda tidak berwarna, tetapi dalam pertumbuhannya terbentuk pigmen yang larut dalam alkohol, eter, kloroform, dan benzol. Pigmen ini termasuk dalam golongan lipolirum dengan alam tetap dalam koloni tidak meresap dalam pembenihan, tetapi larut dalam eksudat jaringan-jaringan sehingga nanah berwarna sedikit kuning keemasan yang merupakan petunjuk tentang adanya infeksi oleh kuman ini. Setiap jaringan atau alat tubuh dapat diinfeksi oleh bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan menyebabkan timbulnya penyakit dengan tanda-tanda khas yaitu peradangan dan pembentukan abses (Jawetz *et al* 2001).

Staphylococcus aureus ATCC 25923 dapat meragikan banyak karbohidrat dengan lambat, menghasilkan asam laktat tapi tidak menghasilkan gas. Aktivitas proteolitik sangat bervariasi, tetapi katalase dihasilkan secara tetap. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 relatif resisten terhadap pengeringan dan terhadap panas (tahan pada suhu 90°C selama 30 menit). Banyak strain resisten terhadap penisilin karena membentuk beta-laktamase, suatu enzim yang merusak penisilin dengan memecahkan cincin beta-laktam. Pembentukannya diatur oleh plasmid yang dapat dipindahkan oleh bakteriofage (transduksi). Plasmid juga membawa kontrol genetik resistensi terhadap antibiotik lainnya, misalnya tetrasiklin dan eritromisin. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 tumbuh dengan mudah pada sebagian besar media bakteriologis dengan kondisi aerob atau mikroaerofilik, tumbuh paling cepat pada 37°C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada temperatur ruang (20-25°C). Koloni pada media solid berbentuk bulat, halus, timbul, dan mengkilat (Jawetz *et al* 2012).

3. Patogenesis

Staphylococcus aureus ATCC 25923 merupakan penyebab infeksi yang bersifat *pyogenes* (pembentuk pus/nanah). Bakteri ini masuk ke dalam tubuh melalui folikel rambut, *sebaceous gland* (kelenjar keringat) atau luka-luka kecil. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 patogen mempunyai sifat dapat menghemolisa darah, menghasilkan koagulasi, membentuk pigmen berwarna kuning emas, dan dapat memecah manitol menjadi asam. Infeksi yang ditimbulkan oleh *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat meluas ke jaringan sekitarnya melalui darah dan limfe. Pernaahan yang bersifat menahun atau timbul radang yang

disebut *osteomyelitis*. Perluasan lain juga dapat sampai ke paru-paru, selaput otak dan sebagainya (Suryono 2009).

Staphylococcus aureus ATCC 25923 terdapat dihidung pada 20-50% manusia. Kapasitas patogenik suatu galur *Staphylococcus aureus* adalah efek kombinasi faktor ekstraseluler dan toksin bersama dengan sifat invasif galur itu. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang invasif dan patogenik menghasilkan koagulasi dan cenderung menghasilkan pigmen kuning serta bersifat hemolitik. Sekitar 50% galur *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat menghasilkan satu atau lebih jenis enterotoksin, seperti TSST-1, enterotoksin merupakan antigen super. Enterotoksin bersifat stabil panas dan resisten terhadap kerja enzim usus (Jawetz *et al* 2012).

E. Antibakteri

Antibakteri adalah zat atau senyawa kimia yang digunakan untuk memusnahkan bakteri, khususnya bakteri yang merugikan manusia. Definisi ini kemudian berkembang menjadi senyawa yang dalam konsentrasi tertentu mampu menghambat bahkan membunuh proses kehidupan suatu mikroorganisme (Jawetz *et al* 2001).

Kemungkinan situs suatu zat antibakteri dapat diduga dengan mengenali struktur serta sel bakteri. Kerusakan pada salah satu situs dapat mengawali terjadinya perubahan-perubahan yang menunjukkan kepada matinya sel tersebut. Perubahan-perubahan yang terjadi yaitu kerusakan pada dinding sel dengan cara menghambat pembentukannya atau setelah selesai terbentuk (Jawetz *et al*.2001), perubahan permeabilitas sel, perubahan molekul protein dan asam nukleat dengan mendenaturasikan protein dan asam-asam nukleat sehingga merusak sel tanpa dapat diperbaiki lagi (Jawetz *et al* 2001), penghambatan kerja enzim, penghambatan sintesis asam nukleat dan protein.

1. Mekanisme kerja

Mekanisme antibakteri merupakan peristiwa penghambatan bakteri oleh antibakteri. Suatu zat antibakteri dapat bersifat bakteristatik (hanya menghambat) atau dapat bersifat bakterisid (membunuh bakteri) perbedaan dari kedua sifat

tersebut didasarkan dosis yang digunakan. Suatu antibakteri yang ideal memiliki toksisitas selektif yang berarti obat antibakteri tersebut hanya berbahaya bagi bakteri tetapi tidak relatif membahayakan bagi hospes atau manusia (Pelczar *et al* 1988).

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antibakteri dibagi dalam lima kelompok (Setiabudy 2007)

2. Antimikroba yang menghambat metabolisme sel mikroba

Antimikroba yang termasuk dalam kelompok ini adalah sulfonamide, trimethoprim, asam p-aminosalisilat (PAS) dan sulfon. Mekanisme kerja ini diperoleh efek bakteristatik. Kuman patogen harus mensintesis sendiri asam folat dari asam amino benzoate (PABA) untuk kebutuhan hidupnya. Sulfonamide atau sulfon dapat menang kompetitif dengan PABA untuk diikut sertakan dalam pembentukan asam folat yang non fungsional. Akibatnya, kehidupan mikroba akan terganggu (Setiabudy 2007).

3. Antimikroba yang menghambat sintesis dinding sel mikroba

Obat yang termasuk dalam kelompok ini adalah penisilin, sefalosporin, bacitrasin, vankomisin, dan sikloserin. Obat-obat tersebut menghambat reaksi sintesis dinding sel yang tersusun atas peptidoglikan menyebabkan tekanan osmotik dalam sel kuman lebih tinggi daripada diluar sel sehingga kerusakan dinding sel kuman akan menyebabkan terjadinya lisis, yang merupakan dasar efek bakterisidal pada kuman yang peka (Setiabudy 2007).

4. Antimikroba yang mengganggu keutuhan membrane sel mikroba

Obat yang termasuk kelompok ini adalah polimiksin, golongan polien, dan berbagai antimikroba kemoterapeutik. Polimiksin sebagai senyawa ammonium-kuaertener dapat merusak membran sel setelah bereaksi dengan fosfat pada fosfolipid membran sel mikroba. Antibiotik polien bereaksi dengan struktur sterol yang terdapat pada membran sel fungus sehingga mempengaruhi permeabilitas selektif membran tersebut. Antiseptik yang mengubah tegangan permukaan dapat merusak permeabilitas selektif dari membran sel mikroba sehingga menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel mikroba (Setiabudy 2007).

5. Antimikroba yang menghambat sintesis protein sel mikroba

Obat yang termasuk dalam kelompok ini adalah aminoglikosida, makrolida, linkomisin, tetrasiklin, dan klorampenikol. Sintesis protein berlangsung di ribosom, dengan bantuan Mrna dan tRNA. Pada bakteri, ribosom terdiri atas dua subunit, yang berdasarkan konstanta sedimentasi dinyatakan sebagai ribosom 30S dan 50S yang berfungsi pada sintesis protein, kedua komponen ini akan bersatu pada pangkal rantai mRNA menjadi ribosom 70S. Obat-obat tersebut menghambat sintesis sel mikroba dengan berkaitan dengan salah satu ribosom diatas (Setiabudy 2007).

6. Antimikroba yang menghambat sintesis asam nukleat sel mikroba

Antimikroba yang termasuk dalam kelompok ini adalah rifampisin dan golongan kuinolon. Rifampisin berkaitan dengan enzim polimerase-RNA sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA oleh enzim tersebut. Golongan kuinolon menghambat enzim DNA gyrase pada kuman yang fungsinya menyusun kromosom yang sangat penting menjadi bentuk spiral sehingga muat dalam sel kuman yang kecil (Setiabudy 2007 : 587).

F. Hewan Percobaan

1. Hewan Uji Kelinci New Zealand White

Klasifikasi kelinci menurut Kartadisastra (1997) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animal
Filum	: Chordata
Sub Filum	: Vertebrata
Ordo	: Logomorph
Famili	: Lepotidae
Sub Famili	: Leporine
Genus	: Oryctolagus
Spesies	: <i>Oryctolagus cuniculus</i>

Kelinci *New Zealand White* ini digunakan untuk penelitian karena memiliki beberapa keunggulan antara lain : sifat produksi tinggi, dalam pemeliharaan tidak dibutuhkan banyak biaya, siklus hidup pendek, kuatnya pertahanan tubuh terhadap

penyakit, pada lingkungan yang baru bersifat adaptif, dan tidak memerlukan tempat tinggal yang luas (Hasan 2010).

2. Data Biologi

Kelinci memiliki bobot lahir 30-100 g dan bobot dewasa 4,5-5 kg untuk jantan serta 4,5-6,5 kg untuk betina. Biasanya kelinci memiliki usia hidup 5-7 tahun. Konsumsi pakan perhari kelinci 100-200 g dengan memulai makan pakan kering pada usia 16 atau 18 hari. Konsumsi air minum perhari 200-500 ml volume ekskresi perhari 30-35 ml. Kelinci memiliki volume darah antara 55 sampai 65 ml/kg, suhu rektal kelinci 39,5 °C, laju respirasi 51 kali menit dan denyut jantung 200-300 kali/menit (Smith 1988).

3. Cara Handling

Kadang kelinci mempunyai kebiasaan untuk mencakar atau menggigit bila penanganannya kurang baik. Kelinci sering berontak dan mencakar kuku kaki dari kaki belakang kelinci sedikit kedepan dari bagian tubuh, dimana bagian tersebut kulitnya agak longgar. Kemudian angkat kelinci dan bagian bawahnya disangga (Smith 1988).

G. Infeksi

Infeksi merupakan suatu kolonisasi yang dilakukan oleh spesies asing terhadap organisme inang, dan bersifat paling membahayakan inang. Organisme penginfeksi, atau patogen, menggunakan sarana yang dimiliki inang. Patogen mengganggu fungsi normal inang dan dapat berakibat pada luka kronik, gangrene, kehilangan organ tubuh, dan bahkan kematian. Respon inang terhadap infeksi disebut peradangan. Secara umum, patogen umumnya dikategorikan sebagai organisme mikroskopik, meskipun sebenarnya mencakup bakteri, parasit, fungi, virus, dan viroid.

Setelah patogen menembus jaringan, patogen dapat berkembang diluar sel tubuh sebagai inangnya (intraseluler). Jaringan yang ditembus dapat mengalami kerusakan karena infeksi patogen tergantung pada replikasinya di dalam inangnya dan kemudian menyebar ke dalam inang yang baru dengan proses infeksi (Syahrurachman dkk 1994).

H. Gel Semprot (*Spray Gel*)

Gel semprot atau *spray gel* menurut Hollan *et al* (2002) mengatakan istilah “gel atau hidrogel” mengacu bahan yang memiliki fase berair dengan setidaknya 10% sampai 90% dari berat sediaan dan istilah “semprot atau spray” mengacu pada komposisi yang dikabutkan, seperti terdiri dari tetesan cairan berukuran kecil atau besar, yang diterapkan melalui aplikator aerosol atau pompa semprot.

Sediaan dalam bentuk semprot yang diketahui selama ini adalah aerosol dengan menggunakan hidrokarbon fluoride (seperti freon) sebagai propelan, menggunakan tangan mengoperasikan alat yang berisi larutan dengan zat aktif tertentu dengan cara disemprotkan. Kekurangan aerosol yang mengandung propelan adalah kurang maksimalnya penghantaran obat ke kulit serta terkadang terdapat zat aktif yang kurang larut dalam sediaan aerosol, serta penggunaan propelan yang dapat berpengaruh secara serius terhadap lapisan stratosphere ozon sedangkan, kekurangan spray yang berisi larutan tanpa propelan adalah sifat lekatnya yang tidak baik di kulit dan zat aktif yang larut dalam lemak belum dapat digunakan dalam sediaan ini. Gel semprot dapat mengatasi masalah aerosol dan larutan semprot karena mengandung bahan pengental yang dapat bertahan ketika di aplikasikan serta tidak mengandung propelan yang berbahaya (Kamishita *et al* 1992).

Teknik semprot merupakan salah satu sediaan baru yang memiliki keuntungan dimana dengan teknik semprot memungkinkan sediaan yang akan dihantarkan ke luka tanpa melalui kontak dengan kapas swab, sehingga dapat meminimalkan limbah, mengurangi kemungkinan kontaminasi atau infeksi dan trauma pada pasien. Sediaan topikal dengan teknik semprot lebih disukai dibandingkan salep atau gel, terutama untuk luka di kulit (Jauregui 2009) spray delivery dapat meningkatkan penetrasi polimer ke area luka sehingga membuat potensi pengiriman zat aktif semakin efisien. *Spray gel* dapat diaplikasikan ke luka berukuran kecil atau besar menggunakan alat yang sama (Scales 1963).

Mekanisme gel semprot atau *spray gel* dijelaskan dalam Porzio, (1998) yaitu keadaan tekanan, yang disebabkan oleh mekanisme penyemprotan mekanik akan menyebabkan penurunan viskositas dari formulasi. Setelah keluar disemprotkan,

keadaan bebas dari stres atau tekanan, secara cepat kembali ke konsentrasi bentuk semula.

Menurut Kamishita *et al* (1992) gel semprot dapat diformulasikan dengan obat yang larut maupun tidak larut dalam air. Penggunaan obat yang tidak larut dalam air maka zat aktif terlebih dahulu dilarutkan atau didispersikan dalam pelarut organik atau pelarut yang dapat melarutkan zat aktif namun dapat larut dalam air (water-soluble organic solvent). Contoh pelarut tersebut adalah surfaktan, alkohol dengan rumus molekul rendah (etanol, isopropanol), dan golongan glikon (propilen glikol, 1-2 butilen glikol, polietilen glikol dengan berat molekul 300-500).

I. Monografi Bahan

1. Carbopol 940 (Polyacrilic acid)

Carbopol adalah resin polyacrilic acid sintetik yang tersusun dari 0,75-2 % polialkil sukrosa maka dispersi carbopol harus dilindungi dari pertumbuhan mikroba. Carbopol disusun oleh kelompok asam karboksilat dengan berat molekul tinggi. Bentuk gel pada pH 5-10 dinetralkan dengan metalhidroksida atau amin seperti diisopropilamin dan triethanolamin. Carbopol berwarna putih, serbuk halus, bersifat asam, higroskopik, dengan sedikit karakteristik bau. Carbopol dapat larut dalam air, didalam etanol (95 %) dan gliserin, dapat terdispersi di dalam air untuk membentuk larutan koloid bersifat asam, sifat merekatnya rendah (Rowe *et al* 2006).

Carbopol bersifat stabil, higroskopik, penambahan temperatur berlebih dapat mengakibatkan kekentalan menurun sehingga mengurangi stabilitas. Carbopol 934 dan 940 mempunyai berat molekul berturut-turut 3×10^6 dan 4×10^6 yang biasa digunakan untuk industri farmasi. Keduanya baik digunakan untuk penggunaan secara topikal. Carbopol dalam serbuk kering tidak mengandung pertumbuhan jamur dan kapang. Gel dapat diformulasikan dengan alkohol tapi akan menurunkan kekentalan. Carbopol 940 menunjukkan kejernihan yang lebih besar dibandingkan dengan Carbopol 934 (Allen 2002). Carbopol 940 digunakan untuk bahan pengemulsi pada konsentrasi 0,1-0,5 %, bahan pembentuk gel pada

konsentrasi 0,5-2,0 %, bahan pensuspensi pada konsentrasi 0,5-1,0 % dan bahan perekat sediaan tablet pada konsentrasi 5-10% (Rowe *et al* 2006).

2. Propilen glikol

Propilen glikol berupa cairan kental, jernih, tidak berwarna, praktis tidak berbau, rasa khas, menyerap air pada udara lembab. Dapat bercampur dengan air, dengan aseton dan kloroform; larut dalam eter dan berupa minyak esensial; tetapi tidak bercampur dengan minyak lemak (Ditjen POM 1979)

Propilen glikol mempunyai sifat yang hampir sama dengan gliserin, hanya saja propilenglikol lebih mudah melarutkan berbagai zat. Fungsi propilen glikol adalah sebagai *humectant*, pelarut dan plasticizer. Fungsi lain propilen glikol adalah sebagai penghambat, fermentasi dan pertumbuhan jamur, *hygroscopic agent* desinfektan, stabilizer vitamin, pelarut pengganti yang dapat campur dengan air, bisa sebagai pengganti gliserin (Allen 2002).

3. Triethanolamin

Triethanolamin yang lebih sering disingkat TEA merupakan komponen kimia organik yang mengandung gugus amino tersier dan sebuah tri-alkohol. Triethanolamin mempunyai berat molekul 149,19 dengan rumus molekul $C_6H_{15}NO_3$ (Rowe *et al* 2006). Pemerian triethanolamin meliputi cairan kental, tidak berwarna hingga kuning pucat, bau lemah mirip amoniak, higroskopis dan mudah larut dalam air, dalam ethanol 95% dan larut dalam kloroform (Ditjen POM 1979). Zat tambahan ini digunakan untuk menstabilkan pH pada pembuatan kosmetik dengan jenis produk yang beraneka ragam dari lotion untuk kulit, gel mata, pelembab, shampo, busa untuk mencukur dan lainnya (Rowe *et al* 2006).

4. Metil paraben (Nipagin)

Metil paraben atau lebih dikenal dengan nama nipagin memiliki berat molekul 152,15 dengan rumus molekul $C_8H_8O_3$. Pemerian metil paraben meliputi serbuk hablur halus, putih, hampir tidak berbau, tidak mempunyai rasa, agak terasa mem bakar diikuti rasa tebal. Larut dalam 500 bagian air, 2 bagian air mendidih. Kegunaan sebagai bahan pengawet sediaan topikal pada konsentrasi 0,02-0,3% (Rowe *et al* 2006).

5. Propil paraben (Nipasol)

Pemerian serbuk putih atau hablur kecil, tidak berwarna. Kelarutan sangat sukar larut dalam air, mudah larut dalam etanol, dan dalam eter, sukar larut dalam air mendidih (Rowe *et al* 2006).

6. Akuadest

Akuadest adalah air suling yang dibuat dengan menyuling air yang dapat diiminum. Akuadest berupa cairan jernih, tidak berwarna, tidak berbau, dan tidak memiliki rasa (Rowe *et al* 2006).

7. Gentamisin

Pemerian serbuk putih sampai kekuning-kuningan, kelarutan yaitu larut dalam air, tidak larut dalam etanol, garam aseton, dalam kloroform, dalam eter dan dalam benzen berkhasiat sebagai antibiotikum. Penyimpanan dalam wadah tertutup rapat pH : 3,5 – 5,5. Stabilitas stabil pada suhu 4°C dan 25°C (Martindale 2005 ed 34, hal.217)

J. Uji Mutu Fisik *Spray Gel*

1. Pemeriksaan Organoleptik

Uji organoleptik dilakukan untuk melihat tampilan fisik sediaan dengan cara melakukan pengamatan warna, bau, dan tekstur dari sediaan yang telah dibuat (Djajadisastra *et al* 2009)

2. Pemeriksaan Homogenitas

Sediaan gel diuji homogenitasnya dengan mengoleskannya pada sekeping kaca preparat (transparan). Dilihat ada tidaknya partikel/zat yang belum tercampur secara homogen (Sudjono *et al* 2012)

3. Pengukuran Viskositas

Viskositas memiliki peranan pada beberapa sediaan. Viskositas merupakan faktor penting dalam peningkatan stabilitas gel dan membuat suatu bentuk sediaan mudah di aplikasikan. Seorang farmasis akan mempertimbangkan viskositas untuk meningkatkan stabilitas sediaan yang diformulakan (Allen 2002). Pengujian viskositas dapat dilakukan dengan menggunakan berbagai jenis viskometer berdasarkan kebutuhan formulator (Garg *et al* 2002).

4. Pengukuran pH

Sediaan gel diukur pH nya menggunakan pH meter yang telah dikalibrasi (Sudjono *et al* 2012)

5. Pemeriksaan Pola Penyemprotan

Sediaan disemprotkan pada lembar plastik yang sudah diukur beratnya dan sudah diberi nomor dengan jarak 3 cm, 5 cm, 10 cm, dan 15 cm kemudian diukur waktu pengeringan menggunakan *stopwatch*. Pengujian setiap jarak dilakukan secara triplo, pada uji ini yang diamati adalah pola pembentukan semprotan.

6. Pengujian Daya Sebar Lekat

Metode yang paling sering digunakan untuk pengukuran daya sebar adalah *parallel – plate*. Keuntungan dari metode ini adalah sederhana dan mudah untuk dilakukan dan tidak memerlukan banyak biaya (Garg *et al* 2002). Uji ini dilakukan di kulit dengan cara disemprotkan pada bagian lengan atas dari jarak 30 mm atau 3 cm. setelah disemprotkan di hitung selama 10 detik untuk melihat sediaan menempel atau tetesan dari hasil semprot menetes ke bawah (Kamishita T *et al* 1992).

K. Uji Stabilitas *Spray Gel*

1. Freeze Thaw

Freeze thaw merupakan salah satu metode uji stabilitas yang memungkinkan peneliti untuk menentukan apakah formula yang dihasilkan merupakan formula yang stabil pada berbagai jenis kondisi penyimpanan. Cara pengujiannya adalah menyimpan formula pada berbagai kondisi perubahan suhu yang tergolong ekstrim (Ba 2009). Suhu ruangan dikategorikan menjadi 5 bagian, yaitu suhu lemari pembeku ($-20^{\circ}\text{C} - 0^{\circ}\text{C}$), suhu rendah ($0^{\circ}\text{C} - 8^{\circ}\text{C}$), suhu ruangan terkendali ($15^{\circ}\text{C} - 30^{\circ}\text{C}$), suhu hangat ($30^{\circ}\text{C} - 40^{\circ}\text{C}$), suhu tinggi ($\geq 40^{\circ}\text{C}$) (Syamsuni, 2006). Uji stabilitas freeze thaw dianjurkan untuk sediaan berbasis cairan. Karena uji ini dapat melihat kemungkinan perubahan (pemisahan) yang terjadi selama proses freeze thaw berlangsung. *Freeze* merupakan kondisi penyimpanan suhu rendah pada $\leq 0^{\circ}\text{C}$ dan *thaw* merupakan kondisi penyimpanan pada suhu ruangan ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) selama masing – masing 24 jam (Ba 2009).

L. Landasan Teori

Salah satu tanaman yang digunakan dalam pengobatan yaitu rimpang bangle. Selain dipergunakan sebagai rempah, rimpang bangle juga dimanfaatkan oleh masyarakat untuk pengobatan. Rimpang bangle menghasilkan 0,95% minyak atsiri dengan salah satu komponen utamanya 4-terpineol (Bhuiyan *et al* 2008). Minyak atsiri rimpang bangle teruji secara *invitro* dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan gram negatif, fungi dermatophyta dan ragi (Pithayanukul dkk 2007; Tripathi dkk 2008; Jantan dkk 2003). Komponen utama yang berperan aktif terhadap aktivitas rimpang bangle sebagai antimikroba adalah terpinen-4-ol dan sabinen. Selain itu, terpinen-4-ol juga diketahui memiliki kemampuan dalam menghambat biofilm (Bhuiyan M 2008).

Minyak atsiri merupakan salah satu sumber alam yang cukup menarik untuk dikembangkan karena ketersediaannya yang cukup tinggi dan mengandung berbagai zat aktif. Minyak atsiri kaya akan komponen biologis aktif yang digunakan sebagai bakterisidal, fungisidal, antioksidan, dan berbagai aplikasi pengobatan dan kosmetik (Price S dan Price L 1987). Berdasarkan penelitian yang dilakukan Lia Marliani (2012), Lanjar Raharjyo dan Gunardi (2009) menunjukkan minyak atsiri rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) aktif terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan konsentrasi hambat minimum (KHM) 3,125% dan 12,5%.

Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang merupakan bakteri flora normal yang dapat dijumpai dimana saja pada bagian tubuh. Bakteri ini umumnya hidup pada kulit dan membran mukosa manusia. Terutama *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang hampir setiap orang akan mengalami beberapa tipe infeksi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 sepanjang hidupnya, dari infeksi kulit ringan, keracunan makanan, sampai infeksi berat. Bakteri ini merupakan penyebab pertama infeksi nosokomial di Indonesia.

Minyak atsiri umumnya lebih stabil dibuat dalam bentuk sediaan. Salah satu sediaan minyak atsiri untuk mengobati infeksi adalah gel dan spray. Gel merupakan system semipadat terdiri dari suspensi yang dibuat dari partikel anorganik yang kecil atau molekul organik yang besar, terpenetrasi oleh suatu cairan (Dirjen POM

Departemen Kesehatan Republik Indonesia 1995). Bentuk gel mempunyai beberapa keuntungan diantaranya tidak lengket, gel mempunyai aliran tiksotropik dan pseudoplastik yaitu gel berbentuk padat apabila disimpan dan akan segera mencair bila dikocok, konsentrasi bahan pembentuk gel yang dibutuhkan hanya sedikit untuk membentuk massa gel yang baik, viskositas gel tidak mengalami perubahan yang berarti pada suhu penyimpanan.

Sediaan *spray gel* mempunyai kelebihan dari sediaan topikal lainnya yaitu lebih aman, lebih praktis penggunaannya, dan lebih mudah dicuci. Teknik semprot merupakan salah satu sediaan baru yang memiliki keuntungan dimana dengan teknik semprot memungkinkan sediaan yang akan dihantarkan ke luka tanpa melalui kontak dengan kapas swab, sehingga dapat meminimalkan limbah, mengurangi kemungkinan kontaminasi atau infeksi dan trauma pada pasien. Sediaan topikal dengan teknik semprot lebih disukai dibandingkan salep atau gel, terutama untuk luka di kulit (Jauregui 2009). *Spray delivery* dapat meningkatkan penetrasi polimer ke area luka sehingga membuat potensi pengiriman zat aktif semakin efisien. Sediaan *spray* merupakan sediaan larutan yang dimasukkan dalam sebuah alat *sprayer* sehingga pemakaiannya dengan cara disemprot. Larutan adalah campuran homogen dari dua atau lebih macam zat yang terdiri dari zat yang terlarut (*solute*) dan zat pelarut (*solvent*) (Marzuki *et al* 2010).

Formulasi gel semprot dari segi mutu fisik seperti pola penyemprotan dan stabilitas dapat digunakan sebagai gel semprot yang dapat dilihat dari penelitian Dwiyudrisa (2014), gel semprot dibuat dengan menyesuaikan *gelling agent* karbopol 940 dan Hidroksipropil Metil Selulosa (HPMC) untuk mendapatkan sediaan gel yang dapat disemprotkan langsung ke luka ditandai dengan pola penyemprotan yang menyebar, organoleptik sediaan yang keruh, dan terdapat gelembung udara. Berdasarkan studi literatur sediaan dapat dikatakan memiliki stabilitas yang baik apabila mampu melewati 3 siklus uji *freeze thaw*. Pada penelitian sebelumnya digunakan lima kali uji siklus *freeze thaw*. Hal ini bertujuan untuk lebih mendalami pengaruh siklus *freeze thaw* terhadap stabilitas fisik sediaan.

Sediaan *spray gel* pada penelitian ini digunakan pada punggung kelinci yang telah terinfeksi bakteri *Staphylococcus aureus*. Kelinci yang digunakan adalah

kelinci jantan putih (New Zealand White) dengan berat badan kurang lebih 4,5-5 kg. Kelinci merupakan hewan yang mudah diperiksa, relatif jinak, dan memiliki luas permukaan kulit punggung yang luas daripada hewan uji seperti mencit, tikus, dan marmut.

M. Hipotesa

Berdasarkan landasan teori maka hipotesa yang dapat disusun dalam penelitian ini adalah :

Pertama, minyak atsiri rimpang bangle dapat dibuat dalam bentuk sediaan *spray gel* dengan mutu fisik baik dan stabilitas yang baik.

Kedua, sediaan *spray gel* minyak atsiri rimpang bangle memiliki daya aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diinfeksi pada kelinci.

Ketiga, konsentrasi 6,25% digunakan untuk penyembuhan paling optimal dari sediaan *spray gel* minyak atsiri rimpang bangle terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diinfeksi pada kelinci.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi adalah semua obyek yang menjadi sasaran penelitian. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang bangle yang diambil dari daerah Tawangmangu, Kabupaten Karanganyar Jawa Tengah pada bulan Juli 2017.

2. Sampel

Sampel adalah sebagian kecil dari populasi yang digunakan dalam melakukan penelitian. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang bangle yang diambil di daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah pada bulan Juli 2017. Rimpang yang digunakan adalah rimpang yang bersih, segar, dan bebas dari penyakit.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama pada penelitian ini adalah minyak atsiri rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diinfeksi pada punggung kelinci.

Variabel utama kedua pada penelitian ini adalah *spray gel* minyak atsiri rimpang bangle dengan konsentrasi 1,56%; 3,125%; 6,25%.

Variabel utama ketiga pada penelitian ini adalah aktivitas antibakteri pada sediaan *spray gel* minyak atsiri rimpang bangle dengan konsentrasi 1,56%; 3,125%; 6,25% terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama diklasifikasikan ke dalam beberapa variabel yang bermacam-macam yaitu variabel bebas, variabel tergantung, dan variabel terkontrol.

Variabel bebas adalah variabel yang sengaja dapat dirubah dan direncanakan untuk diketahui pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel

bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi *spray gel* minyak atsiri rimpang bangle dalam *spray gel* berbasis carbomer 940.

Variabel tergantung adalah variabel yang dapat berubah karena variabel bebas. Variabel tergantung pada penelitian ini adalah adanya aktivitas antibakteri pada kulit kelinci yang dapat dilihat dari kesembuhan lukanya dan jumlah bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dari nanah.

Variabel terkontrol adalah variabel yang berpengaruh terhadap variabel tergantung. Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah kemurnian minyak atsiri rimpang bangle bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, pembuatan sediaan *spray gel*, wadah gel semprot, dosis penyemprotan, pembuatan suspensi bakteri, pemilihan hewan uji kelinci dengan kondisi (berat badan, kesehatan, kebersihan) yang sehat, tempat tumbuh tanaman, sterilisasi, suhu, kondisi peneliti, kondisi laboratorium.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, rimpang bangle adalah bagian rimpang bangle yang diambil secara acak di daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah, dengan ciri-ciri populasi dan sampel bangle yang sehat dan bebas dari penyakit.

Kedua, minyak atsiri rimpang bangle adalah minyak atsiri yang diperoleh dari hasil destilasi rimpang bangle dengan alat destilator menggunakan pelarut air dengan metode destilasi uap.

Ketiga, konsentrasi sediaan adalah konsentrasi minyak atsiri rimpang bangle dalam penelitian sediaan *spray gel* adalah 1,56%, 3,125%, 6,25%.

Keempat, kelinci percobaan adalah kelinci jantan putih (New Zealand White) berumur \pm 3-5 bulan, berat kelinci 4,5-5 kg dan kulit punggung kelinci adalah bagian punggung kelinci yang telah dicukur.

Kelima, bakteri uji dalam penelitian ini adalah bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Universitas Setia Budi.

Keenam, uji aktivitas antibakteri secara *in vivo* adalah uji daya penyembuhan terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diinfeksi secara subkutan, kemudian dibalut perban steril dan dibiarkan

selama 48 jam hingga terjadi infeksi kemudian di semprotkan sediaan *spray gel* minyak atsiri rimpang bangle.

Ketujuh, kesembuhan adalah proses sembuhnya kelinci dari hilangnya eritema, tidak terbentuknya nanah dan keringnya luka dalam hitungan hari.

Kedelapan, perhitungan jumlah bakteri *Staphylococcus aureus* dari nanah adalah perhitungan jumlah koloni secara makroskopis dilakukan dengan cara menghitung jumlah pertumbuhan bakteri menggunakan metode *Plate count*.

C. Bahan dan Alat

1. Bahan

1.1 Bahan Sampel. Bahan sampel yang digunakan adalah minyak atsiri dari rimpang bangle yang masih segar dan bebas dari penyakit.

1.2 Bahan Kimia. Bahan kimia yang digunakan yaitu Natrium klorida fisiologis (NaCl), carbomer 940, TEA, propilen glikol, metil paraben, propil paraben, aquades, dan kontrol positif, *Vogel Johnson Agar* (VJA), kalium tellurit, H₂O₂, Na₂SO₄ eksikatus, alkohol, cat kristal violet, lugol iodine, etanol aseton,

1.3 Bakteri Uji. Bakteri uji yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

1.4 Hewan Uji. Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah kelinci jantan putih (New Zealand White) berumur \pm 3 bulan, berat 4,5-5 kg yang diperoleh dari laboratorium Farmakologi Universitas Setia Budi.

2. Alat

Alat yang digunakan yaitu timbangan digital, gelas ukur (5ml/50 ml/100ml), beaker glass 100 ml, beaker glass 2000 ml, erlenmeyer 250 ml, batang pengaduk, corong kaca, kertas saring, sudip, botol spray, botol vial, mortir dan stamper, pipet volume, pipet tetes, sarung tangan, masker, *rotary evaporator*, dan pompa vakum, autoklaf, oven, kapas lidi steril / swab, lampu spritus, jarum ose, tabung reaksi, rak tabung reaksi, cawan petri, inkubator.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman rimpang bangle

Tahap pertama penelitian ini adalah menetapkan kebenaran sampel, rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb) yang berkaitan dengan ciri-ciri makroskopis, serta mencocokkan ciri-ciri morfologis yang ada pada tanaman rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb) terhadap kepustakaan yang dilakukan di Laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta.

2. Pengambilan bahan

Rimpang bangle yang diperoleh dari Tawangmangu, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah. Bagian tanaman yang digunakan untuk mendapatkan minyak atsiri adalah rimpang yang tidak terlalu tua dan juga tidak terlalu muda. Rimpang digunakan dalam keadaan segar tanpa pengeringan untuk menghasilkan minyak atsiri yang lebih maksimal karena dalam pengeringan dapat menyebabkan minyak atsiri dalam tanaman menguap.

3. Isolasi minyak atsiri dengan metode destilasi uap air

Rimpang bangle segar yang sudah dicuci dipotong kecil - kecil dimasukkan ke dalam alat penyulingan minyak dan air yang menyerupai dandang dengan penyangga berlubang yang telah terisi air. Penyulingan dilakukan di atas api sampai air mendidih. Uap air yang dihasilkan dialirkan pada pipa ke bagian kondensor dan mengalami proses kondensasi, bersama dengan uap air tersebut terbawa dengan minyak atsiri. Pemanasan dilakukan dengan api sampai penyulingan dihentikan setelah tidak ada penambahan minyak, kemudian tampung destilat dan ukur volume yang dihasilkan.

Minyak yang diperoleh kemudian dilakukan pemisahan fase air dan minyak menggunakan corong pisah dengan penambahan Na_2SO_4 eksikatus untuk memisahkan antara minyak dan air, seberat 1% dari volume minyak atsiri sehingga didapat hasil sulingan rimpang bangle murni. Minyak diperoleh kemudian disimpan dalam botol coklat dan ditempat yang sejuk, hal ini dilakukan untuk menghindari minyak atsiri yang didapat tidak rusak atau teroksidasi (Depkes 2003).

4. Analisis Minyak Atsiri

4.1 Pengamatan organoleptik. Pengamatan organoleptik terhadap minyak atsiri meliputi warna, aroma, bentuk, dan rasa dari minyak. Warna minyak atsiri hasil destilasi masing-masing sampel diambil volume sama dan ditempatkan dalam sebuah tempat kaca yang bersih dan jernih. Bau dan rasa minyak atsiri memiliki bau dan rasa yang khas sesuai dari tanaman asalnya.

4.2 Identifikasi minyak atsiri. Identifikasi minyak atsiri, rimpang bangle seperti identifikasi minyak atsiri pada umumnya yaitu diteteskan pada permukaan air, minyak atsiri akan menyebar dan permukaan air tidak akan keruh. Minyak atsiri diteteskan pada kertas saring, jika dibiarkan minyak akan menguap sempurna tanpa meninggalkan noda lemak (Gunawan dan Mulyani 2004).

4.3 Penetapan indeks bias minyak atsiri. Penetapan indeks bias ditetapkan dengan alat refraktometer. Diteteskan 1-2 tetes minyak atsiri untuk menetapkan indeks bias, ditempatkan alat hingga intensitas sinar matahari atau sinar buatan dapat ditangkap Badan prisma dibuka dan kemudian dibersihkan dengan kapas yang telah dibasahi alkohol, kemudian meneteskan cairan yang diukur pada prisma dan menutup kembali. Refraktometer diatur sampai skala dan garis tampak jelas mundur atau maju sampai bayangan bidang berubah dari terang menjadi gelap. Dibaca garis pembatas dan nilai indeks bias dari bahan dapat dibaca secara langsung (Guenther 2010).

4.4 Penetapan bobot jenis minyak atsiri. Penetapan bobot jenis ditetapkan dengan cara botol timbang dikeringkan dengan cara dioven, kemudian ditimbang botol kosong dan dicatat hasilnya. Minyak atsiri, rimpang bangle ditimbang dalam botol timbang dan dicatat hasilnya, penimbangan diulang sebanyak tiga kali. Data hasil penimbangan botol ditimbang dan minyak atsiri rimpang bangle dikurangkan bobot botol timbang kosong sehingga didapatkan bobot minyak atsiri. Dibandingkan bobot minyak dengan bobot air sehingga didapatkan bobot jenis dari minyak atsiri. $\text{Bobot minyak atsiri} = \text{bobot botol timbang berisi minyak atsiri} - \text{bobot botol timbang kosong}$. (Ansel 2006)

4.5 Penetapan kelarutan dalam alkohol. Minyak atsiri dipipet sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam gelas ukur 10 ml uji kelarutan minyak atsiri dalam

alkohol, ditambah alkohol 70% dengan cara bertahap. Pada setiap penambahan alkohol kocok dan amati kejernihannya.

5. Formula *Spray Gel*

Formulasi dirancang dengan variasi konsentrasi ekstrak sama pada tiap formula.

Tabel 1. Formulasi Gel Semprot

Bahan (%)	Formula
Karbopol	0,4
HPMC	0,4
Trietanolamin	8 tetes
Propylene Glikol	15
Methyl paraben	0,18
Propyl paraben	0,02
Etanol	20
Aquades ad	100 mL

(Sumber: Dwiyudrisa 2014)

Tabel 2. Rancangan Formula *Spray Gel* yang telah Dimodifikasi

Bahan	Satuan	Kontrol basis	Positif	FI	FII	FIII
Karbopol	gram	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
Gentamisin	gram	-	0,10	-	-	-
Minyak Atsiri Rimpang Bangle	gram	-	-	1,56	3,125	6,25
Trietanolamin	gram	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Propilen Glikol	gram	15	15	15	15	15
Metil Paraben	gram	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18
Propil paraben	gram	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Air ad	mL	100	100	100	100	100

6. Pembuatan Sediaan *Spray Gel*

Cara pembuatan *spray gel* adalah karbopol digerus tambahkan aquades yang telah dipanaskan ditambahkan Trietanolamin (TEA) dibiarkan mengembang kemudian digerus. Di dalam wadah terpisah, metil paraben dilarutkan dengan minyak atsiri rimpang bangle, propilen glikol dan propil paraben, kemudian dimasukkan ke dalam karbopol yang sudah dikembangkan, kemudian dimasukkan ke dalam campuran sebelumnya pada suhu 30°C. Diaduk hingga terbentuk massa gel yang kental, jernih dan homogen, ditambahkan aquades ad 100 ml. Dimasukkan dalam wadah yang cocok dan tertutup rapat (Wijayanto 2012).

7. Pembuatan kontrol

7.1. Kontrol negatif. Kontrol negatif yang digunakan adalah gel yang tidak mengandung minyak atsiri rimpang bangle

7.2. Kontrol positif. Kontrol positif yang digunakan adalah gentamisin 0,1%.

7.3. Kontrol normal. Kontrol normal adalah kulit punggung kelinci tanpa pelakuan.

8. Pengujian sifat fisik sediaan *spray gel*

8.1. Uji organoleptik. Uji organoleptik meliputi pemeriksaan konsistensi, warna, dan bau dari *spray gel*.

8.2. Uji homogenitas *spray gel*. Masing-masing *spray gel* yang akan diuji dioleskan pada 6 buah gelas obyek untuk diamati homogenitasnya pada mikroskop apabila tidak terdapat butiran-butiran kasar di atas kelima obyek tersebut maka gel yang diuji homogen. Uji dilakukan pada minggu pertama dan minggu keempat.

8.3. Uji pH *spray gel*. Penentuan pH sediaan dilakukan dengan menggunakan stik pH meter yang dicelupkan ke dalam masing-masing *spray gel* yang telah diencerkan. Setelah tercelup dengan sempurna, kemudian dilihat dan dicatat nilai pH yang muncul pada pH meter. Cara di atas diulangi pada formula masing-masing 3 kali. Uji dilakukan pada minggu pertama dan setelah penyimpanan selama 4 minggu.

8.4. Uji viskositas *spray gel*. Penetapan viskositas gel dilakukan dengan menggunakan viskometer VT-04. Ketika rotor mulai berputar jarum penunjuk viskositas secara otomatis bergerak maju ke kanan kemudian setelah penunjuk stabil, dibaca viskositasnya pada skala rotor yang digunakan menurut JIS 28809 standart viskositas yang telah dikalibrasi untuk VT-04 adalah desipaskal second (d-pas) setelah selesai pengukuran viskotester dimatikan. Pengujian direplikasi 3 kali untuk setiap gel yang diperiksa (Voigt 1994). Uji dilakukan pada minggu pertama dan setelah penyimpanan selama 4 minggu.

Uji daya lekat *spray gel*. Metode yang paling sering digunakan untuk pengukuran daya sebar adalah *parallel – plate*. Keuntungan dari metode ini adalah sederhana dan mudah untuk dilakukan dan tidak memerlukan banyak biaya (Garg *et al* 2002). Uji ini dilakukan di kulit dengan cara disemprotkan pada bagian lengan

atas dari jarak 30 mm atau 3 cm. setelah disemprotkan di hitung selama 10 detik untuk melihat sediaan menempel atau tetesan dari hasil semprot menetes ke bawah (Kamishita *et al* 1992).

8.5. Pemeriksaan pola penyemprotan. Sediaan disemprotkan pada lembar plastik yang sudah diukur beratnya dan sudah diberi nomor dengan jarak 3 cm, 5 cm, 10 cm, 15 cm, kemudian diukur waktu pengeringan menggunakan stopwatch setelah disemprotkan. Pengujian setiap jarak dilakukan secara triplo, pada uji ini yang diamati adalah pola pembentukan semprotan, diameter dari pola semprot yang terbentuk.

8.6. Uji daya sebar *spray gel*. Pengujian daya sebar gel dilakukan dengan cara *spray gel* sebanyak 0,5 gram diletakkan di tengah alat (kaca bulat), kaca bulat bagian atas ditimbang terlebih dahulu dan diletakkan di atas massa gel, dibiarkan selama 1 menit, diukur diameter gel yang menyebar (diambil panjang rata-rata diameter dari beberapa sisi), ditambah 50 gram, 100 gram, 150 gram, dan 200 gram. Sebagai beban tambahan secara bertahap, setiap penambahan beban didiamkan selama 1 menit dan dicatat diameter *spray gel* yang menyebar seperti sebelumnya. Cara di atas diulangi untuk setiap formula gel yang diperiksa masing-masing 3 kali (Voigt 1994). Uji dilakukan pada minggu pertama dan setelah penyimpanan selama 4 minggu.

8.7. Uji stabilitas sediaan *spray gel*. Pengujian dilakukan dengan metode *freeze thaw* yaitu dengan menyimpan sediaan pada suhu 4°C selama 48 jam kemudian dipindahkan ke suhu 40°C selama 48 jam (1 siklus). Setelah itu dilanjutkan sampai lima siklus. Setiap satu siklus selesai, dilihat ada tidaknya pemisahan fase atau perubahan, uji pH dan uji viskositas gel (Priani *et al* 2014).

9. Identifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

9.1 Identifikasi makroskopik pada media deferensial. Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 diinokulasi pada media *Vogel Johnson Agar* (VJA) yang telah ditetesi 3 tetes kalium telurit 1% dalam cawan petri dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil pengujian ditunjukkan dengan warna koloni hitam dan warna medium di sekitar koloni kuning. Kemampuan *Staphylococcus*

aureus ATCC 25923 dapat memfermentasi manitol membentuk suasana asam dan fenol red maka medium di sekitar koloni berwarna kuning (Jawetz *et al* 2007).

9.2 Identifikasi mikroskopis dengan pewarnaan Gram. Pewarnaan Gram positif *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menggunakan Gram A (cat Kristal violet sebagai cat utama), Gram B (lugol iodine sebagai mordan), Gram C (etanol aseton = 1 : 1 sebagai peluntur), dan Gram D (cat sarfanin sebagai cat lawan atau penutup). Pewarnaan gram dilakukan dengan cara buat preparat ulas yang telah difiksasi kemudian ditetesi dengan Gram A sampai semua ulasan terwarnai, diamkan selam kurang lebih 1 menit. Ditetesi Gram B dan diamakan selama kurang lebih 1 menit, dicuci dengan aquadestilata mengalir dan dikering anginkan, preparat dilunturkan dengan Gram C dan didiamkan selama kurang lebih 30 detik, dicuci dengan aquadestilata mengalir kemudian ditetesi Gram D dan diamakan selama kurang lebih 1 menit. Cuci dengan aquadestilata mengalir kemudian keringkan preparat. Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dinyatakan positif apabila berwarna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol seperti buah anggur ketika diamati dibawah mikroskop.

9.3 Identifikasi bakteri dengan uji biokimia. Ada dua cara yang dapat digunakan untuk identifikasi bakteri secara biokimia yaitu uji katalase dan koagulase. Uji katalase dibuat dengan cara mencampurkan 0,5 ml hydrogen peroksida 3 % dengan 1 ose *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya gelembung udara atau buih.

Uji koagulase dilakukan dengan cara menyiapkan plasma sebanyak 0,5 ml ditambah 1 ose biakan bakteri dan selanjutnya diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam.

10. Pembuatan suspensi bakteri

Pembuatan suspensi untuk difusi dengan mengambil biakan murni kurang lebih 2 ose bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, kemudian diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam. Suspensi dibuat dalam tabung yang berisi media *Brain Heart Infusion* (BHI) dan kekeruhannya disesuaikan dengan kekeruhan standar Mc Farland 0,5 setara dengan jumlah $1,5 \times 10^8$ cfu/mL. Tujuan disesuaikannya suspensi

bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan standar Mc Farland 0,5 yaitu agar jumlah bakteri yang digunakan sama selama penelitian dan mengurangi kepadatan bakteri saat pengujian.

E. Pengujian Aktivitas Antibakteri secara *in vivo*

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah kelinci jantan putih sebanyak 5 ekor dengan umur ± 3 bulan dengan berat $\pm 4,5-5$ kg. Hewan uji kelinci yang sudah diaklimatisasikan selama 5 hari dicukur bulu pada punggung kelinci kemudian dipilih 5 lokasi penyuntikkan dibagian kiri dengan jarak masing-masing lokasi ± 3 cm. Suspensi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 diinfeksi secara subkutan sebanyak 0,2 ml pada masing-masing lokasi pada kulit punggung kelinci yang telah disiapkan. *Spray gel* diberikan setelah 48 jam pada daerah yang diinfeksi. *Spray gel* minyak atsiri rimpang bangle dengan konsentrasi 1,56%, 3,125%, dan 6,25% disemprotkan pada 3 tempat dibagian kiri punggung kelinci, 2 tempat dibagian kanan digunakan sebagai kontrol positif (gentamisin 0,1%) dan kontrol negatif (basis gel karbopol 940). Penyemprotan minyak atsiri rimpang bangle dilakukan 3 kali sehari dengan rentan waktu 8 jam, pengamatan waktu penyembuhan infeksi berdasarkan hilangnya eritema dan nanah (Naibabo *et al* 2013).

F. Pengamatan Pengujian Efek Antibakteri

Efek antibakteri spray gel minyak atsiri rimpang bangle dapat dilihat secara makroskopis dengan mengamati lamanya waktu penyembuhan dalam hitungan hari dengan ditandai dengan hilangnya eritema dan nanah pada punggung kelinci yang diinfeksi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 $\pm 2 - 4$ minggu setelah pemberian spray gel minyak atsiri rimpang bangle (Naibabo *et al* 2013).

G. Perhitungan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* dari nanah

Pengamatan secara makroskopis jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Perhitungan jumlah koloni secara makroskopis dilakukan dengan cara menghitung jumlah pertumbuhan bakteri menggunakan metode *Plate Count*. Tahap pengenceran dimulai dari larutan sampel sebanyak 10 ml, dimulai dari nanah punggung kelinci diambil dengan kapas lidi steril kemudian diencerkan dalam

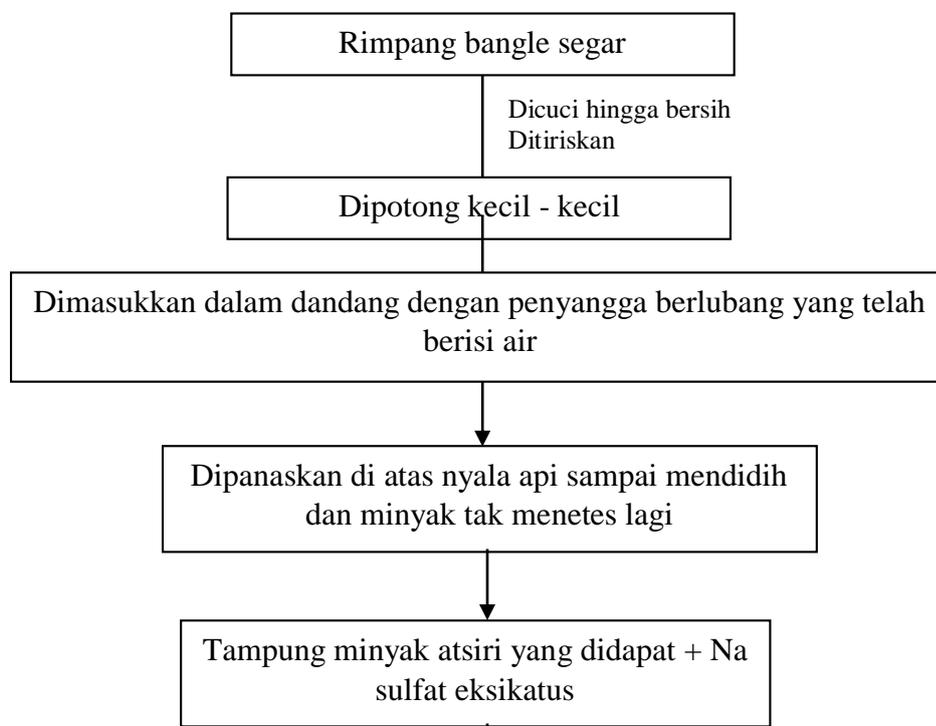
tebung reaksi yang berisi 1 ml NaCl 0,9% (NaCl fisiologis), dilanjutkan dengan pengambilan 1 ml campuran tadi kemudian dicampurkan dengan 9 ml NaCl, selanjutnya diambil 1 ml dari hasil pencampuran kemudian dituang pada medium deferensial VJA dan diinkubasi 24 – 48 jam pada suhu 37⁰C. Setelah diinkubasi jumlah koloni yang tumbuh dihitung dan merupakan perkiraan atau dugaan dari jumlah bakteri dalam suspensi tersebut.

H. Analisis Data

Data hasil pengujian efek sediaan *spray gel* minyak atsiri, rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb) dengan konsentrasi 1,56%, 3,125%, dan 6,25% dengan lamanya waktu penyembuhan dianalisis secara statistik menggunakan Metode Kolmogorv-Smirnov. Hasil yang diperoleh jika terdistribusi normal ($p>0,05$) dilanjutkan dengan metode analysis of varian (ANOVA) dua jalan dengan taraf kepercayaan 95%. Lanjutkan dengan uji Tukey untuk mengetahui konsentrasi mana yang memiliki pengaruh sama atau berbeda antara satu dengan yang lainnya

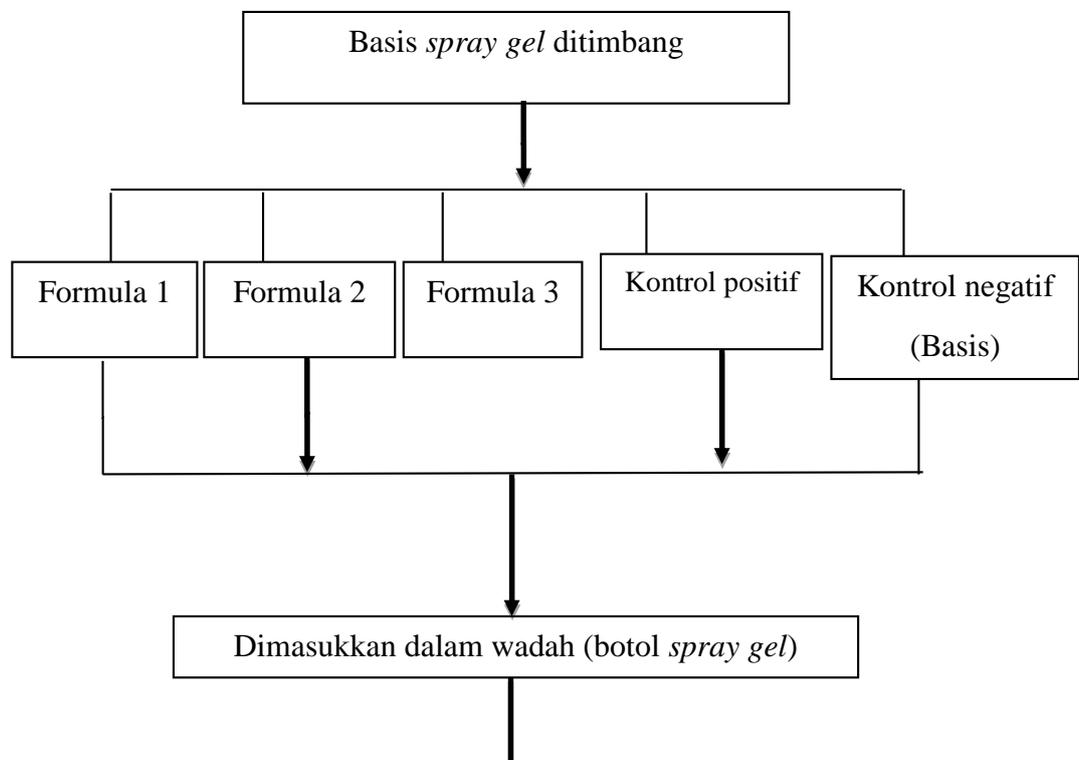
Data uji daya sebar, daya lekat, dan daya viskositas dianalisis secara statistik menggunakan uji Kolmogrov-Smirnov, jika terdistribusi normal ($p>0,05$) dilanjutkan dengan uji ANOVA dua jalan dengan taraf kepercayaan 95%. (Puspitasari 2014).

I. Skema Penelitian

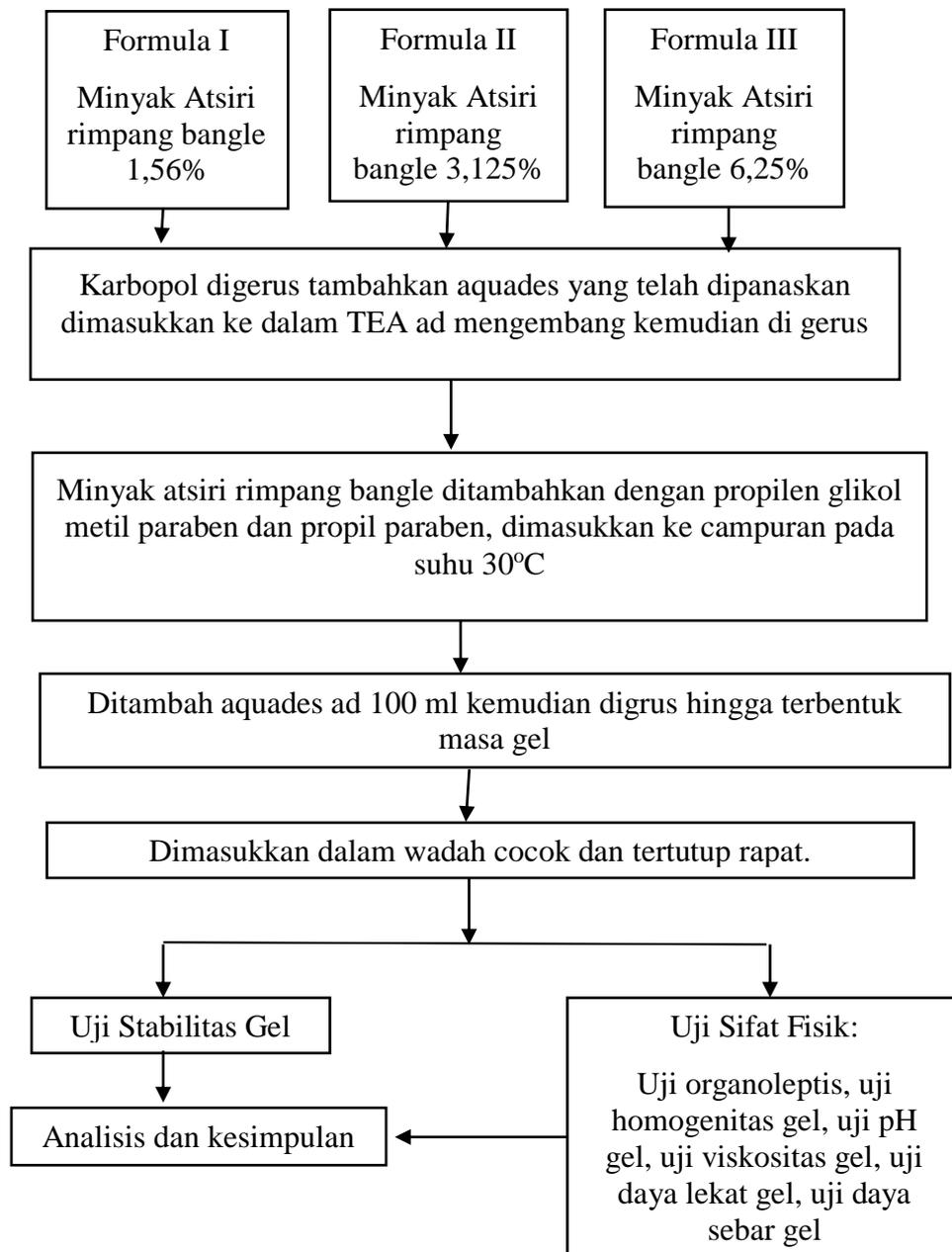


Dipisahkan dengan corong pisah

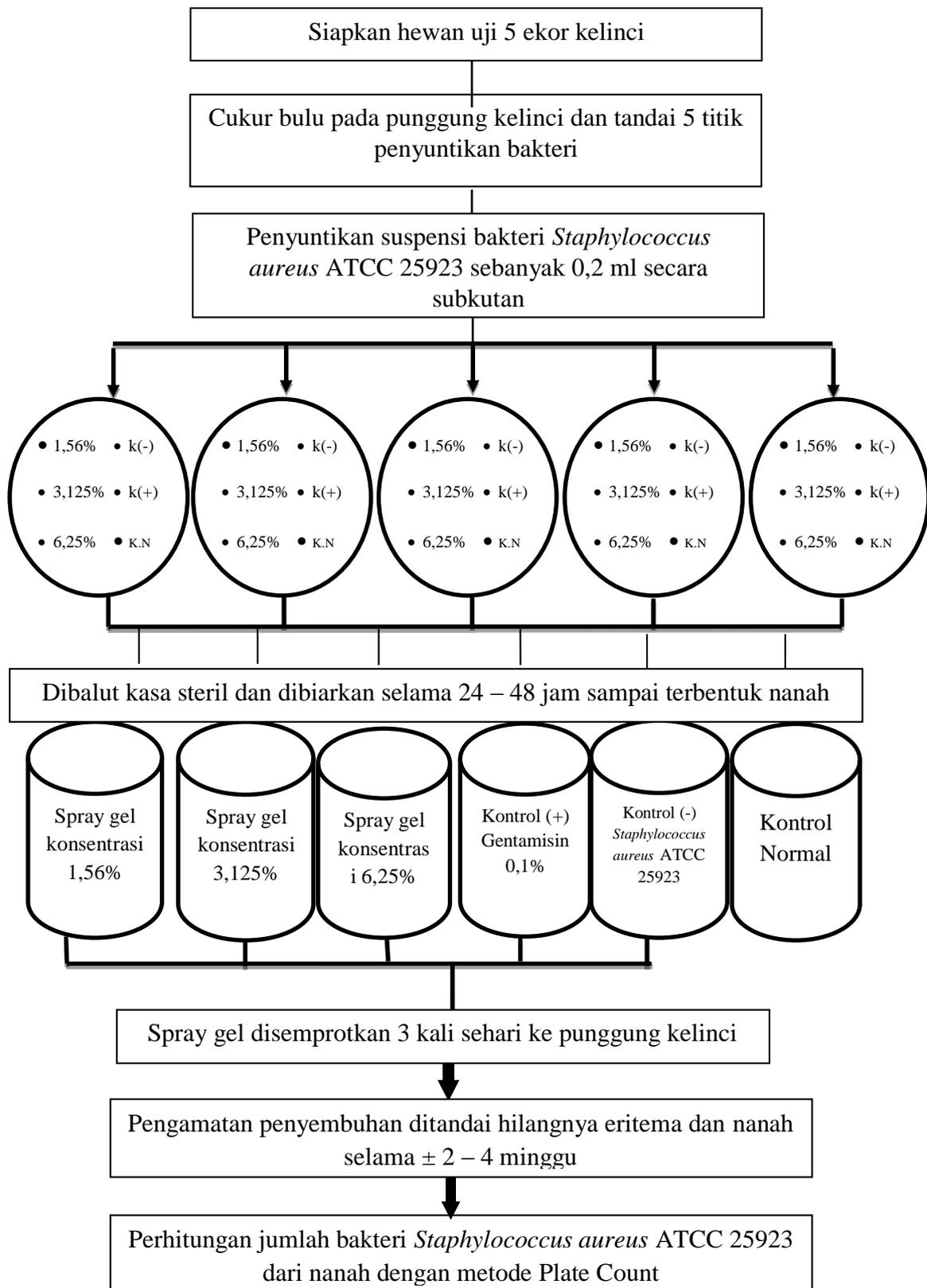
Gambar 2.Skema isolasi minyak atsiri rimpang bangle



Gambar 3. Skema kerja pembuatan formulasi *spray gel*



Gambar 4. Skema kerja pembuatan formulasi *spray gel*



Gambar 5. Skema pengujian *spray gel* minyak atsiri rimpang bangle.

BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Determinasi tanaman rimpang bangle

Determinasi tanaman pada penelitian ini dilakukan di Laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta. Determinasi tanaman bertujuan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang diambil, menghindari terjadinya kesalahan dalam pengambilan bahan sampel. Menghindari tercampurnya bahan sampel dengan bahan tanaman. Determinasi dilakukan dengan mencocokkan ciri morfologi yang ada pada tanaman yang diteliti sesuai dengan pustaka. Berdasarkan hasil determinasi dapat dipastikan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.). Hasil identifikasi dapat dilihat pada Lampiran 1.

2. Pengambilan Bahan

Tanaman yang digunakan adalah rimpang bangle dalam penelitian ini diperoleh dari daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah pada bulan Juli 2017. Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.

3. Isolasi minyak atsiri dengan metode destilasi uap air

Isolasi minyak atsiri rimpang bangle menggunakan metode destilasi uap dan air. Hasil destilasi dari percobaan didapat rendemen minyak atsiri, rendemen yang dimaksudkan dalam penelitian ini adalah jumlah minyak atsiri yang didapatkan dalam satu kali destilasi.

Tabel 3. Rendemen minyak atsiri rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.)

Bobot sampel (gram)	Volume minyak (ml)	Rendemen (%)	Pustaka
5000	10	0,2	0,38-0,91 % (Ratna wulandari 2011)

Rimpang bangle mengandung minyak atsiri dengan salah satu komponen utamanya 4-terpineol (Bhuiyan *et al* 2008). Berdasarkan penelitian kadar minyak

atsiri rimpang bangle diperoleh dalam praktek adalah 0,2% b/v dengan hasil rendemen yang tidak jauh berbeda dengan pustaka adalah 0,38-0,91% b/v (Ratna wulandari 2011). Rendemen minyak atsiri bangle yang dihasilkan relatif rendah akibat proses hidrolisis, juga karena komponen minyak yang bertitik didih tinggi dan bersifat larut dalam air tidak dapat menguap secara sempurna sehingga komponen minyak yang dihasilkan tidak lengkap. Hal lain yang juga berpengaruh terhadap rendemen minyak yang dihasilkan adalah umur panen, waktu panen, serta ukuran perajangan rimpang. Ukuran bahan yang terlalu kecil dapat menghasilkan rendemen yang lebih sedikit karena menguapnya atsiri saat terjadi pemecahan ukuran (Ketaren 1985). Data perhitungan lengkap dapat dilihat pada Lampiran 13.

4. Analisa minyak atsiri

4.1. Pengamatan organoleptik minyak atsiri. Hasil uji organoleptis dapat dilihat dengan pengamatan secara organoleptik. Hasil pengamatan organoleptik pada minyak atsiri rimpang bangle dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil pemeriksaan organoleptik minyak atsiri rimpang bangle

No.	Jenis pemeriksaan	Hasil	Pustaka
1.	Warna	Kuning muda	Kuning muda-kuning tua (Depkes 2001)
2.	Bau	Aroma khas bangle	Aroma khas bangle (Farmakope herbal 2008)
3.	Bentuk	Cair	Cairan (Farmakope herbal 2008)
4.	Rasa	Pahit dan pedas	Pahit dan pedas (Farmakope herbal 2008)

Pemeriksaan organoleptik minyak atsiri rimpang bangle pada penelitian menghasilkan warna kuning muda, berbau aroma khas bangle, berbentuk cair dan memiliki rasa pedas dan pahit. Warna minyak atsiri hasil destilasi sampel diambil pada volume yang sama dan ditempatkan dalam sebuah tempat kaca yang bersih dan jernih, kemudian dibandingkan dengan minyak pembanding pada sampel minyak atsiri. Bau dan rasa minyak atsiri pada sampel memiliki bau dan rasa yang khas sesuai dari tanaman asalnya.

4.2 Identifikasi minyak atsiri. Hasil identifikasi rimpang bangle seperti yang terlampir dalam penelitian dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil uji identifikasi minyak atsiri rimpang bangle

Zat aktif	Pemeriksaan	Hasil	Pustaka
Minyak atsiri Rimpang bangle	1 tetes minyak atsiri ditetaskan pada kertas saring	Minyak atsiri menguap tanpa meninggalkan noda	Minyak atsiri tidak meninggalkan noda bila ditetaskan pada kertas saring (Gunawan dan Mulyani 2004)
	1 tetes minyak atsiri ditetaskan pada permukaan air	Minyak atsiri menyebar dan permukaan air tidak keruh	Minyak atsiri menyebar diatas permukaan air dan tidak keruh (Depkes 1979)

Hasil identifikasi minyak atsiri rimpang bangle menunjukkan bahwa hasil penelitian sesuai pustaka, bila 1 tetes minyak atsiri ditetaskan pada permukaan air, maka minyak akan terlihat menyebar dipermukaan air dan air tidak keruh, jika ditetaskan pada kertas saring, minyak tidak meninggalkan noda. Hasil gambar dapat dilihat pada Lampiran 7.

4.3 Penetapan indeks bias minyak atsiri. Hasil pemeriksaan indeks bias dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil uji indeks bias minyak atsiri rimpang bangle

Minyak atsiri	Hasil indeks bias(27 ⁰ C)	% Kemurnian	Pustaka
Rimpang bangle	1,495	99,19% - 99,36%	Indeks bias 1,483 – 1,505 (Angraini 2015)

Pemeriksaan indeks bias minyak atsiri rimpang bangle yaitu sebesar 1,495 menunjukkan hasil indeks bias yang diteliti sesuai dengan pustaka (Angraini 2015) Indeks bias pada minyak atsiri rimpang bangle adalah 1,483-1,505 bilangan angka tersebut menunjukkan perbandingan antara sinus sudut datang dengan sinus sudut bias cahaya yang diukur dengan alat refraktometer, putaran optik menunjukkan besar sudut pemutar bidang polarisasi yang terjadi jika sinar terpolarisasi dilewatkan melalui cairan pada suhu (-5⁰C) sampai dengan 0⁰C. Indeks bias minyak atsiri berhubungan erat dengan komponen-komponen yang tersusun dalam minyak atsiri yang dihasilkan. Komponen penyusun minyak atsiri dapat mempengaruhi nilai indeks biasnya. Semakin banyak komponen berantai panjang seperti sesquiterpen atau komponen bergugus oksigen tersuling, maka kerapatan medium minyak atsiri akan bertambah sehingga cahaya yang datang akan lebih sukar untuk dibiaskan. Hal ini yang menyebabkan indeks bias minyak lebih besar (Wiyono *et al* 2000). Hasil gambar indeks bias dapat dilihat pada Lampiran 8.

4.4 Penetapan bobot jenis minyak atsiri. Hasil pemeriksaan bobot jenis minyak atsiri rimpang bangle pada penelitian dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil penetapan bobot jenis minyak atsiri rimpang bangle

Percobaan	Bobot jenis minyak	Pustaka
I	0,9705	Bobot jenis minyak atsiri
II	0,9603	0,9369-0,9743
III	0,9898	(Sukatta <i>et al</i> 2009)
Rata-rata	0,9737	

Hasil bobot jenis minyak atsiri rimpang bangle menurut hasil penelitian adalah 0,9735. Berdasarkan pustaka bobot jenis minyak atsiri rimpang bangle adalah 0,9369-0,9743. Bobot jenis ialah salah satu kriteria yang penting dalam menentukan mutu dan kemurnian minyak atsiri. Semakin rendah nilai bobot jenis suatu minyak atsiri maka tingkat kemurniannya juga semakin rendah. Besarnya bobot jenis suatu minyak bisa dipengaruhi oleh jenis dan jumlah komponen kimia dalam minyak atsiri, maka semakin banyak komponen kimia dalam minyak atsiri dengan begitu semakin tinggi pula bobot jenisnya (Wiyono *et al* 2000). Perhitungan lebih lengkap dapat dilihat pada Lampiran 15.

4.5 Penetapan kelarutan dalam alkohol. Hasil kelarutan minyak atsiri rimpang bangle dalam etanol 70% dengan perbandingan 1:1 (artinya 1 ml minyak atsiri dilarutkan dalam 1 ml etanol 70%) berdasarkan hasil penelitian adalah larut dan jernih. Kelarutan dalam alkohol merupakan nilai perbandingan banyaknya minyak atsiri yang larut sempurna dengan pelarut alkohol. Setiap minyak atsiri memiliki kelarutan dalam alkohol yang spesifik, sehingga sifat ini digunakan untuk menentukan suatu kemurnian minyak atsiri. Hasil gambar kelarutan minyak rimpang bangle dalam alkohol 70% dapat dilihat pada Lampiran 7.

5. Hasil pengujian sifat fisik sediaan *spray gel* minyak atsiri rimpang bangle

Uji sifat fisik *spray gel* yang dilakukan meliputi pengamatan organoleptis, uji homogenitas, uji daya sebar, uji daya lekat, uji viskositas, uji pH.

5.1. Organoleptik. Pemeriksaan organoleptik dilakukan untuk melihat tampilan fisik sediaan dengan cara melakukan pengamatan warna, bau dan konsistensi dari sediaan *spray gel* (Djajadisastra *et al* 2009). Sediaan yang dihasilkan sebaiknya memiliki warna yang menarik, bau yang menyenangkan, dan

konsistensi yang bagus agar nyaman dalam penggunaan. Hasil yang diperoleh terhadap pemeriksaan organoleptik *spray gel* dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Hasil organoleptik formula *spray gel* minyak atsiri rimpang bangle

Pemeriksaan	Waktu	Formula I	Formula II	Formula III
Warna	Hari ke 1	KP	KP	KP
	Hari ke 21	KP	KP	KP
Bau	Hari ke 1	***	***	***
	Hari ke 21	**	**	**
Konsistensi	Hari ke 1	+++	+++	++
	Hari ke 21	++	++	+

Keterangan:

KP : Kuning Pucat

*** : menunjukkan bau aromatis rimpang bangle yang lebih intensif

** : menunjukkan bau aromatis rimpang bangle yang sudah berkurang

+ : menunjukkan konsistensi *spray gel* yang encer

++ : menunjukkan konsistensi *spray gel* yang agak encer

+++ : menunjukkan konsistensi *spray gel* yang agak kental

Formula I : *Spray gel* minyak atsiri rimpang bangle 1,56%

Formula II : *Spray gel* minyak atsiri rimpang bangle 3,125%

Formula III : *Spray gel* minyak atsiri rimpang bangle 6,25%

Tabel 8 menunjukkan bahwa dari minggu pertama sampai minggu ketiga *spray gel* mengalami warna kuning pucat dikarenakan fase minyak rimpang bangle yang berwarna kuning muda bercampur dengan fase air dan bahan karbopol dalam pengadukan yang keras saat pembuatan.

Spray gel yang dihasilkan menunjukkan bahwa pada penyimpanan minggu pertama memiliki bau minyak rimpang bangle yang tinggi, tetapi setelah penyimpanan beberapa minggu bau minyak rimpang bangle berkurang, hal ini kemungkinan disebabkan minyak rimpang bangle yang digunakan tidak bisa bertahan lama dalam campuran basis dalam jumlah yang lebih besar.

Konsistensi yang dihasilkan dari setiap formula berbeda-beda, hal ini disebabkan karena jumlah minyak atsiri dalam setiap formula berbeda-beda, konsistensi pada formula I paling kental karena jumlah minyak atsiri rimpang bangle paling kecil daripada formula lainnya yaitu 1,56% atau 1,56 ml dalam 100 ml *spray gel* dengan basis air (hidrogel), konsistensi formula II agak encer karena jumlah minyak atsiri 3,125% atau 3,125 ml dalam 100 ml *spray gel* dengan basis air (hidrogel), sedangkan konsistensi formula III encer dikarenakan jumlah minyak atsiri rimpang bangle yang paling banyak diantara ketiga formula dalam 100 ml *spray gel* dengan basis air (hidrogel). Semakin besar jumlah minyak atsiri rimpang bangle yang digunakan, menghasilkan *spray gel* dengan konsistensi semakin encer.

5.2 Hasil uji homogenitas *spray gel*. Uji homogenitas sediaan dimaksudkan untuk mengetahui apakah minyak atsiri rimpang bangle dalam sediaan sudah homogen atau belum, hal ini penting dilakukan karena homogenitas sangat pengaruh terhadap efektivitas terapi dari sediaan tersebut, jika sediaan telah homogen maka konsentrasi zat aktif diasumsikan pada saat pemakaian atau pengambilan akan selalu sama atau seragam. Hasil uji homogenitas dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Hasil homogenitas *spray gel* minyak atsiri rimpang bangle dengan berbagai konsentrasi minyak atsiri.

Formula	Minggu 1	Minggu 3
Formula I	Homogen	Homogen
Formula II	Homogen	Homogen
Formula III	Homogen	Homogen

Keterangan:

Formula I : *Spray gel* minyak atsiri rimpang bangle 1,56%

Formula II : *Spray gel* minyak atsiri rimpang bangle 3,125%

Formula III : *Spray gel* minyak atsiri rimpang bangle 6,25%

Hasil pengamatan terhadap homogenitas *spray gel* menunjukkan bahwa ketiga formula gel minyak atsiri rimpang bangle memiliki homogenitas yang baik karena, fase terdispersi terdistribusi merata pada fase pendispersi, tidak terbentuk partikel yang memisah. Uji homogenitas dengan cara lain menunjukkan bahwa gel yang dioleskan pada sekeping kaca atau objek glass menunjukkan hasil yang homogen yaitu terlihat merata dan tidak ada gumpalan komponen gel berarti hasil penelitian sudah sesuai dengan pustaka.

5.3 Hasil uji pH *spray gel*. Uji ini dilakukan untuk mengetahui apakah kadar pH dalam *spray gel* memenuhi persyaratan untuk sediaan topikal. Hasil penentuan pH *spray gel* dengan menggunakan pH meter dapat dilihat pada Tabel 10.

Uji ini dilakukan untuk mengetahui apakah kadar pH dalam sediaan *spray gel* memenuhi persyaratan untuk sediaan topikal. Hasil penentuan pH sediaan *spray gel* dengan menggunakan pH meter dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10. Hasil uji pH *spray gel* minyak atsiri rimpang bangle.

Waktu pemeriksaan	Formula I	Formula II	Formula III
-------------------	-----------	------------	-------------

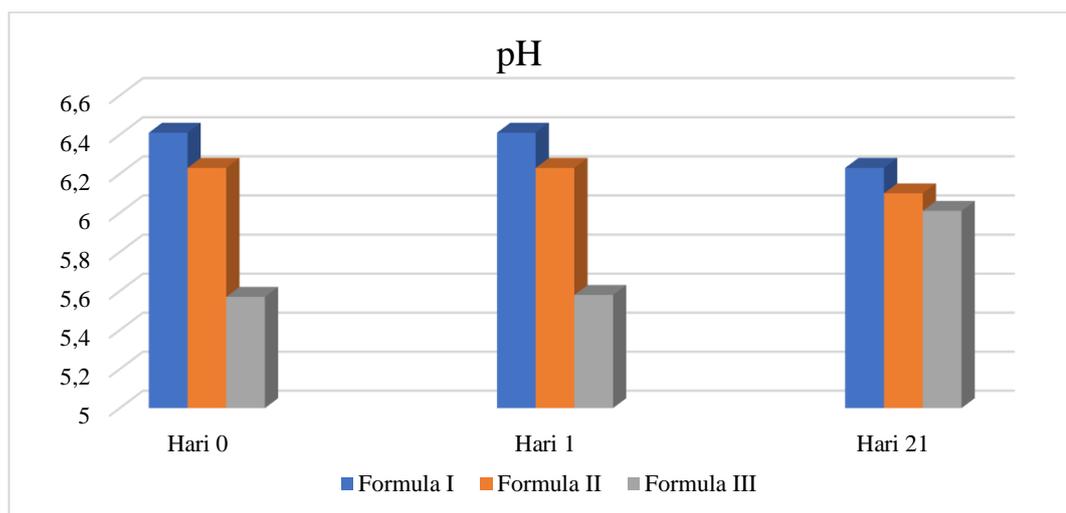
Hari 0	6,41 ± 0,01	6,23 ± 0,04	5,57 ± 0,02
Hari 1	6,41 ± 0,01	6,23 ± 0,02	5,58 ± 0,02
Hari 21	6,23 ± 0,02	6,1 ± 0,1	6,01 ± 0,02

Keterangan:

Formula I : *Spray gel* minyak atsiri rimpang bangle 1,56%

Formula II : *Spray gel* minyak atsiri rimpang bangle 3,125%

Formula III : *Spray gel* minyak atsiri rimpang bangle 6,25%



Gambar 6. Hasil uji pH *spray gel* minyak atsiri rimpang bangle

Tabel 10 menunjukkan bahwa pada penyimpanan *spray gel* rimpang bangle selama 3 minggu atau 21 hari, sediaan mengalami perubahan kenaikan pH. Kemungkinan disebabkan oleh pengaruh lingkungan seperti gas-gas di udara yang bersifat asam, lingkungan, suhu penyimpanan dan ruang penyimpanan, akan tetapi pada penurunan dan kenaikan pH yang terjadi pada setiap formula tidak terlalu signifikan dan sehingga dapat dikatakan pH sediaan relatif stabil pada penyimpanan. Berdasarkan penelitian diketahui nilai sediaan topikal *spray gel* dalam rentang 5,57-6,41. Nilai pH tersebut memenuhi syarat pH sediaan topikal yang baik adalah sesuai dengan pH alami kulit, yaitu 4,5 - 6,5 (Rachmalia *et al* 2016). Pengukuran pH ini bertujuan untuk mengetahui apakah *spray gel* yang dibuat yang telah aman dan tidak mengiritasi kulit saat digunakan. Sediaan topikal yang ideal adalah tidak mengiritasi kulit. Kemungkinan iritasi kulit akan sangat besar apabila sediaan terlalu asam atau terlalu basa.

Data uji pH ketiga formula tersebut kemudian diuji menggunakan uji Kolmogrov-Smirnov untuk mengetahui apakah data telah terdistribusi normal atau tidak. Berdasarkan kolmogrov uji pH signifikansinya (Aaymp.sig) menunjukkan

angka $0,098 > 0,05$ sehingga data tersebut terdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji ANOVA dua jalan untuk mengetahui adanya perbedaan nilai pH dari ketiga formula tersebut. Data spss dapat dilihat pada Lampiran 17.

5.4 Hasil uji viskositas *spray gel*. Viskositas sediaan berhubungan terhadap kemudahan sediaan dari pemakaian suatu sediaan. Viskositas sangat berpengaruh terhadap efektivitas terapi yang diinginkan serta kenyamanan dalam penggunaan sehingga tidak boleh terlalu kental dan terlalu encer. Viskositas *spray gel* yang terlalu encer akan menurunkan daya sebar lekat gel pada kulit sehingga efektivitas penghantaran zat aktif menjadi rendah, sedangkan apabila viskositas sediaan terlalu kental dapat memberikan ketidaknyamanan saat sediaan digunakan. Hasil pengamatan viskositas gel minyak atsiri dapat dilihat pada Tabel 11.

Tabel 11. Hasil viskositas *spray gel* minyak atsiri rimpang bangle dengan berbagai konsentrasi minyak atsiri

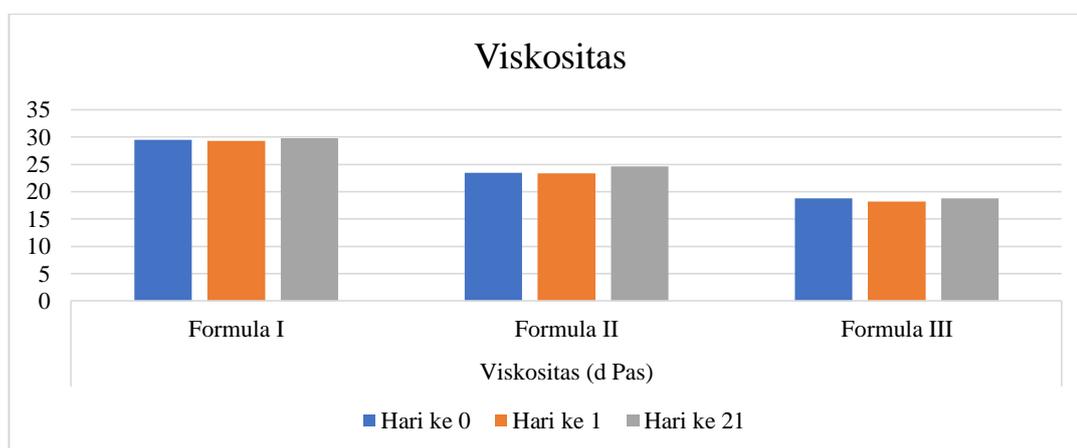
Waktu pemeriksaan	Viskositas (d Pas)		
	Formula I	Formula II	Formula III
Hari ke 0	$29,5 \pm 0,5$	$23,5 \pm 0,5$	$18,83 \pm 0,29$
Hari ke 1	$29,33 \pm 1,04$	$23,33 \pm 0,29$	$18,17 \pm 0,29$
Hari ke 21	$29,83 \pm 0,58$	$24,67 \pm 0,76$	$18,83 \pm 0,76$

Keterangan:

Formula I : *Spray gel* minyak atsiri rimpang bangle 1,56%

Formula II : *Spray gel* minyak atsiri rimpang bangle 3,125%

Formula III : *Spray gel* minyak atsiri rimpang bangle 6,25%



Gambar 7. Hasil viskositas *spray gel* minyak atsiri rimpang bangle dengan berbagai konsentrasi minyak atsiri

Data di atas menunjukkan bahwa formula 1 lebih kental dari ketiga formula karena konsentrasi minyak atsiri yang paling kecil diantara ketiga formula.

Konsentrasi minyak atsiri dengan konsentrasi 1,56% dan 3,125% menghasilkan *spray gel* dengan viskositas yang besar. Sedangkan *spray gel* minyak atsiri konsentrasi 6,25% menghasilkan viskositas yang encer atau viskositas kecil. Hasil pengamatan terhadap viskositas *spray gel* menunjukkan bahwa viskositas dari ketiga formula dari minggu ke minggu cenderung menurun. Menurut Panjaitan (2012) Perubahan nilai viskositas pada sediaan diduga karena adanya pengaruh dari penambahan minyak atsiri. Penyebab lainnya yaitu kelembapan udara diruang penyimpanan dan kemasan yang kurang kedap, sehingga dapat menyebabkan gel menyerap air dari luar dan menambah volume air dari formula. Hal tersebut dapat mengakibatkan penurunan nilai viskositas dari sediaan. Penelitian Nugraha (2011) menyatakan bahwa semakin besar viskositas maka semakin besar pula daya lekat dan semakin kecil daya sebaranya.

Data uji viskositas ketiga formula tersebut kemudian diuji menggunakan uji Kolmogrov-Smirnov untuk mengetahui apakah data telah terdistribusi normal atau tidak. Berdasarkan kolmogrov uji viskositas signifikansinya (Aaymp.sig) menunjukkan angka $0,389 > 0,05$ sehingga data tersebut terdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji ANOVA dua jalan untuk mengetahui adanya perbedaan nilai viskositas dari ketiga formula tersebut. Data spss dapat di lihat pada Lampiran 19.

5.5 Hasil uji daya sebar *spray gel*. Uji daya sebar dilakukan untuk mengetahui kemampuan basis menyebar pada permukaan kulit ketika diaplikasikan. *Spray gel* yang baik adalah *spray gel* yang memiliki daya sebar paling luas, mudah dicuci dan diabsorpsi dengan baik oleh kulit sehingga kontak antara zat aktif dengan kulit semakin bagus. Hasil uji daya sebar dapat dilihat pada Tabel 12.

Tabel 12. Hasil pengukuran daya sebar *spray gel* minyak atsiri rimpang bangle dengan berbagai konsentrasi minyak atsiri

Formula	Beban (g)	Luas penyebaran (cm ² ± SD)		
		Hari ke 0	Hari ke 1	Hari ke 21

Formula I	63,023	3,07 ± 0,06	3,03 ± 0,06	3,1 ± 0,1
	113,023	3,33 ± 0,15	3,37 ± 0,06	3,4 ± 0,26
	163,023	3,8 ± 0,1	3,9 ± 0,1	3,8 ± 0,26
	213,023	4,03 ± 0,15	4,07 ± 0,06	4,17 ± 0,15
	263,023	4,43 ± 0,15	4,43 ± 0,15	4,57 ± 0,15
Formula II	63,023	3,13 ± 0,06	3,2 ± 0,1	3,27 ± 0,06
	113,023	3,5 ± 0,1	3,6 ± 0,1	3,77 ± 0,15
	163,023	4,07 ± 0,25	4,03 ± 0,25	4,13 ± 0,06
	213,023	4,17 ± 0,15	4,43 ± 0,15	4,3 ± 0,1
	263,023	4,9 ± 0,26	4,9 ± 0,35	4,9 ± 0,1
Formula III	63,023	3,4 ± 0,1	3,9 ± 0,12	3,47 ± 0,15
	113,023	3,9 ± 0,1	4,27 ± 0,21	3,97 ± 0,06
	163,023	4,33 ± 0,15	4,67 ± 0,11	4,43 ± 0,25
	213,023	4,67 ± 0,06	4,67 ± 0,15	4,87 ± 0,06
	263,023	5,1 ± 0,1	5,17 ± 0,21	5,33 ± 0,21

Keterangan:

Formula I : *Spray gel* minyak atsiri rimpang bangle 1,56%

Formula II : *Spray gel* minyak atsiri rimpang bangle 3,125%

Formula III : *Spray gel* minyak atsiri rimpang bangle 6,25%

Data di atas menunjukkan terjadinya kenaikan daya sebar dari ketiga formula dikarenakan penurunan daya lekat dan viskositas dari ketiga formulasi. Semakin besar konsentrasi minyak atsiri, maka semakin besar daya sebar, karena besarnya konsentrasi minyak atsiri di dalam *spray gel* menyebabkan konsistensi *spray gel* menjadi semakin encer, sehingga lebih mudah menyebar dan menyebabkan daya sebar yang semakin besar. Daya sebar yang baik menyebabkan kontak antara obat dengan kulit menjadi luas, sehingga absorpsi obat ke kulit berlangsung cepat.

Data uji daya sebar ketiga formula tersebut kemudian diuji menggunakan uji Kolmogrov-Smirnov untuk mengetahui apakah data telah terdistribusi normal atau tidak. Berdasarkan kolmogrov uji daya sebar signifikansinya (Aaymp.sig) menunjukkan angka $0,390 > 0,05$ sehingga data tersebut terdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji ANOVA dua jalan untuk mengetahui adanya perbedaan nilai viskositas dari ketiga formula tersebut. Data spss dapat di lihat pada Lampiran 25.

5.6 Hasil uji daya sebar lekat *spray gel*. Uji daya sebar lekat dilakukan untuk mengetahui kemampuan gel melekat pada tempat aplikasinya. Daya sebar lekat akan berhubungan dengan lamanya kontak antara basis dengan permukaan kulit dan kenyamanan penggunaan basis.

Semakin lama *spray gel* melekat, maka semakin lama kontak yang terjadi antara kulit dan *spray gel* sehingga penghantaran obat makin efektif. Hasil pengukuran daya lekat gel dapat dilihat pada Tabel 13.

Tabel 13. Hasil daya lekat *spray gel* minyak atsiri rimpang bangle dengan berbagai konsentrasi minyak atsiri

Formula	Waktu (detik)
Formula I	6,33 ± 0,58
Formula II	8,33 ± 0,58
Formula III	9,67 ± 0,58

Keterangan:

Formula I : *Spray gel* minyak atsiri rimpang bangle 1,56%
 Formula II : *Spray gel* minyak atsiri rimpang bangle 3,125%
 Formula III : *Spray gel* minyak atsiri rimpang bangle 6,25%

Data pada tabel 13 menunjukkan hubungan antara waktu dan daya sebar lekat *spray gel* adalah berbanding searah, artinya semakin besar konsentrasi dalam formula maka daya lekatnya akan semakin meningkat, begitu juga sebaliknya, semakin kecil konsentrasi formula maka daya lekatnya akan semakin menurun. Formula yang memiliki daya lekat paling tinggi adalah gel minyak atsiri rimpang bangle 6,25% yaitu mampu melekat pada kulit selama 10 detik dan formula yang memiliki daya sebar lekat paling rendah adalah gel minyak atsiri rimpang bangle 1,56% mampu melekat selama 6 detik. Uji ini dilakukan di kulit dengan cara disemprotkan pada bagian lengan atas dari jarak 30 mm atau 3 cm. setelah disemprotkan di hitung selama 10 detik untuk melihat sediaan menempel atau tetesan dari hasil semprot menetes ke bawah (Kamishita *et al* 1992).

5.7. Uji pemeriksaan pola penyemprotan. Sediaan disemprotkan pada lembar plastik yang sudah diukur beratnya dan sudah diberi nomor dengan jarak 3 cm, 5 cm, 10 cm, 15 cm, kemudian diukur waktu pengeringan menggunakan stopwatch setelah disemprotkan. Pengujian setiap jarak dilakukan secara triplo, pada uji ini yang diamati adalah pola pembentukan semprotan, diameter dari pola semprot yang terbentuk. Hasil uji pemeriksaan pola penyemprotan dapat dilihat pada Tabel 14.

Tabel 14. Hasil pemeriksaan pola penyemprotan *spray gel* minyak atsiri rimpang bangle

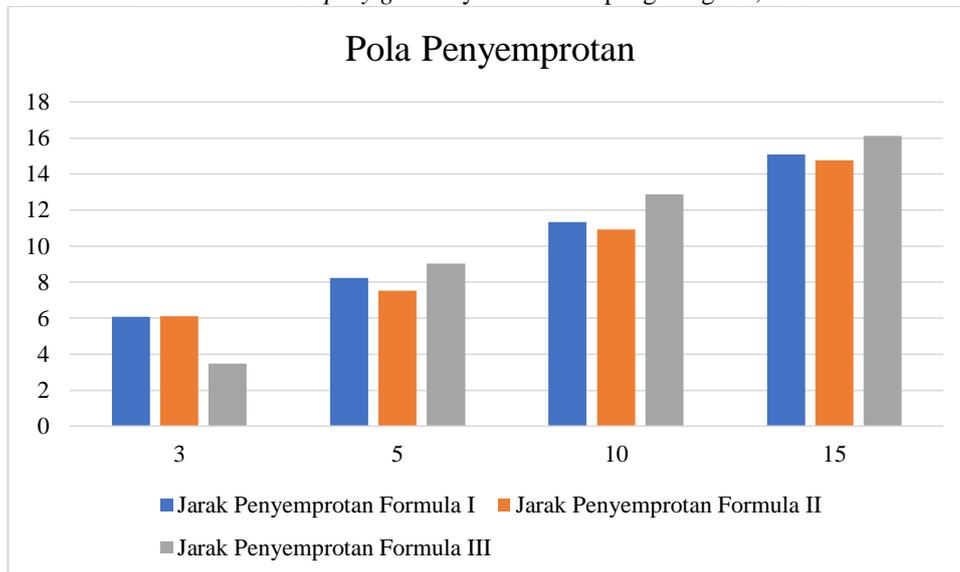
Jarak Penyemprotan	Rata-rata diameter (cm)		
	Formula I	Formula II	Formula III
3	6,07 ± 0,12	6,1 ± 0,1	3,47 ± 0,25
5	8,23 ± 0,25	7,53 ± 0,06	9,03 ± 0,06
10	11,33 ± 0,29	10,93 ± 0,12	12,87 ± 0,32
15	15,1 ± 0,1	14,77 ± 0,06	16,13 ± 0,15

Keterangan:

Formula I : *Spray gel* minyak atsiri rimpang bangle 1,56%

Formula II : *Spray gel* minyak atsiri rimpang bangle 3,125%

Formula III : *Spray gel* minyak atsiri rimpang bangle 6,25%



Gambar 8. Hasil pemeriksaan pola penyemprotan *spray gel* minyak atsiri rimpang bangle

Pada Tabel 14 menunjukkan adanya perbedaan hasil jarak penyemprotan pada setiap sediaan. Perbedaan jarak penyemprotan dapat disebabkan oleh berbagai faktor seperti alat penyemprot yang tidak baik, ketidaktepatan penyemprotan. Hasil pengamatan pemeriksaan pola penyemprotan menunjukkan semakin panjang jarak semakin besar diameter yang dihasilkan dan semakin banyak sediaan yang keluar.

Data uji pola penyemprotan ketiga formula tersebut kemudian diuji menggunakan uji Kolmogrov-Smirnov untuk mengetahui apakah data telah terdistribusi normal atau tidak. Berdasarkan kolmogrov uji pola penyemprotan signifikansinya ($A_{aymp.sig}$) menunjukkan angka $0,557 > 0,05$ sehingga data tersebut terdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji ANOVA dua jalan untuk mengetahui adanya perbedaan nilai viskositas dari ketiga formula tersebut. Data spss dapat di lihat pada Lampiran 29.

6. Hasil pengujian stabilitas *spray gel*.

Pengujian stabilitas *spray gel* ini dilakukan untuk mengetahui stabil tidaknya gel yang dibuat berdasarkan penyimpanan pada suhu yang berbeda. Pengujian dilakukan dengan metode *freeze thaw* yaitu dengan menyimpan sediaan

pada suhu 4°C selama 48 jam kemudian dipindahkan ke suhu 40°C selama 48 jam (1 siklus). Setelah itu dilanjutkan sampai lima siklus. Parameter yang digunakan dalam penentuan stabilitas gel yaitu organoleptis, pH dan viskositas gel.

6.1 Hasil uji organoleptik. Pemeriksaan organoleptik dilakukan secara visual (pengamatan) dengan melihat ada tidaknya perubahan yang terjadi pada *spray gel* minyak atsiri rimpang bangle setelah diuji dengan metode *freeze thaw*. Hasil uji organoleptis stabilitas gel fengan metode *freeze thaw* dapat dilihat pada Tabel 15.

Tabel 15. Hasil uji organoleptik stabilitas *spray gel* minyak atsiri rimpang bangle dengan berbagai konsentrasi minyak atsiri dengan menggunakan metode *freeze thaw*.

Siklus	Formula I	Formula II	Formula III
1	Stabil	Stabil	Stabil
2	Stabil	Stabil	Stabil
3	Stabil	Stabil	Stabil
4	Stabil	Stabil	Berubah
5	Stabil	Berubah	Berubah

Keterangan:

Formula I : *Spray gel* minyak atsiri rimpang bangle 1,56%

Formula II : *Spray gel* minyak atsiri rimpang bangle 3,125%

Formula III : *Spray gel* minyak atsiri rimpang bangle 6,25%

Dari hasil pengamatan secara visual uji stabilitas pada tabel 14 menunjukkan bahwa penyimpanan pada suhu yang berbeda selama lima siklus, sediaan *spray gel* formula III mengalami perubahan fase/terpisah pada siklus ke empat dan lima serta sediaan *spray gel* formula II pada siklus ke lima. Hal ini dikarenakan minyak atsiri keluar dari basis *spray gel* dan berkumpul di permukaan sehingga pada pengamatan visual terbentuk lapisan cairan di permukaan *spray gel* yang mengindikasikan tidak stabilnya sediaan *spray gel* pada konsentrasi 3,125% dan 6,25%.

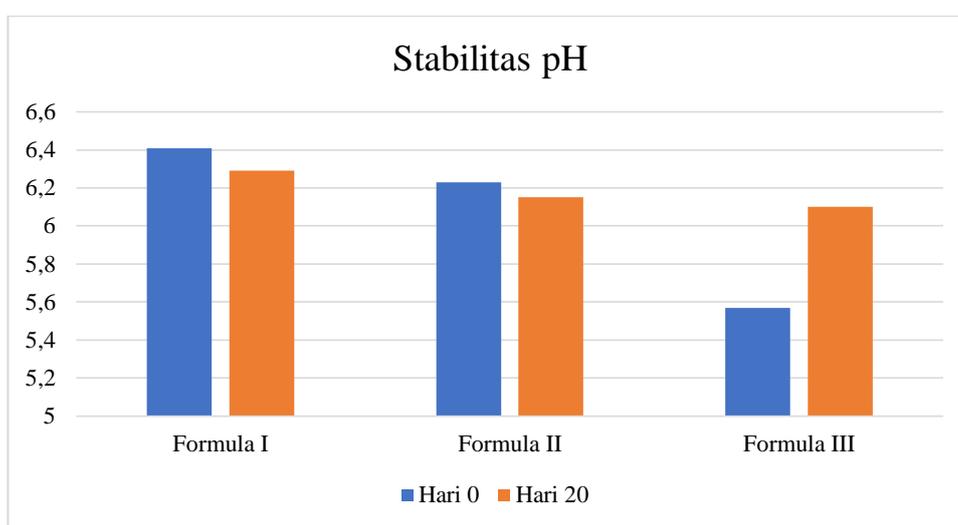
10.2. Hasil uji pH *spray gel*. Indikator lain yang diamati yaitu pH. Pada perlakuan sebelum dan setelah proses uji stabilitas pH *spray gel* dengan metode *freeze thaw* terlihat bahwa terjadi penurunan pH pada semua formula. Hasil pengujian pH sebelum dan setelah uji kestabilan dengan metode *freeze thaw* dapat dilihat pada Tabel 16.

Tabel 16. Hasil uji pH sebelum dan setelah uji kestabilan dengan metode *freeze thaw spray gel* minyak atsiri rimpang bangle.

Waktu pemeriksaan	Formula I	Formula II	Formula III
Hari 0	6,41 ± 0,01	6,23 ± 0,04	5,57 ± 0,02

Hari 20	$6,29 \pm 0,02$	$6,15 \pm 0,09$	$6,1 \pm 0,05$
---------	-----------------	-----------------	----------------

Keterangan:
 Formula I : *Spray gel* minyak atsiri rimpang bangle 1,56%
 Formula II : *Spray gel* minyak atsiri rimpang bangle 3,125%
 Formula III : *Spray gel* minyak atsiri rimpang bangle 6,25%



Gambar 9. Hasil uji pH sebelum dan setelah uji kestabilan dengan metode *freeze thaw* *spray gel* minyak atsiri rimpang bangle

Dari data tersebut, dapat dilihat hasil pengamatan terhadap pH ketiga formula sebelum dan setelah uji kestabilan dengan *freeze thaw* terlihat adanya penurunan dan kenaikan pH. Penyebabnya bukan karena pengaruh minyak atsiri tetapi karena pengaruh lingkungan seperti gas-gas di udara yang bersifat asam yang masuk dalam sediaan *spray gel*. Akan tetapi, pada penurunan dan kenaikan pH yang terjadi pada tiap formula tidak terlalu signifikan dan sehingga dapat dikatakan pH sediaan relatif stabil.

Data uji stabilitas pH ketiga formula tersebut kemudian diuji menggunakan uji Kolmogrov-Smirnov untuk mengetahui apakah data telah terdistribusi normal atau tidak. Berdasarkan kolmogrov uji stabilitas pH signifikansinya (Aaymp.sig) menunjukkan angka $0,323 > 0,05$ sehingga data tersebut terdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji ANOVA dua jalan terdapat adanya perbedaan nilai viskositas dari ketiga formula tersebut yang dilihat dengan adanya perbedaan homogeneous subsets pada ketiga formula tersebut. Data spss dapat di lihat pada Lampiran 21.

6.3 Uji viskositas *spray gel*. Pengukuran viskositas menunjukkan bahwa terjadi penurunan hampir di setiap formula setelah perlakuan kondisi pengujian metode *freeze thaw*. Hasil pengukuran viskositas gel sebelum dan setelah perlakuan uji kestabilan dengan metode *freeze thaw* dapat dilihat pada Tabel 16.

Tabel 17. Hasil pengukuran viskositas gel minyak atsiri rimpang bangle sebelum dan setelah uji kestabilan dengan metode *freeze thaw*.

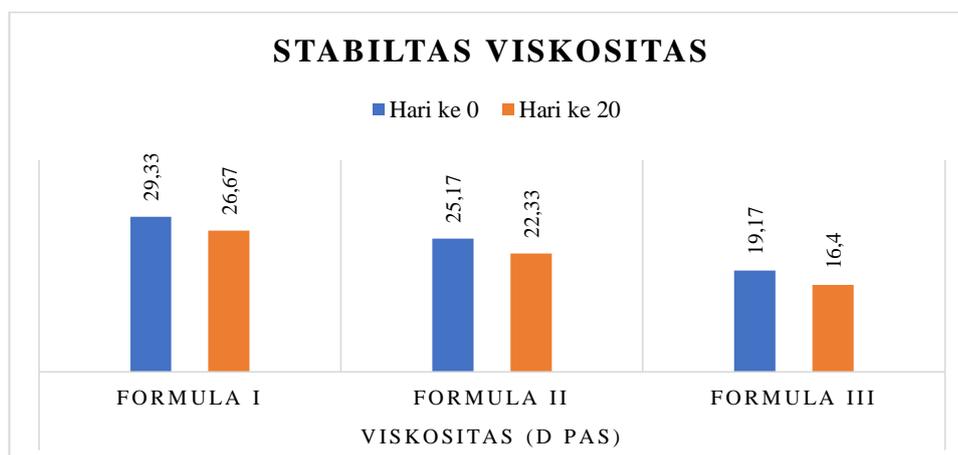
Waktu pemeriksaan	Viskositas (d Pas)		
	Formula I	Formula II	Formula III
Hari ke 0	29,33± 0,29	25,17 ± 3,31	19,17 ± 0,29
Hari ke 20	26,67 ± 0,29	22,33 ± 0,29	16,4 ± 0,36

Keterangan:

Formula I : *Spray gel* minyak atsiri rimpang bangle 1,56%

Formula II : *Spray gel* minyak atsiri rimpang bangle 3,125%

Formula III : *Spray gel* minyak atsiri rimpang bangle 6,25%



Gambar 10. Hasil pengukuran viskositas *spray gel* minyak atsiri rimpang bangle sebelum dan setelah uji kestabilan dengan metode *freeze thaw*

Hasil pengamatan terhadap viskositas *spray gel* menunjukkan bahwa viskositas ketiga formula sebelum dan setelah dilakukan pengujian dengan metode *freeze thaw* cenderung menurun. Menurut Panjaitan (2012) Perubahan nilai viskositas pada sediaan diduga karena adanya pengaruh dari penambahan minyak atsiri. Penyebab lainnya yaitu kelembapan udara diruang penyimpanan dan kemasan yang kurang kedap, sehingga dapat menyebabkan gel menyerap air dari luar dan menambah volume air dari formula. Adanya kenaikan suhu akan memperbesar jarak antar atom sehingga gaya antar atom akan berkurang, jarak menjadi renggang mengakibatkan viskositas gel menjadi turun. Penyebab lain yaitu terjadinya proses sineresis di dalam sediaan *spray gel*. Sineresis terjadi akibat

adanya kontraksi di dalam massa gel. Adanya perubahan pada gel akan mengakibatkan jarak matriks berubah, sehingga cairan yang terjebak keluar dan berada di atas permukaan gel.

Data uji stabilitas viskositas ketiga formula tersebut kemudian diuji menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov untuk mengetahui apakah data telah terdistribusi normal atau tidak. Berdasarkan kolmogorov uji stabilitas viskositas signifikansinya ($A_{\text{asympt.sig}}$) menunjukkan angka $0,775 > 0,05$ sehingga data tersebut terdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji ANOVA dua jalan terdapat adanya perbedaan nilai homogenous subsets viskositas dari ketiga formula tersebut. Data spss dapat dilihat pada Lampiran 23.

7. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 berdasarkan koloni

Identifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan melakukan inokulasi suspensi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada *Vogel Johnson Agar* (VJA) yang telah ditetesi 3 tetes kalium tellurit 1% dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

Hasil pengujian menunjukkan koloni dengan warna hitam, karena *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat mereduksi tellurit menjadi metalik warna medium dan disekitar koloni berwarna kuning karena fermentasi manitol yang dideteksi oleh perubahan warna indikator phenol red dari merah menjadi koloni berwarna kuning (Jawetz *et al* 2012). Hasil identifikasi koloni dapat dilihat pada Lampiran 15.

8. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan metode pewarnaan Gram

Hasil pengamatan Identifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan melakukan pewarnaan Gram pada mikroskop perbesaran kuat (100x) akan tampak berwarna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol seperti buah anggur. Bakteri Gram positif (*Staphylococcus aureus*) memiliki peptidoglikan yang lebih tebal daripada Gram negatif, sehingga pada pengecatan Gram *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat mempertahankan warna violet dari Gram A (kristal violet). Tujuan pewarnaan Gram ialah untuk melihat apakah bakteri *Staphylococcus aureus* termasuk Gram positif atau Gram negatif. Perbedaan respon terhadap

mekanisme pewarnaan Gram didasarkan pada struktur dan komposisi dinding sel bakteri. Bakteri Gram positif mengandung protein dalam prevalensi lebih rendah dan dinding selnya tebal. Pemberian kristal violet dan iodine, pemberian alkohol (etanol) pada pewarnaan Gram menyebabkan tidak terestrasinya lipid sehingga memperkecil permeabilitas dinding sel Gram positif. Dinding selnya terdehidrasi dengan perlakuan alkohol, pori-pori mengkerut, daya rembes dinding sel dan membran menurun sehingga pewarnaan safranin tidak dapat masuk sehingga sel berwarna ungu (Pelezar dan Chan 2000). Hasil identifikasi secara mikroskopis dapat dilihat pada Lampiran 9.

9. Hasil Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara biokimia

Uji katalase menggunakan suspensi bakteri uji yang diinokulasi pada medium nutrisi cair dengan H_2O_2 3%. Hasil positif ditandai dengan adanya gelembung udara sebab *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 mempunyai enzim katalase, dimana H_2O_2 yang dituang akan terurai menjadi H_2O (air) dan O_2 (oksigen), hal ini ditandai dengan timbulnya gelembung udara. Mekanisme enzim katalase memecah H_2O_2 yaitu saat melakukan respirasi, bakteri menghasilkan berbagai macam komponen salah satunya H_2O_2 . Bakteri yang memiliki kemampuan memecah H_2O_2 dengan enzim katalase maka segera membentuk suatu sistem pertahanan dari toksik H_2O_2 yang dihasilkan sendiri. Bakteri katalase positif akan memecah H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 dimana parameter yang menunjukkan adanya aktivitas katalase tersebut adalah adanya gelembung-gelembung oksigen seperti pada percobaan yang telah dilakukan. (Waluyo 2004). Hasil gambar identifikasi fisiologi berdasarkan katalase dapat dilihat pada Lampiran 16.

Uji koagulasi menggunakan plasma darah kelinci yang diberi nama asam sitrat, diencerkan (1:5) ditambah satu ose biakan bakteri, diinkubasi pada suhu $37^\circ C$. Hasil pengamatan tabung diperiksa dengan melihat pembentukan gumpalan selama 1-4 jam. Hasil positif kuat jika tabung tes dibalik atau dimiringkan, gumpalan plasma tidak terlepas dan tetap melekat pada dinding tabung. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang bersifat koagulasi positif akan menggumpalkan plasma dalam waktu 1 jam (Jawetz *et al* 2001). Hasil identifikasi pada penelitian ini menunjukkan positif terjadi perubahan plasma darah kelinci

yang terdenaturasi oleh *Staphylococcus aureus* sehingga terjadi penggumpalan putih. Tes koagulasi ini digunakan untuk membedakan antara bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*, karena *Staphylococcus epidermidis* tidak membentuk gumpalan-gumpalan putih. Hasil gambar identifikasi secara koagulasi atau biokimia dapat dilihat pada Lampiran 16.

10. Pembuatan suspensi bakteri uji

Tabung reaksi steril yang berisi BHI (*Brain Heart Infusion*) secara aseptis diambil biakan murni masing-masing satu sampel dua ose bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 kemudian dimasukkan ke dalam dalam tabung reaksi yang berisi BHI, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, setelah diinkubasi, kemudian kekeruhan hasil suspensi bakteri uji disesuaikan dengan kekeruhan standar Mc Farland 0,5 yang setara dengan kepadatan bakteri sebesar $1,5 \times 10^8$ cfu/mL. Hasil pembuatan suspensi dapat dilihat pada Lampiran 14.

11. Hasil pengujian aktivitas antibakteri secara *in vivo*

Hewan uji kelinci jantan putih sebanyak 5 ekor dengan umur ± 3 bulan dengan berat $\pm 4,5-5$ kg. kelinci yang diaklimatisasi dengan lingkungan kemudian punggung kelinci dicukur sampai bersih setelah itu dipilih 5 lokasi yaitu kontrol positif (Gentamisin), kontrol negatif (basis gel karbopol 940), kontrol normal (tanpa perlakuan), sediaan *spray gel* dengan konsentrasi 1,56%, 3,125%, dan 6,25% pada punggung kelinci bagian kiri dan kanan yang disemprotkan sediaan *spray gel* minyak atsiri rimpang bangle dengan jarak masing-masing panjang ± 5 cm dan lebar ± 5 cm. Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 disuntik secara subkutan 0,2 ml pada masing-masing lokasi kulit punggung kelinci. Lokasi yang telah disuntik di tutup dengan perban steril untuk mencegah terjadinya kontaminasi.

Efek antibakteri dapat dilihat secara makroskopis dengan melihat dari cepat sembuhnya infeksi yang diamati dengan hilangnya nanah, keringnya luka dan jumlah koloni yang mendekati kontrol normal (tanpa perlakuan) yaitu $\pm 25-40$ koloni pada punggung kelinci (Naibabo et al. 2013).

Hasil uji aktivitas antibakteri *spray gel* minyak atsiri rimpang bangle dapat dilihat pada Table 19. Pengambilan nanah pada luka kelinci untuk diinokulasi pada media VJA setiap 2 hari sekali dapat dilihat pada Lampiran.18.

Tabel 18. Hasil uji aktivitas antibakteri *spray gel* minyak atsiri rimpang bangle terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Formula	Kelinci	Pengamatan kulit punggung kelinci setelah pemberian <i>spray gel</i> (Hari)						
		1	3	5	7	9	11	13
F I	I	N	Nh	K	K	K	S	S
	II	N	Nh	K	K	K	S	S
	III	N	Nh	K	K	K	S	S
	IV	N	Nh	Nh	K	K	S	S
	V	N	Nh	K	K	K	S	S
Kontrol N		S	S	S	S	S	S	S
F II	I	N	Nh	K	K	K	S	S
	II	N	Nh	K	K	K	S	S
	III	N	Nh	K	K	K	S	S
	IV	N	Nh	K	K	K	S	S
	V	N	Nh	K	K	K	S	S
Kontrol N		S	S	S	S	S	S	S
F III	I	N	Nh	K	K	K	S	S
	II	N	Nh	K	K	K	S	S
	III	N	Nh	K	K	K	S	S
	IV	N	Nh	K	K	K	S	S
	V	N	Nh	K	K	K	S	S
Kontrol N		S	S	S	S	S	S	S
Kontrol (+)	I	N	Nh	K	K	K	S	S
	II	N	Nh	K	K	K	S	S
	III	N	Nh	K	K	K	S	S
	IV	N	Nh	K	K	K	S	S
	V	N	Nh	K	K	K	S	S
Kontrol N		S	S	S	S	S	S	S
Kontrol (-)	I	N	N	Nh	K	K	K	S
	II	N	N	Nh	K	K	K	S
	III	N	N	Nh	K	K	K	S
	IV	N	N	Nh	Nh	K	K	S
	V	N	N	Nh	Nh	K	K	S
Kontrol N		S	S	S	S	S	S	S

Keterangan:

N : Nanah

Nh : Nanah hilang

K : Kering

S : Sembuh

F I : *Spray gel* minyak atsiri rimpang bangle 1,56%

F II : *Spray gel* minyak atsiri rimpang bangle 3,125%

F III : *Spray gel* minyak atsiri rimpang bangle 6,25%

Kontrol (+) : Gentamisin 0,1%

Kontrol (-) : Basis gel tanpa minyak atsiri (karbopol 940)

Kontrol N : Kontrol normal (tanpa perlakuan)

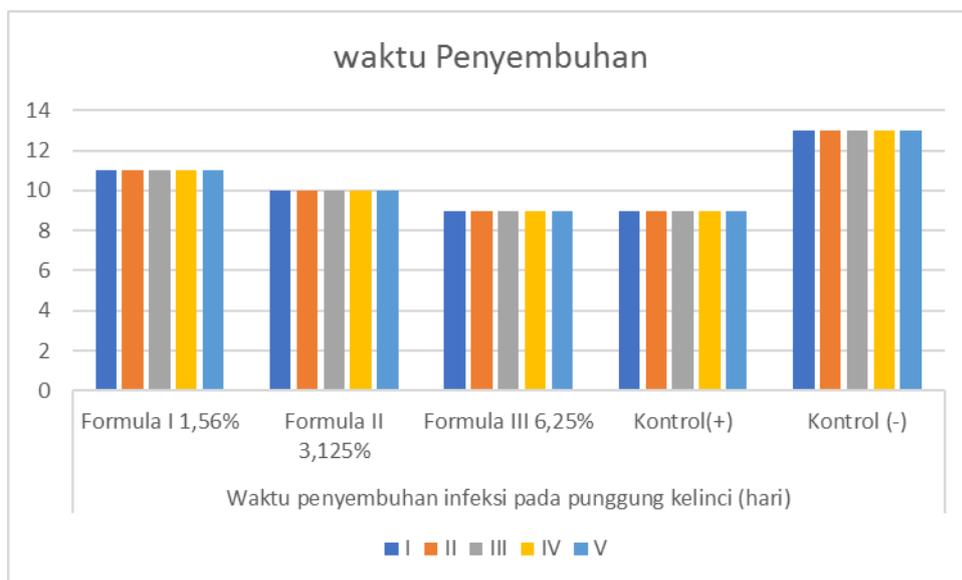
Pada tabel 18 menunjukkan luka yang mengering pada hari ke 7 dan mengalami penyembuhan pada hari ke 11 pada formula I, II, III, dan kontrol positif yang memiliki aktivitas antibakteri yang dapat menyembuhkan kulit punggung kelinci yang terinfeksi lebih cepat dibandingkan dengan kontrol negatif (basis gel karbopol) yang mengalami penyembuhan pada hari ke 13.

Sediaan *spray gel* minyak atsiri rimpang bangle dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram positif yaitu *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan metode *in vivo*. Aktivitas antibakteri *spray gel* dapat diamati pada kulit punggung kelinci dengan mengeringnya luka dan terjadinya kesembuhan pada kulit punggung kelinci. Aktivitas antibakteri yang dapat dilihat pada Tabel 19.

Tabel 19. Waktu penyembuhan infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada kulit punggung kelinci setelah disemprotkan *spray gel* rimpang bangle dengan berbagai konsentrasi

Kelinci	Waktu penyembuhan infeksi pada punggung kelinci (hari)				
	Formula I 1,56%	Formula II 3,125%	Formula III 6,25%	Kontrol(+)	Kontrol (-)
I	11	10	9	9	13
II	11	10	9	9	13
III	11	10	9	9	13
IV	11	10	9	9	13
V	11	10	9	9	13
Rata-rata	11	10	9	9	13

Table 19. menunjukkan hasil waktu penyembuhan luka infeksi bakteri dengan tiga konsentrasi yaitu konsentrasi 1,56%, 3,125%, 6,25% pada kulit punggung kelinci. *Spray gel* minyak atsiri rimpang bangle dengan konsentrasi 1,56% dapat menyembuhkan infeksi pada hari ke 11. Konsentrasi 3,125% dapat menyembuhkan infeksi pada hari 10, konsentrasi 6,25% dan kontrol positif dapat menyembuhkan infeksi pada hari ke 9, dan kontrol negatif pada hari ke 13. Ketiga konsentrasi sediaan *spray gel* dapat menyembuhkan infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada kulit punggung kelinci dan menunjukkan hasil penyembuhan tercepat yaitu pada konsentrasi 6,25% dan kontrol positif (Gentamisin 0,1%) dibandingkan dengan konsentrasi 1,56%, 3,25%, kontrol negatif (basis gel karbopol). Penyembuhan luka infeksi ditandai dengan hilangnya nanah dan keringnya luka infeksi pada kulit punggung kelinci dalam hitungan hari.



Gambar 11. Waktu penyembuhan infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada kulit punggung kelinci setelah disemprotkan *spray gel* rimpang bangle dengan berbagai konsentrasi

Keterangan:

- I : Kelinci 1
- II : Kelinci 2
- III : Kelinci 3
- IV : Kelinci 4
- V : Kelinci 5

12. Hasil perhitungan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dari nanah

Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diambil dari nanah punggung kelinci kemudian diinokulasi pada media VJA (*Vogel Johnson Agar*). Hasil pengujian ditunjukkan dengan warna koloni hitam dan warna medium di sekitar koloni kuning. Kemampuan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat memfermentasi manitol membentuk suasana asam dan fenol red maka medium di sekitar koloni berwarna kuning (Jawetz *et al* 2007).

Perhitungan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menggunakan metode *Plate Count*, untuk menghitung koloni bakteri dilakukan dengan membuat larutan sampel, pada tabung reaksi pertama berisi NaCl 0,9% sebanyak 10 ml kemudian ditambahkan nanah yang telah diambil pada punggung kelinci menggunakan kapas lidi steril, diambil 1 ml kemudian dimasukkan ke dalam cawan

petri steril secara aseptis, setelah itu pada cawan petri ditambahkan 2-3 tetes kalium telurit 1% dan media VJA (*Vogel Johnson Agar*) kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Hasil pengamatan perhitungan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* selama pengobatan yang diamati setiap 2 hari sekali.

Minyak atsiri rimpang bangle teruji secara *invitro* dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan gram negatif, fungi dermatophyta dan ragi (Pithayanukul dkk 2007; Tripathi dkk 2008; Jantan dkk 2003). Aktivitas minyak atsiri rimpang bangle sebagai antibakteri diduga disebabkan oleh komponen utamanya terdiri dari terpinen-4-ol (Bhuiyan *et al* 2008). Mekanisme terpinen-4-ol sebagai antimikroba berdasarkan atas kemampuannya merangsang kerusakan membran dengan pembentukan mesosom dan penghilangan material sitoplasma sel. Jenis komponen kimia lain dalam minyak atsiri rimpang bangle memungkinkan tidak hanya satu mekanisme dan satu komponen yang bertanggung jawab terhadap aktivitasnya sebagai antibakteri (Carson *et al* 2002). Minyak atsiri yang menembus membran dapat mengkoagulasi sitoplasma, merusak lemak dan protein (Dorman *et al* 2000), selain itu minyak atsiri dapat melarutkan fosfolipid yang merupakan penyusun dinding bakteri, hal ini dikarenakan komponen minyak atsiri memiliki percabangan gugus fenol maupun alkohol (Gustafson *et al* 1998). Fosfolipid yang rusak atau larut menyebabkan kerusakan pada membran sel, kerusakan ini menyebabkan kebocoran sel sehingga komponen-komponen penting seperti protein, asam nukleat, nukleotida akan keluar dari sel bakteri yang menyebabkan bakteri tidak dapat melakukan aktivitas kehidupannya dan pertumbuhan bakteri tersebut dapat terhambat atau mati (Rupilu *et al* 2008).

Hasil pengamatan perhitungan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat dilihat pada Tabel 20.

Tabel 20. Hasil perhitungan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 setelah pengurangan jumlah koloni kontrol normal

Kelinci	Hari	Positif	Negatif	1,56%	3,125%	6,25%
---------	------	---------	---------	-------	--------	-------

I	1	119	132	128	124	115
	3	89	121	111	98	82
	5	59	110	94	72	52
	7	39	95	74	48	32
	9	21	84	57	31	15
	11	8	73	46	16	7
	13	3	58	35	8	6
II	1	110	123	120	134	108
	3	80	112	103	108	75
	5	50	101	86	82	42
	7	33	81	66	55	31
	9	15	61	46	27	14
	11	7	46	29	10	3
	13	4	31	12	10	3
III	1	111	125	114	105	100
	3	81	114	97	79	67
	5	51	103	80	53	56
	7	34	83	63	42	39
	9	14	72	46	25	19
	11	6	52	25	14	8
	13	3	35	23	7	5
IV	1	108	132	120	108	123
	3	78	121	103	82	90
	5	48	110	83	62	58
	7	31	93	63	45	33
	9	11	73	53	34	22
	11	8	62	35	26	10
	13	5	45	18	13	7
V	1	106	131	129	116	112
	3	76	120	112	90	79
	5	46	109	92	64	46
	7	26	94	67	47	35
	9	8	77	34	36	18
	11	5	57	23	10	7
	13	5	32	16	6	2

Hasil perhitungan jumlah koloni menunjukkan bahwa konsentrasi 6,25% dan kontrol positif mendekati jumlah koloni pada kontrol normal kemudian diikuti konsentrasi 3,125% kemudian konsentrasi 1,56% dan terakhir kontrol negatif. Hasil kontrol normal (tanpa perlakuan) yang digunakan untuk mengetahui jumlah koloni normal pada punggung kelinci yaitu berkisar ± 25 sampai ± 40 koloni, terjadinya kenaikan dan penurunan jumlah koloni pada masing-masing konsentrasi setiap harinya terjadi karena beberapa faktor seperti faktor lingkungan yang tidak menentu setiap harinya, faktor kondisi tubuh kelinci (daya imunitas kelinci) setiap kelinci yang berbeda-beda, dan kebersihan dari tempat tinggal kelinci.

Berdasarkan hasil dari lamanya waktu penyembuhan dan penurunan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* sediaan *spray gel* dengan konsentrasi 1,56%,

3,125% dan 6,25% memiliki kemampuan menyembuhkan dan menurunkan koloni pada waktu yang berbeda. Kontrol negatif memiliki waktu penyembuhan yang paling lama karena hanya menggunakan basis gel karbopol, nipagin, nipasol, dan tidak ada zat aktif yang membantu mempercepat penyembuhan. Basis gel hanya memberikan efek melembabkan kulit sedangkan bahan pengawet nipagin dan nipasol memberikan sedikit efek antibakteri. Infeksi kontrol negatif juga dapat sembuh karena adanya bantuan dari bahan pengawet nipagin dan nipasol, selain itu tubuh yang sehat memiliki kemampuan alami untuk melindungi dan memulihkan dirinya dari pengaruh luar.

Kontrol positif Gentamisin 0,1% memiliki daya penyembuhan yang tidak berbeda nyata dengan sediaan spray gel minyak atsiri rimpang bangle pada konsentrasi 6,25%. Konsentrasi 6,25% sediaan *spray gel* belum bisa menggantikan sediaan Gentamisin 0,1% karena sediaan Gentamisin merupakan zat kimia sintetik yang telah terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan negatif dengan menghambat sintesis protein dengan cara mengikat secara ireversibel pada sub unit ribosom 30s dari kuman dan telah teruji secara klinis dan pra klinis dapat menghambat bahkan membunuh bakteri. Sediaan *spray gel* minyak atsiri rimpang bangle dapat digunakan sebagai alternatif sediaan herbal untuk infeksi bakteri yang tidak memiliki efek samping yang besar.

Berdasarkan hasil pengamatan koloni pada cawan petri hari ke 7, 9, 13 warna media VJA tidak menghasilkan warna kuning yang disebabkan oleh beberapa faktor yaitu tidak melakukan pengujian pH media dan waktu inkubasi yang berbeda-beda. Kesembuhan infeksi pada kelinci ditandai dengan menurunnya jumlah koloni, hilangnya nanah, eritema, dan mengeringnya luka pada kulit punggung kelinci yang diinfeksi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 setelah pemberian spray gel minyak atsiri rimpang bangle (Naibabo *et al* 2013).

Data uji aktivitas antibakteri ketiga formula tersebut kemudian diuji menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov untuk mengetahui apakah data telah terdistribusi normal atau tidak. Berdasarkan kolmogorov uji aktivitas antibakteri signifikansinya (Aaymp.sig) menunjukkan angka $0,083 > 0,05$ sehingga data tersebut terdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji ANOVA dua jalan

dilanjutkan dengan uji Tukey untuk mengetahui adanya perbedaan aktivitas antibakteri dari ketiga formula tersebut.

Formulasi Spray Gel	N	Subset			
		1	2	3	4
Tukey HSD ^{a,b} POSITIF	35	42.80			
6,25%	35	43.46			
3,125%	35		53.63		
1,56%	35			68.91	
NEGATIF	35				88.23
Sig.		.994	1.000	1.000	1.000

Berdasarkan data homogeneous subsets pada uji aktivitas antibakteri pada penurunan jumlah koloni terdapat perbedaan yang signifikan ditandai dengan adanya perbedaan subsets yang ditampilkan, dimana konsentrasi 6,25% dan kontrol positif tidak mengalami perbedaan yang signifikan satu subsets dibandingkan dengan konsentrasi 1,25%, 3,125%, dan kontrol negatif yang memiliki perbedaan subsets Data spss dapat di lihat pada Lampiran 27.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan sebagai berikut :

Pertama, minyak atsiri rimpang bangle dapat dibuat dalam bentuk sediaan *spray gel* dengan mutu fisik baik dan stabilitas yang baik pada konsentrasi 1,56%.

Kedua, sediaan *spray gel* minyak atsiri rimpang bangle dengan konsentrasi 1,25%, 3,125%, dan 6,25% memiliki daya aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diinfeksi pada kelinci.

Ketiga, konsentrasi 6,25% digunakan untuk penyembuhan paling optimal dari sediaan *spray gel* minyak atsiri rimpang bangle terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diinfeksi pada kelinci.

B. Saran

Dari penelitian yang telah dilakukan, disarankan pada peneliti selanjutnya agar didapatkan hasil yang lebih maksimal sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan percobaan variasi karbopol untuk mendapatkan konsentrasi basis yang lebih optimal dalam membantu aktivitas antibakteri.
2. Perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri gel minyak atsiri rimpang bangle menggunakan jenis bakteri patogen yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

- Agoes, A. 2010. *Tanaman Obat Indonesia*. Salemba Medica. Palembang.
- Agusta A. 2000. *Minyak Atsiri Tumbuhan Tropika Indonesia*. Bandung: ITB.
- Angraini, FP., (2015). Efek Kombinasi Minyak Atsiri Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.) dan jahe merah (*Zingiber officinale var rubrum*) SEBAGAI ANTIBAKTERI Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Jember : Fakultas Farmasi. Universitas Jember.
- Anief, M, 1993, *Ilmu Meracik Obat*, Cetakan IV, Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Ansel HC. 2006. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi IV. Farida Ibrahim. Penerjemah; Jakarta: Universitas Indonesia Press. Hlm 605-608. Terjemahan dari: *Introduction Forms Pharmaceutical Preparation*
- Ansel.H.C. 1989.*Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi IV. Universitas Indonesia, hlm 410-417
- Allen L V. 2002. The Art Science and Technology of Pharmaceutical compounding, edisi 2, USA. *American Pharmaceutical Association*, pp. 13-16,34,35.
- Armando, R. (2009).*Memproduksi minyak Atsiri Berkualitas*. Jakarta : Penebar Swadaya. Hal.51
- Ba, H.K.,2009, *Handbook of Stability Testing in Pharmaceutical Development*, Springer Science, USA, p.34.
- Bhuiyan M, Islam N, Chowdhury JU, Begum J. 2008. Volatile constituents of essential oils isolated from leaf and rhizome of *Zingiber cassumunar* Roxb. *Bangladesh J. Pharmacol.*,3, 69-73.
- Budzynska A, Wieckowska-Szakiel M, Sadowska B, Kalemba D, Rózalska B. Antibiofilm activity of selected plant essential oils and their major components. *Pol. J. Microbiol. Pol. Tow. Mikrobiol. Pol. Soc. Microbiol.* 2011; 60: 35–41.
- Carson CF, Mee BJ, Riley TV. Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage, and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2002; 46:1914–1920.
- [Depkes RI]. 1989. *Vademekum Bahan Obat Alam* Ditjen-POM, Depkes.

- [Depkes RI]. 1979. *Materia Medika Indonesia*, Jilid III, Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, hlm XI.
- [Depkes RI]. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*, Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, hlm I.
- [Ditjen] POM. 1979. Farmakope Indonesia. Edisi III. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Hal. 96, 534, 612
- [Dirjen POM Departemen Kesehatan Republik Indonesia]. 1995. *Farmakope Indonesia*(4th ed.). Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes] RI. 2001. *Materia Medika Indonesia Jilid 1*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes] RI. 2003. Pedoman Pelayanan Gizi Rumah Sakit. Jakarta : Direktorat Rumah Sakit. Khusus dan Swasta, Dit. Jen. Yanmedik.
- [Depkes RI]. 2007. *Riset Kesehatan Dasar*. Edisi III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia*. Hal 8-10. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Djajadisastra Joshita., Abdul Mun'im, Dessy NP. 2009. Formulasi Gel Topikal Dari Ekstrak Nerii Folium Dalam Sediaan Anti Jerawat. *Jurnal Farmasi Indonesia.*, Vol.4 (4) Juli 2009: 210-216.
- Dorman H.J.D. dan Deans S.G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal Applied Microbiology*. 2000; 88(2): 308–316,
- Dwiyudrisa SS. 2014. Formulasi gel semprot menggunakan kombinasi karbopol 940 dan hidroksipropil metilselulosa (HPMC) sebagai pembentuk gel.
- Ganiswara, S., Setiabudy.R., Suyatna, F., 1995.*Farmakologi dan Terapi*. Edisi IV. Jakarta: UI Press. Hlm 571-573.
- Garg, A.,Aggarwal, D., Garg, S., and Singla, A., K., 2002, *Spreading of Semisolid Formulation, Pharmaceutical Technology*,USA, pp.84 – 104.
- Garrity GM, Lilburn JR, Cole SH, Harrison, J Euzeby, and BJ Tindall. 2007. *Taxonomic Outline Of the Bacteria and Archaea*, Release 7.7. Michigan: Michigan State University Board of Trustees. P. 364-464.
- Guenther E. 2010. *Minyak Atsiri*. RS Ketaren. Penerjemah; Jakarta: Universitas Indonesia Press. Terjemahan dari: Essential Oils.

- Gunawan D, Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*. Jilid 1. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Gustafson J.E., Liew Y.C., Chew S., Markham J.L., Bell H.C., Wyllie S.G. dan Warmington J.R. Effects of tea tree oil on *Escherichia coli*. *Letters in Applied Microbiology*. 1998; 26: 194–198.
- Hanani, E. Kawira J.A & C. Dilanka. 2000. *Pola kromatogram lapis tipis dan gas cair rimpang dan akar Zingiber cassumunar*. Makalah pada Kongres National Obat Tradisional Indonesia. Surabaya 20-22 September 2000.
- Harbone. 2007. *Metode Fitokimia, Penentuan Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Padmawinata K, Soediro I, Penerjemah; Bandung: Penerbit ITB. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods*
- Hasan AI. 2010. Performa induk kelinci peranakan New Zealand White dengan pemberian pellet dan silase ransum komplit berbasis pakan lokal. *Skripsi*. Fakultas Peternakan. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Holland, Troy., Hassan Chaouk, Bruktawit Aswaf, Stephen Goorich, Andrian Hunter, dan Vimala Francis, 2002. *Spray Hydrogel Wound Dressing*. *United State Patent Application Publication*.
- Iskamto B. 2009. *Bakteriologi kesehatan*, cetakan ke-1. Surakarta: Universitas Negri Sebelas Maret Press. Hlm 11, 12, 14.
- Jantan, I., Mohd Yassin, M.S., Chin, CB., Chen, LL., Sim, NL. (2003). Antifungal Activity of the Essential Oils of Nine Zingiberaceae Species, *Pharmaceutical Biology*, **41**(5), 392–397.
- Jauregui K. M., Gregorio., Juan Carlos Cano Cabrera, Elda Patricia Segura Cenicerros, Jose Luis Martinez Hernandez, dan Anna Iliyina, 2009. A New Formulated Stable Papin-pectin Aerosol Spray Skin Woundhealding. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, Vol.14 : 450-456.
- Jawetz *et al.* 2001. *Mikrobiologi Kedokteran: Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universtas Airlangga*. Surabaya: Penebar Swadaya.
- Jawetz E, Melnick , J L, EA, 2005. *Medical Microbiology*. 23th. Ed. Elferia Nr. Penerjemah; Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Jawetz E, Melnick , J L, EA, 2012. *Medical Mirobiology*. 26th. Ed. Elferia Nr. Penerjemah; Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Kamishitta, Takuzo., Takashi Miyazaki, Yoshihide Okuno, 1992. *Spray Gel Base and Spray Gel Preparation Using Thereof*. *United State Patent Application Publication*. America.

- Kaplan N.E., V.R Hentz. 1992. *Emergency Management of Skin and Soft Tissue Wounds, An Illustrated Guide, Little Brown*. Boston, USA
- Kartadisastra, H. R., 1997. *Penyediaan dan Pengolahan Pakan Ternak Ruminansia*. Kanisius. Yogyakarta.
- Ketaren S. 1985. *Pengantar Teknologi Minyak Atsiri*. Jakarta:Balai Pustaka. hal 102-112.
- Kerekes EB, Deák É, Takó M, Tserennadmid R, Petkovits T, Vágvölgyi C, Krisch J. Anti-biofilm forming and anti-quorum sensing activity of selected essential oils and their main components on food-related microorganisms. *J. Appl. Microbiol.* 2013; 115: 933–942.
- Koensoemardiyah S. 2010. *A to Z Minyak Atsiri Untuk Industri Makanan, Kosmetik dan Aroma terapi*. Yogyakarta: Penerbit ANDI.
- Lanjar Raharjojo, Gunardi. 2007. *Profil Kromatogram dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Rimpang Bangle (Zingiber cassumunar Roxb) Terhadap Bakteri Escherichia coli In Vitro*. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro dan Ikatan Dokter Indonesia Wilayah Jawa Tengah. Media Medika Indonesia
- Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) 2013. Identifikasi Senyawa dari Ekstrak Air Rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar Roxb.*)
- Lia marliani. 2012. *Aktivitas Antibakteri dan Telaah Senyawa Komponen Minyak Atsiri Rimpang Bangle (Zingiber cassumunar Roxb.)*. Bandung. Sains, Teknologi, dan Kesehatan.
- Martindale., 2005. *The Complete Drug Reference*. 34th ed Pharmaceutical Press. London, 1157.
- Marzuki, Amirullah, & Fitriana. 2010. *Kimia dalam Keperawatan*. Sulawesi Selatan: Pustaka As Salam.
- Maulidaniar, R., Rahima, S. R., Rita, M., Hamidah, N. dan Yuda, A. W. (2011). *Gel Asam Salisilat*. Universitas Lambung Mangkurat Banjar Baru, dipublikasikan.
- Mcnair.H.M, 2009. *Basic Gas Chromatography, Second Edition*, New Jersey , A John Wiley & Sons, Inc Publication
- Naibabo, O.H., Yamlean, P.V.Y., Wiyono, W. 2013. Pengaruh Basis Salep terhadap Formulasi Sediaan Salep Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum sanctum L.*) pada Kulit Punggung Kelinci yang Dibuat Infeksi *Staphylococcus aureus*. Manado: Program Studi Farmasi, FMIPA UNSRAT.

- Nugraha, Fajar. 2011. Uji Efektivitas Gel Ekstrak N-Heksana Daun Kesum (*Polygonum minus* Huds) Sebagai Repelan Terhadap Nyamuk. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Prodi Farmasi Universitas Tanjungpura. Pontianak.
- Nur Widyawati N.R. 2016 Uji Aktivitas Antibakteri Dari Kombinasi Minyak Atsiri Kulit Kayu Manis (*Cinnamomum burmani*) Dan Sereh (*Cymbopogon nardus* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi .
- Panjaitan, E. N., Saragih, A., Purba, D. 2012. Formulasi Gel Dari Ekstrak Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale* Roscoe). *Journal of Pharmaceutics and Pharmacology*, 2012 Vol. 1 (1): 9-20
- Pelezer jr, M.j Chan E.CS. 2000. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Penerbit Swadaya.
- Pithayanukul P, Tubprasert J, Wuthi-Udomlert M. In vitro antimicrobial activity of *Zingiber cassumunar* (Plai) oil and a 5% Plai oil gel. *Phytother.Res.* 2007; 21: 164–169.
- Porzoi S., et al, 1998. Efficacy Of A New Topikal Gel-Spray Formulation Of Ketoprofen Lysine Salt In The Rat: Percutaneous Permetion In Vitro And In Vivo And Pharmacological Activity. *Pharmacological Research*, Vol. 37 (1).
- Price S, dan Price L. Aromaterapi bagi profesi kesehatan, Alih bahasa: Hartono, Danry. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC; 1987.
- Puspitasari, L. 2014. Kandungan protein dan sifat organoleptic mie ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas*) sebagai bahan baku dengan penambahan jamur tiram (*Pleurotus ostratus*). Surakarta: Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Rachmalia N., Mukhlisah I., Sugihartini N., Yuwono T. (2016) Daya iritasi dan sifat fisik sediaan salep minyak atsiri bunga cengkih (*Syzygium aromaticum*) pada basis hidrokarbon.
- Ratna Wulandari. 2011. *Fraksionasi Senyawa Aktif Minyak Atsiri Bangle (Zingiber purpureum) Sebagai Pelangsing Aromaterapi*. Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Retno Wahyu. N. C. 2013. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi n-Heksan, Etil Asetat Dan Air Ekstrak Bunga Biduri (*Calotropis gigantean* (L.)Dryand) Terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 Secara *in vivo* [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi .

- Rowe, C. R., Sheskey, J. P., and Weller, J. P., 2006, *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, 5th Edition, 18-19, 89- 91, 462-469, 629-631, American Pharmaceutical Association, London, Chicago.
- Rupilu, N.S dan Lamapaha, Y.F,. 2008. *Potensi lengkuas sebagai antimikroba (studi in vitro pada bakteri gram negatif)*. Skripsi. Malang: Universitas Negeri Malang.
- Sastrohadmijojo H. 2004. *Kimia Minyak Atsiri*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press. Hlm 9-10.
- Scales T.J., 1963. Wound Healing and The Dressing. *British Journal of Industrial Medicine*. Vol. 20 (2) : 82-94.
- Setiabudy R, 2007, *Farmakologi dan Terapi*, edisi V, Bagian farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.
- Shulman, Dhair, Sommers. 1994. *Dasar Biologi dan Klinis Penyakit Infeksi*. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada. Hlm 55-59.
- Smith JB, Mangkowidjojo S. 1988. *Pemeliharaan, Pembikinan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Jakarta; Penerbit Universitas Indonesia. Hlm 84-100.
- Sudjono, T.A, Mimin Honniasih, Yunita Ratna Pratimasari. 2012. Pengaruh Konsentrasi Gelling Agent Carbomer 934 dan HPMC Pada Formulasi Gel Lender Bekicot (*Achatina fulica*) Terhadap kecepatan Penyembuhan Luka Bakar Pada Punggung Kelinci. *PHARMACON : Jurnal Farmasi Indonesia*. Vol.13 (1).
- Sukatta, U. Rugthaworn P, Punjee P. 2009. *Chemical Composition and Physical Properties of Oil from Plai (Zingiber cassumunar Roxb.) Obtained by Hydro Distillation and Haxane Extraction*. Bangkok : Kasetsart University.
- Supardi I dan Sukamto.1999.*Mikrobiologi Dalam Pengolahan dan keamanan Pangan*.Bandung: Penerbit Alumni.
- Suryono B. 2009. *Bakteriologi Umum dan Bakteriologi Klinik*. Kediri: Akademi Analis Kesehatan Bhakti Jaya.
- Syamsuhidayat, S.S dan J.R Hutapea, 1991. *Inventarisasi Tanaman Obat Indonesia I*. Depkes-RI, POM dan LitbangKesa, Jakarta.
- Syamsuni. 2006. *Farmasetika Dasar dan Hitungan Farmasi*. EGC. Jakarta. Hal 44.
- Syukur, Cheppy. Hernani. 2001. *Budi Daya Tanaman Obat Komersial*. Penebar Swadaya. Jakarta.

- Tripathi M, Chawla P, Upadhyay. *Essential oils from family zingiberaceae for antimicrobial activity-a review*. Ijpbs.2013; 4(4):149-162.
- Voigt, R. 1994. Buku Pelajaran Teknologi Farmasi. Edisi ke – 5. Diterjemahkan oleh Soewandhi, S.N. dan Widiyanto, M.B. Edisi V. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. Hlm 311-370, 560-567.
- Widyaningrum, N., Fudholi, A., Sudarsono, Setyowati, E.P. 2015. *Aktivitas antibakteri formula optimum krim anti-acne fraksi etil asetat ekstrak dau teh hijau (Camelia sinensis)*. Prosiding seminar nasional peluang herbal sebagai alternatif medicine. Semarang. Hal. 2-8.
- Wijaya kusuma, H. M., S. Dalimartha., A. S. Wirian. 1996. *Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia. Jilid I*. Pustaka Kartini. Jakarta.
- Wijayanto A, Kurniawan W, Sobri I. 2012. *Formulasi dan Efektivitas Gel Antiseptik Tangan Minyak Atsiri Lengkuas*. JURNAL ILMU KEFARMASIAN INDONESIA, hal 103.
- Wiyono B, Hartoyo dan Poedji Hastoeti.2000. *Sifat-sifat dasar minyak atsiri dan kemungkinan penerapan baku mutunya*. Buletin Penelitian Hasil Hutan (2). Pusat Penelitian Hasil Hutan. Bogor: hal 130-135.
- Wonohadi, E & Sutarjadi. 2000. *Studi komponen dan komponen aktif minyak atsiri rimpang bangle (Zingiber purpureum Roxb.)*. Prosiding Seminar Nasional XVI Tumbuhan Obat Indonesia. Badan Penerbit Univ. Diponegoro Semarang 113-115.
- Yosephine, Wulanjati, Saifullah, dan Astuti. Mouthwash formulation of basil oil (*Ocimum basilicum* L.) and in vitro antibacterial and antibiofilm activities against *Streptococcus mutans*. Trad.Med.J. 2013; 18(2): 95-102.

L

A

M

P

I

R

A

N

Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman



UPT- LABORATORIUM

No : 191/DET/UPT-LAB/19/VIII/2017
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :

Nama : Feronika Rochyani
NIM : 20144091 A
Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : **Bengle (*Zingiber cassumunar* Roxb.,)**

Determinasi berdasarkan **Backer : Flora of Java**

1b – 2b – 3b – 4b – 12b – 13b – 14b – 17b – 18b – 19b – 20b – 21b – 22b – 23b – 24b – 25b
– 26b – 27a – 28b – 29b – 30b – 31a – 32a – 33a – 34a – 35a – 36d – 37b – 38b – 39b – 41b
– 42b – 44b – 45b – 46e – 50b – 51b – 53b – 54b – 56b – 57b – 58b – 59d – 72b – 73b – 74a
– 75b – 76b – 333b – 334b – 335a – 336a – 337b – 338a – 339b – 340a. familia 207.
Zingiberaceae. 1a – 2b – 6a.1. Zingiber. 1a – 2a – 3a – 4b. *Zingiber cassumunar* Roxb., sin :
Zingiber purpureum Roxb.

Deskripsi :

Habitus : Herba, tegak, ~~terrestrial~~.
Akar : ~~Rimpang menjalar~~, berdaging, permukaan luar tidak rata, berkerut, beraroma spesifik, coklat muda kekuningan.
Batang : Berbatang semu, hijau.
Daun : ~~Tunggal, lonjong~~, tulang daun menyirip, pangkal tumpul, ujung runcing sampai meruncing, tepi rata, panjang 23 – 35 cm, lebar 20 – 37 mm, tangkai daun pendek.
Bunga : ~~Majemuk~~, di ujung, tandan, panjang 6 – 9 (- 16) cm, lebar (3 -) 4 – 5 cm; daun kelopak membentuk tabung, ujung berigi tiga, tersusun seperti sisik tebal, mahkota kuning pucat, labelum putih atau pucat, tidak terdapat staminodium.
Pustaka : Backer C.A. & Brink R.C.B. (1965): *Flora of Java* (Spermatophytes only). N.V.P. Noordhoff – Groningen – The Netherlands.

Surakarta, 19 Agustus 2017
Tim determinasi

Dr. Kartinah Wirjosoendjojo, SU.

Lampiran 2. Surat Keterangan Hewan Uji

"ABIMANYU FARM"

√ Mencit putih jantan √ Tikus Wistar √ Swis Webster √ Cacing
 √ Mencit Balb/C √ Kelinci New Zealand

Ngampon RT 04 / RW 04. Mojosongo Kec. Jebres Surakarta. Phone 085 629 994 33 / Lab USB Ska

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Sigit Pramono

Selaku pengelola Abimanyu Farm, menerangkan bahwa hewan uji yang digunakan untuk penelitian, oleh:

Nama : Feronika Rochyani

Nim : 20144091 A

Institusi : Universitas Setia Budi Surakarta

Merupakan hewan uji dengan spesifikasi sebagai berikut:

Jenis hewan : Kelinci New Zealand

Umur : 2-3 bulan

Jumlah : 5 ekor

Jenis kelamin : Jantan

Keterangan : Sehat

Asal-usul : Unit Pengembangan Hewan Boyolali

Yang pengembangan dan pengelolaannya disesuaikan standar baku penelitian. Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Surakarta, 16 Oktober 2017

Hormat kami



Sigit Pramono

"ABIMANYU FARM"

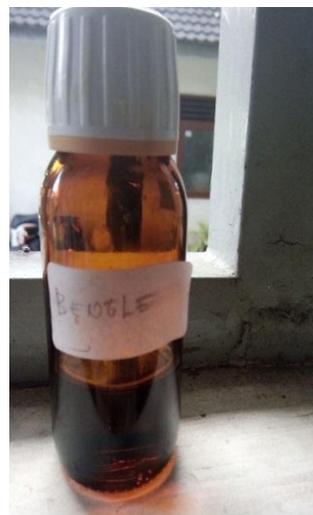
Lampiran 3. Rimpang bangle dan destilasi



Rimpang Bangle



Rangkaian alat destilasi uap dan air



Minyak atsiri rimpang bangle

Lampiran 4. Gambar alat uji gel**Alat uji daya sebar****Alat uji pH meter****Alat uji viskositas
Refraktometer**

Lampiran 5. Alat sterilisasi dan bahan



Autoklaf



Oven



Inkubator



Inkas



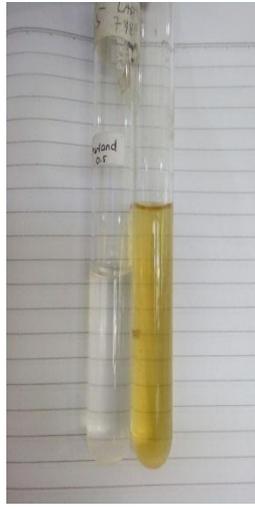
Mikroskop



Vortex mixer



Neraca analitik



Suspensi bakteri



Biakan murni



Bahan pembuatan *spray gel*



Kontrol (+)



Xylool



Pewarnaan Gram

Lampiran 6. Sediaan *Spray Gel* antibakteri

Sediaan *spray gel* rimpang bangle

Lampiran 7. Identifikasi minyak atsiri dan kelarutan dalam alkohol

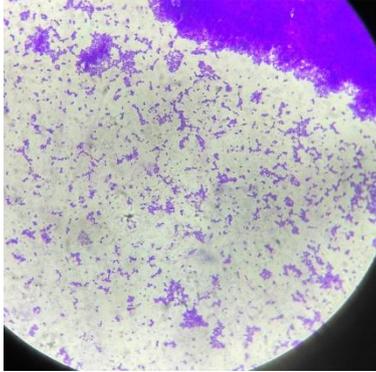
Identifikasi minyak bangle



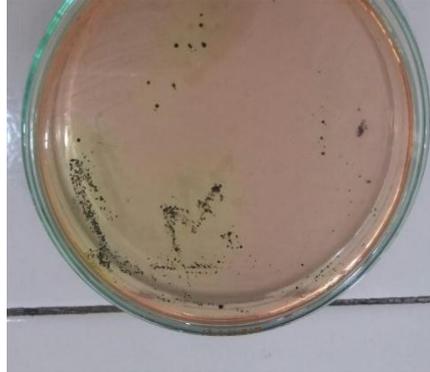
Kelarutan dalam alkohol

Lampiran 8. Identifikasi minyak atsiri indeks bias

Indeks bias rimpang bangle

Lampiran 4. Hasil identifikais bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

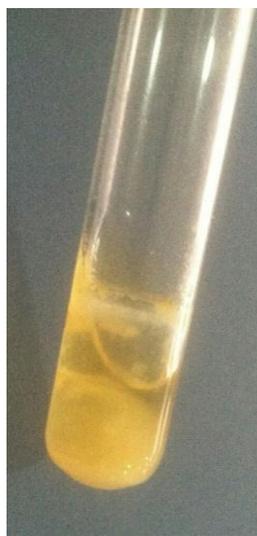
Uji pewarnaan Gram



Uji makroskopik koloni

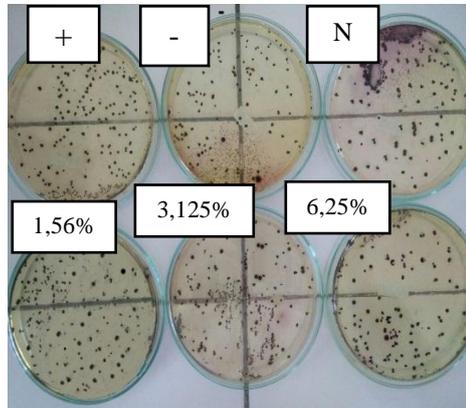
Lampiran 10. Hasil identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara bikomia

Uji katalase

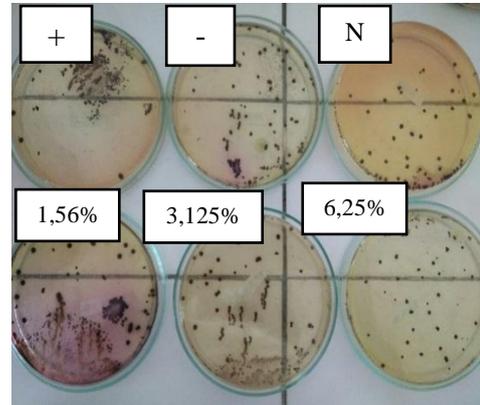


Uji koagulase

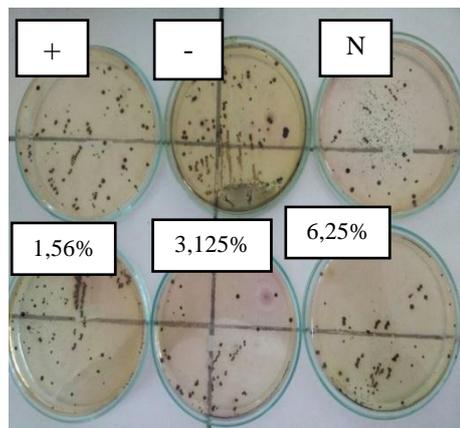
Lampiran 5. Hasil identifikasi koloni *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diinfeksi pada kulit punggung kelinci



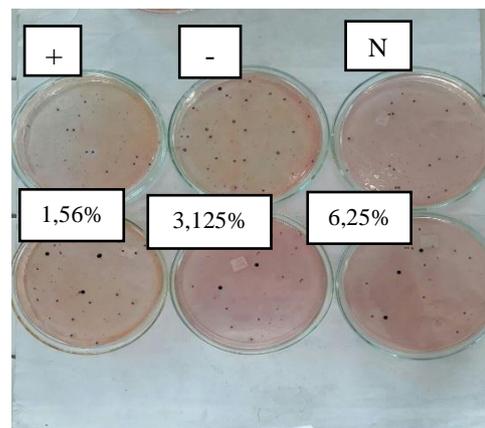
Hari ke-1



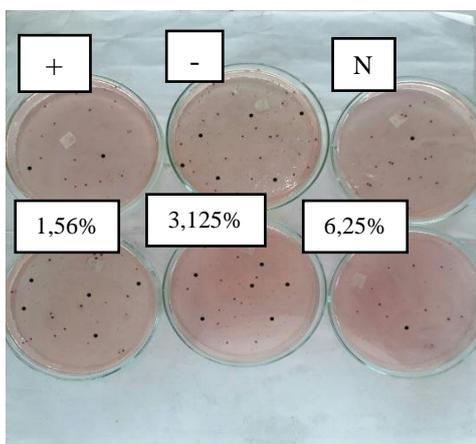
Hari ke-3



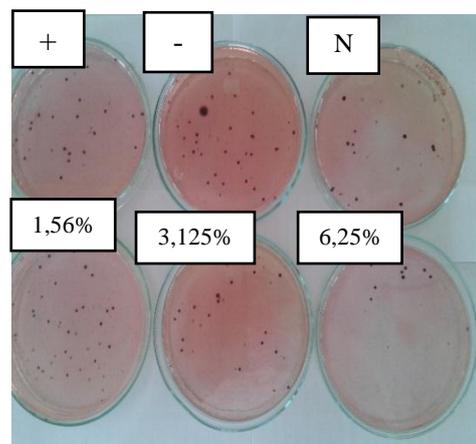
Hari ke-5



Hari ke-7

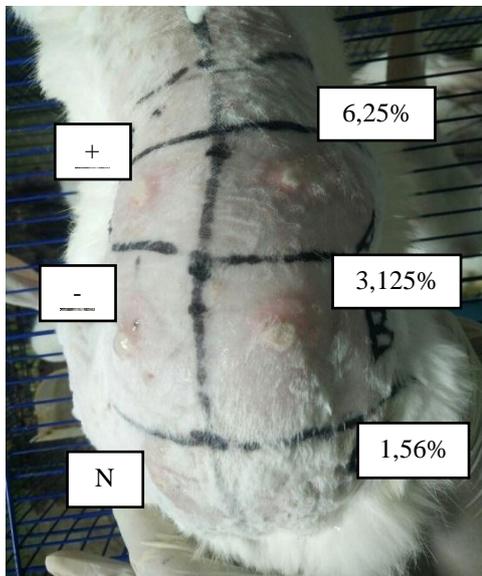


Hari ke-9

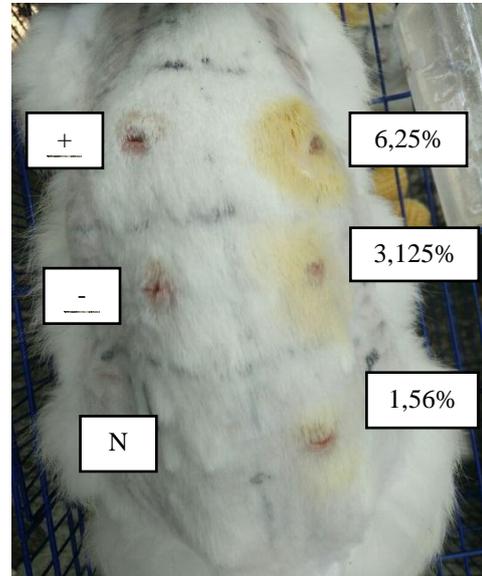


Hari ke-13

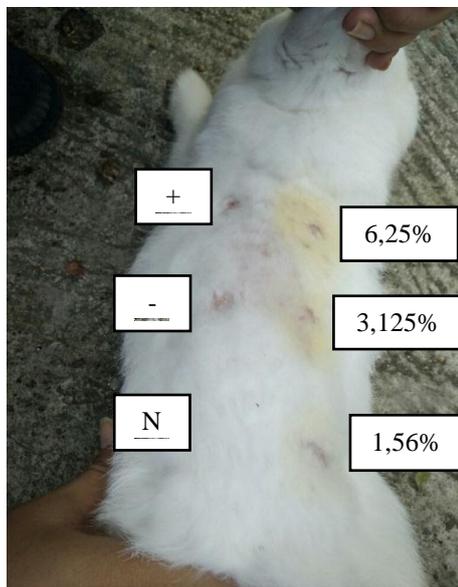
Lampiran 6. Hasil pengujian efek antibakteri minyak atsiri rimpang bangle terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara *in vivo*



Hasil pengamatan hari ke-1



Hasil pengamatan hari ke-7



Hasil pengamatan hari ke-13



Hasil pengamatan hari ke-15

Lampiran 7. Hasil perhitungan kadar minyak atsiri rimpang bangle

Bobot basah (gram)	Volume minyak atsiri (ml)	Rendemen (% v/b)
5000	10	0,2 %

Perhitungan % Rendemen :

$$\% \text{ Rendemen rimpang bangle} = \frac{\text{volume minyak}}{\text{bobot sampel}} \times 100 \%$$

$$\frac{10 \text{ ml}}{5000 \text{ gram}} \times 100 \% = 0,2 \%$$

Jadi, kadar minyak atsiri rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) adalah 0,2%

Lampiran 8. Hasil perhitungan indeks bias minyak atsiri rimpang bangle

Sampel	Indeks bias praktek	Indeks bias pustaka
Rimpang bangle	1,495	Indeks bias (27 ⁰ C) 1,483 (Angraini 2015)

Jadi, Indeks bias menurut hasil penelitian sama dengan indeks bias menurut pustaka.

Lampiran 9. Perhitungan bobot jenis minyak atsiri rimpang bangle

Bobot botol kosong (g)	Bobot botol + air (g)	Bobot botol + minyak (g)	Bobot minyak (g)
28,87	29,89	29,86	0,99
28,87	29,88	29,84	0,97
28,87	29,86	29,85	0,98
		Rata-rata	0,98

Perhitungan bobot jenis**1. Bobot jenis rimpang bangle**

$$\begin{aligned} \text{Bobot botol + air} &= 29,89 \text{ gram} \\ \text{Bobot botol kosong} &= \underline{28,87 \text{ gram}} - \\ \text{Bobot air} &= 1,02 \text{ gram} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{berat minyak}}{\text{bobot air}} \\
 &= \frac{0,99 \text{ gram}}{1,02 \text{ gram}} = 0,9705 \\
 \text{Bobot botol + air} &= 29,88 \text{ gram} \\
 \text{Bobot botol kosong} &= \underline{28,87 \text{ gram}} - \\
 \text{Bobot air} &= 1,01 \text{ gram}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{berat minyak}}{\text{bobot air}} \\
 &= \frac{0,97 \text{ gram}}{1,01 \text{ gram}} = 0,9603 \\
 \text{Bobot botol + air} &= 29,86 \text{ gram} \\
 \text{Bobot botol kosong} &= \underline{28,87 \text{ gram}} - \\
 \text{Bobot air} &= 0,99 \text{ gram}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{berat minyak}}{\text{bobot air}} \\
 &= \frac{0,98 \text{ gram}}{0,99 \text{ gram}} = 0,9898
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Rata-rata bobot jenis minyak atsiri rimpang bangle} &= \\
 &= \frac{0,9705 + 0,9603 + 0,9898}{3} \\
 &= 0,9735
 \end{aligned}$$

Lampiran 10. Hasil uji pH *spray gel*

Hasil uji pH

Waktu pengujian	pH								
	FI			FII			FIII		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Hari 0	6,42	6,4	6,42	6,2	6,22	6,27	5,57	5,6	5,56
Hari 1	6,4	6,42	6,42	6,25	6,22	6,23	5,57	5,61	5,57
Hari 21	6,24	6,21	6,24	6,2	6,1	6,0	6,01	6,0	6,03

Hasil rata-rata uji pH

Waktu pemeriksaan	Formula I	Formula II	Formula III
Hari 0	6,41 ± 0,01	6,23 ± 0,02	5,57 ± 0,02
Hari 1	6,41 ± 0,01	6,23 ± 0,02	5,58 ± 0,02
Hari 21	6,23 ± 0,02	6,1 ± 0,1	6,01 ± 0,02

Lampiran 11. Analisis uji pH *spray gel*

Uji statistik Kolmogorov-Smirnov, analisis two way anova pH *spray gel* minyak atsiri rimpang bangle

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
pH	27	6.0878	.30438	5.56	6.42

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		pH
N		27
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	6.0878
	Std. Deviation	.30438
Most Extreme Differences	Absolute	.236
	Positive	.164
	Negative	-.236
Kolmogorov-Smirnov Z		1.228
Asymp. Sig. (2-tailed)		.098

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Uji kolmogrov uji pH signifikansinya (Aaymp.sig) menunjukkan angka $0,098 > 0,05$ sehingga data tersebut terdistribusi normal.

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
Formulasi	1	Formula 1,56%	9
	2	Formula 3,125%	9
	3	Formula 6,25%	9
Waktu	1	Hari 0	9
	2	Hari 1	9
	3	Hari 21	9

Descriptive Statistics

Dependent Variable:pH

Formulasi	Waktu	Mean	Std. Deviation	N
Formula 1,56%	Hari 0	6.4133	.01155	3
	Hari 1	6.4133	.01155	3
	Hari 21	6.2300	.01732	3
	Total	6.3522	.09244	9
Formula 3,125%	Hari 0	6.2300	.03606	3
	Hari 1	6.2300	.01732	3
	Hari 21	6.1000	.10000	3
	Total	6.1867	.08441	9
Formula 6,25%	Hari 0	5.5767	.02082	3
	Hari 1	5.5833	.02309	3
	Hari 21	6.0133	.01528	3
	Total	5.7244	.21738	9
Total	Hari 0	6.0733	.38148	9
	Hari 1	6.0756	.37793	9
	Hari 21	6.1144	.10748	9
	Total	6.0878	.30438	27

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable:pH

F	df1	df2	Sig.
2.338	8	18	.064

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + formula + waktu + formula * waktu

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:pH

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	2.382 ^a	8	.298	200.491	.000	.989
Intercept	1000.648	1	1000.648	673753.040	.000	1.000
formula	1.905	2	.953	641.499	.000	.986
waktu	.010	2	.005	3.239	.063	.265
formula * waktu	.467	4	.117	78.613	.000	.946
Error	.027	18	.001			
Total	1003.057	27				
Corrected Total	2.409	26				

a. R Squared = .989 (Adjusted R Squared = .984)

Uji ANOVA uji pH signifikansinya (Sig.) menunjukkan angka $0,000 < 0,05$ berarti perbedaan formula menunjukkan adanya perbedaan pada pH sediaan yang dibuat.

Estimated Marginal Means

1. Formulasi

Dependent Variable:pH

Formulasi	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
Formula 1,56%	6.352	.013	6.325	6.379
Formula 3,125%	6.187	.013	6.160	6.214
Formula 6,25%	5.724	.013	5.697	5.751

Post Hoc Tests Homogeneous Subsets

H

Tukey HSD^{a,b}

Formulasi	N	Subset		
		1	2	3
Formula 6,25%	9	5.7244		
Formula 3,125%	9		6.1867	
Formula 1,56%	9			6.3522
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .001.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9.000.

b. Alpha = .05.

Uji ANOVA uji homogenitas subsets formula menunjukkan 3 subsets yang berarti adanya perbedaan formula menunjukkan adanya perbedaan pada pH sediaan yang dibuat.

Lampiran 12. Hasil uji viskositas *spray gel*

Hasil uji viskositas

Waktu pengujian	Viskositas								
	FI			FII			FIII		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Hari 0	18,5	19	19	23,5	23	24	29	30	29,5
Hari 1	18	18,5	18	23,5	23,5	23	28,5	29	30,5
Hari 21	19,5	18	19	24	24,5	25,5	30,5	29,5	29,5

Hasil rata-rata uji viskositas

Waktu pemeriksaan	Viskositas (d Pas)		
	Formula I	Formula II	Formula III
Hari ke 0	18,83 ± 0,29	20,8 ± 3,31	29,5 ± 0,5
Hari ke 1	18,17 ± 0,29	23,33 ± 0,29	29,33 ± 0,79
Hari ke 21	16,5 ± 0,5	24,67 ± 0,76	26,83 ± 0,58

Lampiran 13. Analisis uji viskositas *spray gel*

Uji statistik Kolmogorov-Smirnov, analisis two way anova viskositas *spray gel* minyak atsiri rimpang bangle

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Viskositas	27	23.9259	4.59243	18.00	30.50

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Viskositas
N		27
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	23.9259
	Std. Deviation	4.59243
Most Extreme Differences	Absolute	.174
	Positive	.166
	Negative	-.174
Kolmogorov-Smirnov Z		.903
Asymp. Sig. (2-tailed)		.389

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Uji kolmogrov uji viskositas signifikansinya (Aaymp.sig) menunjukkan angka $0,389 > 0,05$ sehingga data tersebut terdistribusi normal.

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
Formulasi spray gel	1	Formula 1,56%	9
	2	Formula 3,125%	9
	3	Formula 6,25%	9
Waktu pengujian	1	Hari ke 0	9
	2	Hari ke 1	9
	3	Hari ke 21	9

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Viskositas

Formulasi spray gel	Waktu pengujian	Mean	Std. Deviation	N
Formula 1,56%	Hari ke 0	18.8333	.28868	3
	Hari ke 1	18.1667	.28868	3
	Hari ke 21	18.8333	.76376	3
	Total	18.6111	.54645	9
Formula 3,125%	Hari ke 0	23.5000	.50000	3
	Hari ke 1	23.3333	.28868	3
	Hari ke 21	24.0000	.50000	3
	Total	23.6111	.48591	9
Formula 6,25%	Hari ke 0	29.5000	.50000	3
	Hari ke 1	29.3333	1.04083	3
	Hari ke 21	29.8333	.57735	3
	Total	29.5556	.68211	9
Total	Hari ke 0	23.9444	4.64653	9
	Hari ke 1	23.6111	4.87197	9
	Hari ke 21	24.2222	4.79656	9
	Total	23.9259	4.59243	27

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable: Viskositas

F	df1	df2	Sig.
1.515	8	18	.220

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Formulasi + Waktu + Formulasi * Waktu

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Viskositas

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	542.352 ^a	8	67.794	203.382	.000	.989
Intercept	15456.148	1	15456.148	46368.444	.000	1.000
Formulasi	540.352	2	270.176	810.528	.000	.989
Waktu	1.685	2	.843	2.528	.108	.219
Formulasi * Waktu	.315	4	.079	.236	.914	.050
Error	6.000	18	.333			
Total	16004.500	27				
Corrected Total	548.352	26				

a. R Squared = .989 (Adjusted R Squared = .984)

Estimated Marginal Means

Grand Mean

Dependent Variable: Viskositas

Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound
23.926	.111	23.692	24.159

Post Hoc Tests Homogeneous Subsets

Viskositas

Tukey HSD^{a,b}

Formulasi spray gel	N	Subset		
		1	2	3
Formula 1,56%	9	18.6111		
Formula 3,125%	9		23.6111	
Formula 6,25%	9			29.5556
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .333.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9.000.

b. Alpha = .05.

Lampiran 20. Hasil uji stabilitas pH *spray gel*

Hasil uji stabilitas pH

Waktu pengujian	pH								
	FI			FII			FIII		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Hari 0	6.42	6,4	6,42	6.2	6,22	6,27	5,57	5,6	5,56
Hari 20	6.3	6.27	6.3	6,24	6,15	6,05	6,05	6,15	6,1

Hasil rata-rata uji stabilitas pH sebelum dan setelah uji kestabilan dengan metode *freeze thaw* *spray gel* minyak atsiri rimpang bangle.

Waktu pemeriksaan	Formula I	Formula II	Formula III
Hari 0	6,41 ± 0,01	6,23 ± 0,04	5,57 ± 0,02
Hari 20	6,29 ± 0,02	6,15 ± 0,09	6,1 ± 0,05

Lampiran 14. Analisis uji stabilitas pH *spray gel*

Uji statistik Kolmogorov-Smirnov, analisis two way anova stabilitas ph *spray gel* minyak atsiri rimpang bangle

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
pH	18	6.1261	.27620	5.56	6.42

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		pH
N		18
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	6.1261
	Std. Deviation	.27620
Most Extreme Differences	Absolute	.225
	Positive	.144
	Negative	-.225
Kolmogorov-Smirnov Z		.954
Asymp. Sig. (2-tailed)		.323

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Uji kolmogrov uji viskositas signifikansinya (Aaymp.sig) menunjukkan angka $0,323 > 0,05$ sehingga data tersebut terdistribusi normal.

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
Formula	1	Formula 1,56%	6
	2	Formula 3,125%	6
	3	Formula 6,25%	6
Waktu	1	Hari ke 0	9
	2	Hari ke 20	9

Descriptive Statistics

Dependent Variable:pH

Formula	Waktu	Mean	Std. Deviation	N
Formula 1,56%	Hari ke 0	6.4133	.01155	3
	Hari ke 20	6.2900	.01732	3
	Total	6.3517	.06882	6
Formula 3,125%	Hari ke 0	6.2300	.03606	3
	Hari ke 20	6.1467	.09504	3
	Total	6.1883	.07885	6
Formula 6,25%	Hari ke 0	5.5767	.02082	3
	Hari ke 20	6.1000	.05000	3
	Total	5.8383	.28868	6
Total	Hari ke 0	6.0733	.38148	9
	Hari ke 20	6.1789	.10154	9
	Total	6.1261	.27620	18

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:pH

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	1.269 ^a	5	.254	111.191	.000	.979
Intercept	675.526	1	675.526	295850.922	.000	1.000
Formula	.825	2	.413	180.740	.000	.968
Waktu	.050	1	.050	21.959	.001	.647
Formula * Waktu	.394	2	.197	86.258	.000	.935
Error	.027	12	.002			
Total	676.823	18				
Corrected Total	1.297	17				

a. R Squared = .979 (Adjusted R Squared = .970)

Estimated Marginal Means

1. Formula

Dependent Variable:pH

Formula	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
Formula 1,56%	6.352	.020	6.309	6.394
Formula 3,125%	6.188	.020	6.146	6.231
Formula 6,25%	5.838	.020	5.796	5.881

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

pH

Tukey HSD^{a,b}

Formula	N	Subset		
		1	2	3
Formula 6,25%	6	5.8383		
Formula 3,125%	6		6.1883	
Formula 1,56%	6			6.3517
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .002.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

b. Alpha = .05.

Lampiran 15. Hasil uji stabilitas viskositas *spray gel*

Hasil uji stabilitas viskositas

Waktu pengujian	Viskositas								
	FI			FII			FIII		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Hari 0	29,5	29	29,5	25	25	25,5	19	19	19,5
Hari 20	26,5	27	26,5	22,5	22	22,5	16	16,5	16,7

Hasil rata-rata uji stabilitas viskositas *spray gel* minyak atsiri rimpang bangle sebelum dan setelah uji kestabilan dengan metode *freeze thaw*.

Waktu pemeriksaan	Viskositas (d Pas)		
	Formula I	Formula II	Formula III
Hari ke 0	29,33 ± 0,29	25,17 ± 3,31	19,17 ± 0,29
Hari ke 20	26,67 ± 0,29	22,33 ± 0,29	16,4 ± 0,36

Lampiran 16. Analisis uji stabilitas viskositas *spray gel*

Uji statistik Kolmogorov-Smirnov, analisis two way anova stabilitas viskositas *spray gel* minyak atsiri rimpang bangle

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Viskositas	18	23.1778	4.54630	16.00	29.50

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Viskositas
N		18
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	23.1778
	Std. Deviation	4.54630
Most Extreme Differences	Absolute	.156
	Positive	.124
	Negative	-.156
Kolmogorov-Smirnov Z		.661
Asymp. Sig. (2-tailed)		.775

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Uji kolmogrov uji viskositas signifikansinya (Aaymp.sig) menunjukkan angka $0,775 > 0,05$ sehingga data tersebut terdistribusi normal.

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
Formulasi spray gel	1	Formula 1,56%	6
	2	Formula 3,125%	6
	3	Formula 6,25%	6
Waktu pengujian	1	Hari ke 0	9
	2	Hari ke 20	9

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Viskositas

Formulasi spray gel	Waktu pengujian	Mean	Std. Deviation	N
Formula 1,56%	Hari ke 0	29.3333	.28868	3
	Hari ke 20	26.6667	.28868	3
	Total	28.0000	1.48324	6
Formula 3,125%	Hari ke 0	25.1667	.28868	3
	Hari ke 20	22.3333	.28868	3
	Total	23.7500	1.57321	6
Formula 6,25%	Hari ke 0	19.1667	.28868	3
	Hari ke 20	16.4000	.36056	3
	Total	17.7833	1.54326	6
Total	Hari ke 0	24.5556	4.43315	9
	Hari ke 20	21.8000	4.47186	9
	Total	23.1778	4.54630	18

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable: Viskositas

F	df1	df2	Sig.
.085	5	12	.993

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Formulasi + Waktu + Formulasi * Waktu

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Viskositas

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	350.278 ^a	5	70.056	768.902	.000	.997
Intercept	9669.769	1	9669.769	106131.610	.000	1.000
Formulasi	316.088	2	158.044	1734.628	.000	.997
Waktu	34.169	1	34.169	375.024	.000	.969
Formulasi * Waktu	.021	2	.011	.116	.892	.019
Error	1.093	12	.091			
Total	10021.140	18				
Corrected Total	351.371	17				

a. R Squared = .997 (Adjusted R Squared = .996)

Estimated Marginal Means

1. Formulasi spray gel

Dependent Variable: Viskositas

Formulasi spray gel	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
Formula 1,56%	28.000	.123	27.732	28.268
Formula 3,125%	23.750	.123	23.482	24.018
Formula 6,25%	17.783	.123	17.515	18.052

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Viskositas

Tukey HSD^{a,b}

Formulasi spray gel	N	Subset		
		1	2	3
Formula 6,25%	6	17.7833		
Formula 3,125%	6		23.7500	
Formula 1,56%	6			28.0000
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .091.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

b. Alpha = .05.

Lampiran 17. Hasil daya sebar *spray gel*

Hasil pengukuran daya sebar

Waktu pengujian	Beban	Diameter penyebaran (cm)								
		FI			FII			FIII		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3
Hari 0	63,023	3	3,1	3,1	3,1	3,1	3,2	3,3	3,4	3,5
	113,023	3,2	3,3	3,5	3,6	3,4	3,5	3,9	4,0	3,8
	163,023	3,9	3,7	3,8	3,8	4,1	4,3	4,2	4,5	4,3
	213,023	4,2	3,9	4,0	4,3	4,0	4,2	4,6	4,7	4,7
	263,023	4,3	4,4	4,6	5,2	4,8	4,7	5,0	5,2	5,1
Hari 1	63,023	3,0	3,1	3,0	3,3	3,1	3,2	3,4	3,3	3,5
	113,023	3,3	3,4	3,4	3,5	3,7	3,6	4,0	4,0	3,8
	163,023	3,8	3,9	4,0	4,0	3,8	4,3	4,5	4,1	4,2
	213,023	4,1	4,0	4,1	4,3	4,6	4,4	4,7	4,5	4,8
	263,023	4,3	4,4	4,6	5,3	4,7	4,7	5,0	5,1	5,4
Hari 21	63,023	3,2	3,0	3,1	3,2	3,3	3,3	3,5	3,3	3,6
	113,023	3,6	3,1	3,5	3,6	3,9	3,8	4,0	3,9	4,0
	163,023	4,1	3,6	3,7	4,1	4,2	4,1	4,2	4,7	4,4
	213,023	4,3	4,0	4,2	4,3	4,4	4,2	4,8	4,9	4,9
	263,023	4,7	4,6	4,4	4,9	4,8	5,0	5,5	5,4	5,1

Hasil rata-rata pengukuran daya sebar

Formula	Beban (g)	Luas penyebaran (cm ² ± SD)		
		Hari ke 0	Hari ke 1	Hari ke 21
Formula I	63,023	3,07 ± 0,06	3,03 ± 0,06	3,1 ± 0,1
	113,023	3,33 ± 0,15	3,37 ± 0,06	3,4 ± 0,26
	163,023	3,8 ± 0,1	3,9 ± 0,1	3,8 ± 0,26
	213,023	4,03 ± 0,15	4,07 ± 0,06	4,17 ± 0,15
	263,023	4,43 ± 0,15	4,43 ± 0,15	4,57 ± 0,15
Formula II	63,023	3,13 ± 0,06	3,2 ± 0,1	3,27 ± 0,06
	113,023	3,5 ± 0,1	3,6 ± 0,1	3,77 ± 0,15
	163,023	4,07 ± 0,25	4,03 ± 0,25	4,13 ± 0,06
	213,023	4,17 ± 0,15	4,43 ± 0,15	4,3 ± 0,1
	263,023	4,9 ± 0,26	4,9 ± 0,35	4,9 ± 0,1
Formula III	63,023	3,4 ± 0,1	3,9 ± 0,12	3,47 ± 0,15
	113,023	3,9 ± 0,1	4,27 ± 0,21	3,97 ± 0,06
	163,023	4,33 ± 0,15	4,67 ± 0,11	4,43 ± 0,25
	213,023	4,67 ± 0,06	4,67 ± 0,15	4,87 ± 0,06
	263,023	5,1 ± 0,1	5,17 ± 0,21	5,33 ± 0,21

Lampiran 18. Analisis daya sebar *spray gel*

Uji statistik Kolmogorov-Smirnov, analisis two way anova daya sebar *spray gel* minyak atsiri rimpang bangle

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
DAYA SEBAR	135	4.041	.6330	3.0	5.5

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		DAYA SEBAR
N		135
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	4.041
	Std. Deviation	.6330
Most Extreme Differences	Absolute	.078
	Positive	.078
	Negative	-.051
Kolmogorov-Smirnov Z		.902
Asymp. Sig. (2-tailed)		.390

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Uji kolmogorov uji daya sebar signifikansinya (Aaymp.sig) menunjukkan angka $0,390 > 0,05$ sehingga data tersebut terdistribusi normal.

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
Formulasi	1	Minyak atsiri 1,56% Hari ke-0	15
	2	Minyak atsiri 1,56% Hari ke-1	15
	3	Minyak atsiri1,56% Hari ke-21	15
	4	Minyak atsiri 3,125% Hari ke-0	15
	5	Minyak atsiri 3,125% Harike-1	15
	6	Minyak atsiri 3,125% Hari ke-21	15
	7	Minyak atsiri 6,25% Hari ke-0	15
	8	Minyak atsiri 6,25% Harike-1	15
	9	Minyak atsiri 6,25% Hari ke-21	15
Beban	1	Tanpa beban	27
	2	50 Kg	27
	3	100 Kg	27
	4	150 Kg	27
	5	200 Kg	27

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable:DAYA SEBAR

F	df1	df2	Sig.
1.888	44	90	.006

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Formulasi + Beban +
Formulasi * Beban

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:DAYA SEBAR

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	51.453 ^a	44	1.169	47.124	.000	.958
Intercept	2204.224	1	2204.224	88826.940	.000	.999
Formulasi	7.435	8	.929	37.454	.000	.769
Beban	43.313	4	10.828	436.366	.000	.951
Formulasi * Beban	.704	32	.022	.887	.641	.240
Error	2.233	90	.025			
Total	2257.910	135				
Corrected Total	53.686	134				

a. R Squared = .958 (Adjusted R Squared = .938)

Estimated Marginal Means**Grand Mean**

Dependent Variable:DAYA SEBAR

Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound
4.041	.014	4.014	4.068

Post Hoc Tests Formulasi Homogeneous Subsets

DAYA SEBAR

Tukey HSD^{a,b}

Formulasi	N	Subset		
		1	2	3
Minyak atsiri 1,56% Hari ke-0	15	3.733		
Minyak atsiri 1,56% Hari ke-1	15	3.747		
Minyak atsiri 1,56% Hari ke-21	15	3.807		
Minyak atsiri 3,125% Hari ke-0	15		3.993	
Minyak atsiri 3,125% Hari ke-1	15		4.033	
Minyak atsiri 3,125% Hari ke-21	15		4.073	
Minyak atsiri 6,25% Hari ke-0	15			4.280
Minyak atsiri 6,25% Hari ke-1	15			4.287
Minyak atsiri 6,25% Hari ke-21	15			4.413
Sig.		.936	.898	.343

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .025.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15.000.

b. Alpha = .05.

Homogeneous Subsets

DAYA SEBAR

Tukey HSD^{a,b}

Beban	N	Subset				
		1	2	3	4	5
Tanpa beban	27	3.230				
50 Kg	27		3.641			
100 Kg	27			4.085		
150 Kg	27				4.396	
200 Kg	27					4.852
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .025.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 27.000.

b. Alpha = .05.

Lampiran 19. Hasil perhitungan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus*

Hasil perhitungan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus*

Kelinci	Hari	Normal	Positif	Negatif	1,56%	3,125%	6,25%
I	1	38	157	170	166	162	153
	3	30	119	151	141	128	112
	5	29	88	139	123	101	81
	7	35	74	130	109	83	67
	9	37	58	121	94	68	52
	11	38	46	111	84	54	45
	13	40	43	98	75	48	46
II	1	40	150	163	160	174	148
	3	33	113	145	136	141	108
	5	36	86	137	122	118	78
	7	34	67	115	100	89	65
	9	38	53	99	84	65	52
	11	40	47	86	109	50	43
	13	40	44	71	52	50	43
III	1	32	111	157	146	137	132
	3	28	81	142	125	107	95
	5	25	51	128	105	78	81
	7	36	70	119	99	78	75
	9	38	90	110	84	63	57
	11	38	82	90	63	52	46
	13	40	43	75	63	47	45
IV	1	28	136	160	148	136	151
	3	25	103	146	128	107	115
	5	30	78	140	113	92	88
	7	34	65	127	131	79	67
	9	36	47	110	89	70	58
	11	40	48	102	75	66	50
	13	38	43	83	56	51	45
V	1	36	142	167	165	152	148
	3	36	112	156	148	126	115
	5	38	84	147	130	102	84
	7	38	64	132	105	85	35
	9	39	47	116	73	75	57
	11	40	45	97	63	50	47
	13	40	45	72	56	46	42

Lampiran 20. Analisis perhitungan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus*

Uji statistik Kolmogorov-Smirnov, analisis two way anova aktivitas antibakteri *Spray Gel* minyak atsiri rimpang bangle

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Formula	175	3.00	1.418	1	5
Hasil	175	59.41	39.895	2	134
Waktu	175	4.00	2.006	1	7

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Jumlah Koloni Bakteri
N		175
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	59.41
	Std. Deviation	39.895
Most Extreme Differences	Absolute	.095
	Positive	.095
	Negative	-.080
Kolmogorov-Smirnov Z		1.262
Asymp. Sig. (2-tailed)		.083

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Uji kolmogrov uji pH signifikansinya (Aaymp.sig) menunjukkan angka $0,083 > 0,05$ sehingga data tersebut terdistribusi normal.

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
Formulasi Spray Gel	1	NEGATIF	35
	2	1,56%	35
	3	3,125%	35
	4	6,25%	35
	5	POSITIF	35
Waktu	1	H 1	25
	2	H 3	25
	3	H 5	25
	4	H 7	25
	5	H 9	25
	6	H 11	25
	7	H 13	25

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Jumlah Koloni Bakteri

Formulasi Spray Gel	Waktu	Mean	Std. Deviation	N
NEGATIF	H 1	128.60	4.278	5
	H 3	117.60	4.278	5
	H 5	106.60	4.278	5
	H 7	89.20	6.648	5
	H 9	73.40	8.385	5
	H 11	58.00	10.271	5
	H 13	44.20	12.558	5
	Total	88.23	30.315	35
1,56%	H 1	122.20	6.261	5
	H 3	105.20	6.261	5
	H 5	87.00	5.916	5
	H 7	66.60	4.506	5
	H 9	47.00	8.602	5
	H 11	33.60	8.532	5
	H 13	20.80	8.871	5
	Total	68.91	36.011	35
3,125%	H 1	117.40	11.866	5
	H 3	91.40	11.866	5
	H 5	66.60	10.945	5
	H 7	47.40	4.827	5
	H 9	30.60	4.615	5
	H 11	13.20	3.033	5
	H 13	8.80	2.775	5
	Total	53.63	38.816	35
6,25%	H 1	111.60	8.503	5
	H 3	78.60	8.503	5
	H 5	50.80	6.723	5
	H 7	34.00	3.162	5
	H 9	17.60	3.209	5
	H 11	7.00	2.550	5
	H 13	4.60	2.074	5
	Total	43.46	37.781	35
POSITIF	H 1	110.80	4.970	5
	H 3	80.80	4.970	5
	H 5	50.80	4.970	5
	H 7	32.60	4.722	5
	H 9	13.80	4.868	5
	H 11	6.80	1.304	5
	H 13	4.00	1.000	5
	Total	42.80	38.304	35

Total	H 1	118.12	9.782	25
	H 3	94.72	16.672	25
	H 5	72.36	23.022	25
	H 7	53.96	22.339	25
	H 9	36.48	22.998	25
	H 11	23.72	20.945	25
	H 13	16.48	16.724	25
	Total	59.41	39.895	175

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable:Jumlah Koloni Bakteri

F	df1	df2	Sig.
2.228	34	140	.001

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Formula + Waktu + Formula

* Waktu

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:Jumlah Koloni Bakteri

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	270546.594 ^a	34	7957.253	174.239	.000	.977
Intercept	617581.806	1	617581.806	13523.125	.000	.990
Formula	51962.823	4	12990.706	284.456	.000	.890
Waktu	213340.274	6	35556.712	778.582	.000	.971
Formula * Waktu	5243.497	24	218.479	4.784	.000	.451
Error	6393.600	140	45.669			
Total	894522.000	175				
Corrected Total	276940.194	174				

a. R Squared = .977 (Adjusted R Squared = .971)

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Jumlah Koloni Bakteri

Formulasi Spray Gel	N	Subset			
		1	2	3	4
Tukey HSD ^{a,b} POSITIF	35	42.80			
6,25%	35	43.46			
3,125%	35		53.63		
1,56%	35			68.91	
NEGATIF	35				88.23
Sig.		.994	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 45.669.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 35.000.

b. Alpha = .05.

Lampiran 21. Hasil pola penyemprotan *spray gel*

Hasil uji pola penyemprotan

Jarak penyemprotan	Formula I			Formula II			Formula III		
3	6,0	6,2	6,0	6,2	6,1	6,0	3,5	3,7	3,2
5	8,5	8,2	8,0	7,5	7,6	7,5	9,0	9,0	9,1
10	11,5	11	11,5	11	10,8	11	13,0	12,5	13,1
15	15,2	15,0	15,1	14,8	14,7	14,8	16,0	16,1	16,3

Hasil rata-rata pola penyemprotan

Jarak Penyemprotan	Rata-rata diameter (cm)		
	Formula I	Formula II	Formula III
3	6,07 ± 0,12	6,1 ± 0,1	3,47 ± 0,25
5	8,23 ± 0,25	7,53 ± 0,06	9,03 ± 0,06
10	11,33 ± 0,29	10,93 ± 0,12	12,87 ± 0,32
15	15,1 ± 0,1	14,77 ± 0,06	16,13 ± 0,15

Lampiran 22. Analisis pola penyemprotan *spray gel*

Uji statistik Kolmogorov-Smirnov, analisis two way anova pola penyemprotan *Spray gel* minyak atsiri rimpang bangle

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
diameter	60	9.878	3.7067	3.2	16.3

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		diameter
N		60
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	9.878
	Std. Deviation	3.7067
Most Extreme Differences	Absolute	.102
	Positive	.089
	Negative	-.102
Kolmogorov-Smirnov Z		.792
Asymp. Sig. (2-tailed)		.557

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Uji kolmogrov uji viskositas signifikansinya (Aaymp.sig) menunjukkan angka $0,557 > 0,05$ sehingga data tersebut terdistribusi normal.

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
Formula	1	NEGATIF	12
	2	MINYAK ATSIRI 1,56%	12
	3	MINYAK ATSIRI 3,125%	12
	4	MINYAK ATSIRI 6,25%	12
	5	POSITIF	12
jarak	1	3 cm	15
	2	5 cm	15
	3	10 cm	15
	4	15 cm	15

Descriptive Statistics

Dependent Variable:diameter

Formula	jarak	Mean	Std. Deviation	N
NEGATIF	3 cm	4.533	.0577	3
	5 cm	7.867	.1155	3
	10 cm	11.100	.1000	3
	15 cm	14.433	.0577	3
	Total	9.483	3.8466	12
MINYAK ATSIRI 1,56%	3 cm	6.067	.1155	3
	5 cm	8.233	.2517	3
	10 cm	11.333	.2887	3
	15 cm	15.100	.1000	3
	Total	10.183	3.5557	12
MINYAK ATSIRI 3,125%	3 cm	6.100	.1000	3
	5 cm	7.533	.0577	3
	10 cm	10.933	.1155	3
	15 cm	14.767	.0577	3
	Total	9.833	3.4953	12
MINYAK ATSIRI 6,25%	3 cm	3.467	.2517	3
	5 cm	8.567	.4041	3
	10 cm	11.600	.3606	3
	15 cm	12.633	.1528	3
	Total	9.067	3.7296	12
POSITIF	3 cm	5.267	.2309	3
	5 cm	9.033	.0577	3
	10 cm	12.867	.3215	3
	15 cm	16.133	.1528	3
	Total	10.825	4.2611	12
Total	3 cm	5.087	1.0398	15
	5 cm	8.247	.5743	15
	10 cm	11.567	.7451	15
	15 cm	14.613	1.1862	15
	Total	9.878	3.7067	60

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable:diameter

F	df1	df2	Sig.
2.684	19	40	.004

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Formula + jarak + Formula * jarak

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:diameter

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	809.035 ^a	19	42.581	1073.466	.000	.998
Intercept	5854.888	1	5854.888	147602.223	.000	1.000
Formula	21.673	4	5.418	136.592	.000	.932
jarak	763.397	3	254.466	6415.097	.000	.998
Formula * jarak	23.966	12	1.997	50.349	.000	.938
Error	1.587	40	.040			
Total	6665.510	60				
Corrected Total	810.622	59				

a. R Squared = .998 (Adjusted R Squared = .997)

Estimated Marginal Means

Grand Mean

Dependent Variable:diameter

Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound
9.878	.026	9.826	9.930

Homogeneous Subsets

Diameter

Tukey HSD^{a,b}

Formula	N	Subset				
		1	2	3	4	5
MINYAK ATSIRI 6,25%	12	9.067				
NEGATIF	12		9.483			
MINYAK ATSIRI 3,125%	12			9.833		
MINYAK ATSIRI 1,56%	12				10.183	
POSITIF	12					10.825
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .040.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12.000.

b. Alpha = .05.

Lampiran 23. Komposisi media

a. Formulasi dan pembuatan *Brain Heart Infusion* (BHI)

Brain infusion	12,5 gram
Heart infusion	5,0 gram
Proteose peptone	10,0 gram
Glucose	2,0 gram
Sodium choride	5,0 gram
di-sodium hydrogen phosphate	2,5 gram

Reagen-reagen diatas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

b. Formulasi dan pembuatan *Vogel Jhonson Agar* (VJA)

Peptone from casein	10,0 gram
Yeast extract	5,0 gram
di-potasium hydrogen phosphate	10,0 gram
D(-)mannitol	10,0 gram
Lithium chloride	5,0 gram
Glycine	10,0 gram
Phenol red	0,025 gram
Agar	13,0 gram

Reagen-reagen diatas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan dalam cawan petri pH 7,4.