

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI GEL *HAND SANITIZER* EKSTRAK
ETANOL DAUN STEVIA (*Stevia rebaudiana* Bertoni) TERHADAP
BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**



Oleh:

**Wisky Amarta
20144246A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI GEL *HAND SANITIZER* EKSTRAK
ETANOL DAUN STEVIA (*Stevia rebaudiana* Bertoni) TERHADAP
BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

SKRIPSI

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

Oleh :

**Wisky Amarta
20144246A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

PENGESAHAN SKRIPSI

berjudul :

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI GEL *HAND SANITIZER* EKSTRAK
ETANOL DAUN STEVIA (*Stevia rebaudiana* Bertoni) TERHADAP
BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

Oleh
Wisky Amarta
20144246A

Dipertahankan di hadapan panitia penguji skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal 16 Juli 2018



Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi
Dekan,

Prof. Dr. A. Dentiari, SU, MM., MSc., Apt

Pembimbing Utama

Dewi Ekowati, S.Si., M.Sc., Apt.

Penguji:

1. Drs. Widodo Priyanto, MM., Apt.
2. DR. Ana Indrayati, M.Si.
3. Anita Nilawati, M.Farm., Apt.
4. Dewi Ekowati, S.Si, M.Sc., Apt.

Pembimbing Pendamping

Dra. Nony Puspawati, M.Si.

1.

2.

3.

4.

PERSEMBAHAN

Pergunakanlah waktu yang ada sebaik mungkin karena hal yang paling cepat adalah waktu dan waktu tidak akan kembali lagi, serta menuntut ilmu bukan hanya di akademik saja tetapi non akademik juga untuk meraih sukses mu

Skripsi ini saya persembahkan kepada :

1. Allah SWT, Tuhan yang Maha Esa.
2. Rasulullah SAW, laa nabiya ba'dahu.
3. Poneran dan Erna Wati, pasangan terhebat didunia yang sudah melahirkan dan mendidik saya dengan baik.
4. Wensi Mensen dan Wengker, dua lelaki yang akan melesat jaya menjadi pemimpin di masa depan.
5. Seluruh keluarga besar yang ada di seluruh Indonesia yang telah mendoakan, mendukung dan memberi semangat.
6. Seorang wanita Miranda Bella Ardhitia yang selalu memberikan semangat dan menemani di kala gelap dan terang.
7. Seluruh sahabat teori 4 dan angkatan 2014 USB serta para sahabat yang ada di seluruh Indonesia yang telah menuliskan berbagai cerita dalam hidup.
8. Keluarga Besar HMJ S1 FARMASI, WAPALA EXESS dan ISMAFARSI JOGLOSEPUR baik Pengurus, Demisioner, dan Alumni yang telah memberikan makna dan hikmah nya dari sebuah perjuangan menuju sukses.
9. Teman – teman seperjuangan di USB alumni SMK Kes BM, Mega, Asalia, Indri, Nurma dan Kurniawan .
10. Dosen pembimbing Dewi Ekowati, S.Si.,M.Sc.,Apt dan Dra. Nony Puspawati, M.Si. yang sangat luar biasa dalam membimbing, serta almamater, bangsa dan negara yang saya banggakan.

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa skripsi ini merupakan karya saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang tidak pernah terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain kecuali yang secara tertulis sebagai acuan dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum, apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya orang lain.

Surakarta, 16 Juli 2018



Wisky Amarta

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirabbil'alamin

Segala puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI GEL *HAND SANITIZER* EKSTRAK ETANOL DAUN STEVIA (*Stevia rebaudiana* Bertoni) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**”. Skripsi ini disusun sebagai sebuah proses pembelajaran dan sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan jenjang pendidikan sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta.

Penulis menyadari bahwa penulis tidak akan mampu menyelesaikan skripsi ini tanpa bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada :

1. Dr. Djoni Tarigan, MBA, selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
2. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., MSc., Apt, selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Dr. Gunawan Pamudji W. M.Si., Apt. selaku pembimbing akademik yang senantiasa membimbing dan memberi nasihat sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan baik.
4. Dewi Ekowati, S,Si., M.Sc., Apt, selaku pembimbing utama yang selalu mendukung, membimbing, menasehati dan memberikan semangat kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
5. Dra. Nony Puspawati, M.Si, selaku pembimbing pendamping yang selalu mendukung, membimbing dan mengarahkan penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
6. Drs. Widodo Priyanto, MM., Apt. selaku penguji yang telah bersedia meluangkan waktu untuk menguji dan memberikan saran serta masukan yang membangun untuk memperbaiki skripsi ini.

7. Dr. Ana Indrayati, S.Si.,M.Si selaku penguji yang telah bersedia meluangkan waktu untuk menguji dan memberikan saran serta masukan yang membangun untuk memperbaiki skripsi ini
8. Anita Nilawati, S.Farm.,M.Farm.,Apt selaku penguji yang telah bersedia meluangkan waktu untuk menguji dan memberikan saran serta masukan yang membangun untuk memperbaiki skripsi ini
9. Desi Purwaningsih, S.PD.,M.Si selaku penguji yang telah bersedia meluangkan waktu untuk menguji dan memberikan saran serta masukan yang membangun untuk memperbaiki skripsi ini
10. Segenap dosen dan staff laboratorium Universitas Setia Budi yang telah membantu dan membimbing penulis selama melaksanakan penelitian.

Surakarta, 16 Juli 2018

Penulis

Wisky Amarta

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
PERSEMBAHAN	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
INTISARI.....	xv
ABSTRACT.....	xvi
 BAB I PENDAHULUAN	 1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah	2
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Kegunaan Penelitian	3
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	 4
A. Tanaman Stevia	4
1. Sistematika tanaman.....	4
2. Habitat dan morfologi tanaman	4
3. Kandungan Kimia.....	5
4. Manfaat tanaman	5
4.1 Penurunan kadar gula darah.....	5
4.2 Penurunan tekanan darah	5
4.3 Antikanker.....	5
4.4 Penurunan berat badan.....	6
4.5 Antibakteri.	6
B. Simplisia	6
1. Pengertian simplisia	6
1.1 Simplisia nabati.....	6
1.2 Simplisia Hewani.	6

1.3	Simplisia Pelikan atau mineral.....	7
2.	Perajangan.....	7
3.	Pengeringan.....	7
4.	Penyimpanan.....	8
C.	Ekstrak.....	8
1.	Pengertian Ekstrak.....	8
2.	Metode Ekstraksi (Maserasi).....	9
3.	Pelarut.....	9
D.	<i>Staphylococcus aureus</i>	10
1.	Sistematika bakteri.....	10
2.	Morfologi dan sifat.....	10
3.	Patogenetis.....	11
E.	Antiseptik Tangan.....	11
1.	Pengertian.....	11
2.	Kandungn <i>hand sanitizer</i>	11
3.	Cara penggunaan <i>hand sanitizer</i>	12
F.	Gel.....	12
1.	Pengertian gel.....	12
2.	Manfaat gel.....	13
3.	Mekanisme kerja gel.....	13
4.	Penggolongan gel.....	14
G.	Antibakteri.....	14
1.	Pengertian antibakteri.....	14
2.	Mekanisme kerja.....	14
2.1	Merusak dinding sel.....	15
2.2	Mengubah permeabilitas membrane sel.....	15
2.3	Kerusakan sitoplasma.....	16
2.4	Menghambat kerja enzim.....	16
2.5	Menghambat sintesis asam nukleat dan protein.....	16
3.	Metode pengujian antibakteri.....	16
4.	Kekuatan daya hambat antibakteri.....	17
H.	Monografi Bahan.....	18
1.	Carbopol 940 (<i>Polyacrilic Acid</i>).....	18
2.	Gliserin.....	18
3.	Trietanolamin.....	19
4.	Metil Paraben.....	20
I.	Landasan Teori.....	20
J.	Hipotesis.....	22
BAB III	METODE PENELITIAN.....	23
A.	Populasi dan sampel.....	23
1.	Populasi.....	23
2.	Sampel.....	23
B.	Variabel penelitian.....	23
1.	Identifikasi Variabel Utama.....	23
2.	Klasifikasi Variabel Utama.....	23

3. Definisi operasional variabel utama	24
C. Alat dan Bahan	25
1. Alat	25
2. Bahan	25
D. Jalannya Penelitian	25
1. Determinasi tanaman	25
2. Pengambilan dan pemilihan bahan	25
3. Pengeringan simplisia	26
4. Pembuatan serbuk	26
5. Penetapan kadar lembab serbuk daun stevia	26
6. Pembuatan ekstrak kental daun stevia	26
7. Uji bebas alkohol ekstrak kental daun stevia	27
8. Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun stevia	27
8.1 Identifikasi senyawa alkaloid	27
8.2 Identifikasi golongan senyawa fenol.	27
8.3 Identifikasi senyawa flavonoid.	27
8.4 Identifikasi golongan senyawa saponin.	27
8.5 Identifikasi senyawa tannin	28
9. Sterilisasi	28
10. Formula gel	28
11. Pembuatan Sediaan Gel	28
12. Pembuatan Kontrol	29
12.1 Kontrol negatif.	29
12.2 Kontrol Positif	29
13. Pengujian sifat fisik sediaan gel	29
13.1 Uji organoleptik.	29
13.2 Uji homogenitas.	29
13.3 Uji pH gel	29
13.4 Uji viskositas gel	29
13.5 Uji daya lekat gel.	29
13.6 Uji daya sebar gel	30
13.7 Uji stabilitas sediaan gel.	30
14. Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.	30
14.1 Identifikasi mikroorganisme secara isolasi.	30
14.2 Identifikasi morfologi secara pewarnaan gram.	30
14.3 Identifikasi fisiologi secara biokimia	31
15. Pembuatan suspensi bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	31
16. Pengujian aktivitas antibakteri	32
E. Analisis Hasil	32
F. Skema Penelitian	33
 BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	 36
1. Determinasi tanaman dan deskripsi tanaman stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni).	36

1.1	Hasil determinasi tanaman stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni).	36
1.2	Hasil deskripsi tanaman stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni).	36
2.	Pemilihan daun stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni).	37
3.	Pengeringan daun stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni).	37
4.	Pembuatan serbuk (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni).	37
5.	Identifikasi serbuk stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni).	38
5.1	Pemeriksaan organoleptis serbuk.	38
5.2	Penetapan kadar lembab serbuk.	38
6.	Pembuatan ekstrak etanol daun stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni).	38
7.	Uji bebas alkohol daun stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni).	39
8.	Identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol daun stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni).	40
9.	Pengujian sediaan fisik gel <i>hand sanitizer</i> ekstrak etanol daun stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni).	40
9.1	Organoleptis	41
9.2	Uji homogenitas	42
9.3	Uji pH.	42
9.4	Uji viskositas.	44
9.5	Uji daya sebar	45
9.6	Uji daya lekat.	46
10.	Pengujian stabilitas gel,	47
10.1	Uji organoleptis	47
10.1	Uji pH.	47
10.3	Uji viskositas	48
11.	Pembuatan suspensi bakteri uji	49
12.	Identifikasi uji <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 secara isolasi.	50
	Identifikasi.	50
13.	Identifikasi morfologi <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 secara pewarnaan Gram.	50
14.	Identifikasi fisiologi secara biokimia	51
14.1	Uji Katalase	51
14.2	Uji Koagulase	51
15.	Pengujian aktivitas antibakteri	51
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	55
A.	Kesimpulan.	55
B.	Saran.	55
	DAFTAR PUSTAKA	56
	LAMPIRAN	62

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni	4
Gambar 2. <i>Staphylococcus aureus</i>	10
Gambar 3. Struktur karbopol	18
Gambar 4. Struktur Gliserin	18
Gambar 5. Struktur Triethanolamin.....	19
Gambar 6. Struktur Metil Paraben.....	20
Gambar 7. Ekstraksi daun stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni).....	33
Gambar 8. Skema pembuatan gel <i>hand sanitizer</i> ekstrak etanol daun stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni).....	34
Gambar 9. Skema pengujian aktivitas antibakteri gel <i>hand sanitizer</i> ekstrak etanol daun stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni) terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 secara difusi.....	35
Gambar 10. Histogram uji pH gel <i>hand sanitizer</i> ekstrak etanol daun stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni).....	43
Gambar 11. Histogram uji viskositas gel <i>hand sanitizer</i> ekstrak etanol daun stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni).	44
Gambar 12. Histogram uji daya lekat gel <i>hand sanitizer</i> ekstrak etanol daun stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni).	46
Gambar 13. Histogram uji stabilitas pH gel <i>hand sanitizer</i> ekstrak etanol daun stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni).	48
Gambar 14. Histogram uji stabilitas viskositas gel <i>hand sanitizer</i> ekstrak etanol daun stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni).....	49
Gambar 15. Histogram uji daya hambat antibakteri gel <i>hand sanitizer</i> ekstrak etanol daun stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni).....	52

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Penggolongan zona hambat.	17
Tabel 2. Formula Standar Antibacterial Hand Gel with Triclosan (Lubrizol 2010).....	28
Tabel 3. Rancangan formula gel antiseptik tangan yang telah dimodifikasi	28
Tabel 4. Rendemen serbuk daun stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni).	37
Tabel 5. Rendemen serbuk terhadap berat daun kering.....	38
Tabel 6. Pemeriksaan organoleptis serbuk daun stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni).....	38
Tabel 7. Penetapan kandungan lembab serbuk daun stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni).	38
Tabel 8. Rendemen ekstrak etanol daun stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni).....	39
Tabel 9. Uji bebas alkohol ekstrak kental daun stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni).....	40
Tabel 10. Identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol daun stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni).	40
Tabel 11. Organoleptis formula gel <i>hand sanitizer</i> ekstrak daun stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni) dengan berbagai konsentrasi ekstrak etanol.....	41
Tabel 12. Homogenitas sediaan gel <i>hand sanitizer</i> ekstrak etanol daun stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni) dengan berbagai konsentrasi ekstrak etanol.	42
Tabel 13. Pemeriksaan pH gel <i>hand sanitizer</i> ekstrak etanol daun stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni) dengan berbagai konsentrasi ekstrak etanol.	43
Tabel 14. Uji viskositas sediaan gel <i>hand sanitizer</i> ekstrak etanol daun stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni) dengan berbagai konsentrasi ekstrak etanol.	44

Tabel 15. Pengukuran daya sebar gel <i>hand sanitizer</i> ekstrak etanol daun stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni) dengan berbagai konsentrasi ekstrak etanol.....	45
Tabel 16. Uji daya lekat gel <i>hand sanitizer</i> ekstrak etanol daun stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni) dengan berbagai konsentrasi ekstrak etanol.....	46
Tabel 17. Uji organoleptis stabilitas gel <i>hand sanitizer</i> ekstrak etanol daun stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni) dengan berbagai konsentrasi ekstrak etanol dengan metode <i>freeze thaw</i>	47
Tabel 18. Uji pH stabilitas gel <i>hand sanitizer</i> ekstrak etanol daun stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni) dengan berbagai konsentrasi ekstrak etanol dengan metode <i>freeze thaw</i>	48
Tabel 19. Uji viskositas stabilitas gel <i>hand sanitizer</i> ekstrak etanol daun stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni) dengan berbagai konsentrasi ekstrak etanol dengan metode <i>freeze thaw</i>	49
Tabel 20. Uji aktivitas antibakteri gel ekstrak etanol daun stevia	52

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Determinasi.....	63
Lampiran 2. Tanaman stevia dan maserasi	64
Lampiran 3. Identifikasi kandungan tanaman.....	65
Lampiran 4. Gambar alat uji gel & sediaan gel <i>hand sanitizer</i>	66
Lampiran 5. Gambar Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	68
Lampiran 6. Gambar orientasi ekstrak daun stevia & uji daya hambat gel <i>hand sanitizer</i>	69
Lampiran 7. Perhitungan rendemen daun stevia kering.....	70
Lampiran 8. Perhitungan rendemen serbuk terhadap daun stevia kering	70
Lampiran 9. Komposisi media	71
Lampiran 10. Data dan statistik uji pH gel <i>hand sanitizer</i> ekstrak etanol daun stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni)	72
Lampiran 11. Data dan statistik uji daya lekat gel <i>hand sanitizer</i> ekstrak etanol daun stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni)	74
Lampiran 12. Data dan statistik uji viskositas gel <i>hand sanitizer</i> ekstrak etanol daun stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni)	76
Lampiran 13. Data dan statistik uji daya sebar gel <i>hand sanitizer</i> ekstrak etanol daun stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni)	78
Lampiran 14. Data dan statistik uji stabilitas pH gel <i>hand sanitizer</i> ekstrak etanol daun stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni)	80
Lampiran 15. Data dan statistik uji stabilitas viskositas gel <i>hand sanitizer</i> ekstrak etanol daun stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni).....	82
Lampiran 16. Data dan statistik uji daya hambat antibakteri gel <i>hand sanitizer</i> ekstrak etanol daun stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni).....	84

INTISARI

AMARTA, WISKY., 2018, UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI GEL *HAND SANITIZER* EKSTRAK ETANOL DAUN STEVIA (*Stevia rebaudiana* Bertoni) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Daun stevia diketahui memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Daun stevia tidak dapat secara langsung membunuh bakteri, oleh karena itu daun stevia di ekstrak terlebih dahulu lalu di formulasi menjadi sediaan gel *hand sanitizer* dengan beberapa jenis formula dengan variasi konsentrasi ekstrak etanol. Tujuan penelitian ini untuk memformulasi sediaan gel *hand sanitizer* ekstrak etanol daun stevia dan menguji sifat fisik, stabilitas, dan aktivitasnya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Daun stevia diekstraksi dengan metode maserasi selama 5 hari dengan pelarut etanol 70%. Ekstrak etanol daun stevia di formulasi menjadi 3 formula dengan perbedaan konsentrasi ekstrak etanol 10%, 15%, dan 20%. Sediaan gel dari setiap formula di uji organoleptis, homogenitas, pH, viskositas, daya sebar, dan daya lekat, stabilitasnya dan aktivitasnya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Data yang dianalisa secara statistik dengan uji *kolmogorov-smirnov* dilanjutkan dengan uji *two way anova*.

Hasil penelitian menyatakan bahwa ekstrak etanol daun stevia dapat dibuat menjadi sediaan gel *hand sanitizer* dan mempunyai aktivitas antibakteri. Perbedaan konsentrasi ekstrak etanol 10%, 15% dan 20% berpengaruh terhadap sifat fisik sediaan gel dan stabilitasnya. Gel *hand sanitizer* dengan berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun stevia memiliki aktivitas antibakteri. Hasil uji statistik terhadap aktivitas antibakteri menyatakan bahwa ketiga formula memiliki aktivitas antibakteri yang berbeda secara signifikan.

Kata kunci : *Stevia rebaudiana* Bertoni, ekstrak etanol, gel *hand sanitizer*, antibakteri, *Staphylococcus aureus*.

ABSTRACT

AMARTA, WISKY., 2018, TEST OF ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF GEL *HAND SANITIZER* EXTRACT ETANOL STEVIA LEAF (*Stevia rebaudiana* Bertoni) TO BACTERIA *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

Stevia leaves are known to have antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* bacteria. Stevia leaves can not directly kill the bacteria, therefore stevia leaves are extracted first and then formulated into gel preparation *hand sanitizer* with several types of formula with variation concentration of ethanol extract. The aim of this study was to formulate gel preparation hand sanitizer extract ethanol stevia leaves and to test the physical characteristic, stability, and its activity against bacteria *Staphylococcus aureus*.

Stevia leaves were extracted using a maceration method for 5 days with 70% ethanol solvent. Stevia leaf ethanol extract was formulated into 3 formulas with concentration differences of ethanol extract: 10%, 15%, and 20%. The gel preparation of each formula was tested of its organoleptic, homogeneity, pH, viscosity, dispersion, and adhesion, stability and activity against *Staphylococcus aureus* bacteria. The data were analyzed statistically using kolmogorov-smirnov test followed by two way anova test.

The results of the experiment indicated that the extract of ethanol stevia leaves can be made into gel preparation *hand sanitizer* and have antibacterial activity. The difference of ethanol extract concentration 10%, 15% and 20% effected on physical characteristic of gel preparation and its stability. Gel hand sanitizers with various concentrations of ethanol extract of stevia leaves have antibacterial activity. Statistical test results on antibacterial activity indicated that the three formulas have significantly different antibacterial activity.

Keywords: *Stevia rebaudiana* Bertoni, ethanol extract, gel *hand sanitizer*, antibacterial, *Staphylococcus aureus*.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penggunaan obat tradisional sudah semakin meningkat dan bukan lagi menjadi alternatif. Telah diketahui bahwa tumbuh – tumbuhan yang berkhasiat obat tersebut mengandung zat – zat kimia aktif yang memiliki potensi besar. Salah satunya untuk menghambat aktivitas bakteri. Obat tradisional adalah ramuan – ramuan yang diperoleh langsung, secara alamiah baik dari binatang, tumbuhan atau mineral yang terolah secara sederhana atas dasar pengalaman dan diperlukan dalam pengobatan tradisional (Depkes 1986).

Penyakit infeksi merupakan jenis penyakit yang paling banyak diderita oleh penduduk negara berkembang, termasuk Indonesia penyakit infeksi yang sering terjadi salah satunya disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* (Radji 2011; Rasyid *et al.*, 2000). Penyakit infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* akan timbul tanda – tanda khas yaitu peradangan (Jawetz *et al.*, 2001). Bakteri *Staphylococcus aureus* masuk keperedaran darah dan dapat menyebar ke organ lain sehingga menyebabkan infeksi seperti kerusakan pada kulit atau luka pada organ tubuh (Melki *et al.*, 2011). Infeksi *Staphylococcus aureus* dapat disebabkan dari infeksi kulit kecil sampai infeksi akut (Hartanti 2006).

Cara pemutusan penyebaran kuman masih menjadi tantangan bagi masyarakat, salah satu cara yang sederhana untuk memutus penyebaran kuman adalah dengan mencuci tangan yang merupakan pertahanan awal untuk mencegah penyebaran dan perkembangan kuman yang menyebabkan berbagai penyakit sampai 90% dari jumlah semula dan akan kembali dalam 8 jam. Pada saat ini telah umum digunakan sediaan gel *hand sanitizer* yang mengandung antiseptik oleh masyarakat yang peduli kesehatan, sebagai jalan keluar untuk menjaga kesehatan dan kebersihan tangan yang praktis dan mudah dibawa (Shu 2013). Antiseptik tangan bertujuan untuk menghilangkan kotoran dan flora pada tangan (Irianto 2013).

Antiseptik merupakan suatu substansi yang melawan infeksi atau mencegah pertumbuhan atau kerja mikroorganisme dengan cara menghancurkan atau

menghambat pertumbuhan dan aktivitas mikroorganisme (Pelczer dan Chan 1988). Produk antiseptik tangan dalam bentuk sediaan gel efektif membunuh bakteri yang ada pada tangan, sebagai cara untuk mengurangi jumlah bakteri yang masuk ke dalam tubuh. Beberapa keuntungan gel antiseptik tangan yaitu mudah di gunakan, memberi sensasi dingin, tidak menimbulkan bekas di kulit dan praktis. (Depkes RI 1995).

Bahan antiseptik yang digunakan sebagai bahan aktif adalah alkohol, klorheksidin dan triklosan (Jawets *et al.*, 2005). Alkohol sebagai pelarut organik dan dapat melarutkan lapisan lemak, sebum pada kulit dan mengiritasi kulit pada pemakaian berulang (Dyer *et al.*, 1998). Oleh karena itu, pada penelitian ini menggunakan ekstrak Daun Stevia sebagai pengganti zat aktif untuk mengurangi efek yang akan terjadi pada pemakaian berulang. Menurut penelitian bahwa ekstrak etanol daun stevia memiliki potensi sebagai antimikroba, dalam penelitian tersebut dilakukan uji daya hambat ekstrak dengan rata – rata daya hambat sebesar 10,32 mm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Besarnya rata – rata zona hambat yang dibentuk ekstrak daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) tergolong kuat dalam penggolongan Davis dan Stout 1971 (Yaromis *et al.*, 2017).

Berdasarkan uraian tersebut, perlu dilakukan penelitian dengan menguji aktivitas antibakteri gel *hand sanitizer* ekstrak etanol daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

B. Rumusan Masalah

Permasalahan dalam penelitian ini adalah :

Pertama, apakah ekstrak etanol daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) dapat dibuat menjadi sediaan gel antiseptik (*Hand Sanitizer*) yang mempunyai mutu fisik dan stabilitas yang baik ?

Kedua, manakah formulasi sediaan gel antiseptik (*Hand Sanitizer*) dengan konsentrasi 10% , 15% ,dan 20% yang mempunyai aktivitas paling baik terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ?

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan perumusan masalah di atas, maka tujuan penelitian ini adalah:

Pertama, mengetahui apakah gel *hand sanitizer* antibakteri ekstrak etanol daun stevia mempunyai mutu fisik dan stabilitas yang baik ?

Kedua, mengetahui konsentrasi ekstrak daun stevia yang paling aktif berpotensi sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ?

D. Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat di jadikan bukti ilmiah penelitian gel ekstrak daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 serta mengetahui konsentrasi efektif dari sediaan gel *hand sanitizer* ekstrak daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) yang dapat di jadikan acuan untuk penelitian di masa mendatang. Penelitian ini dapat pula di berikan informasi bagi ilmu pengetahuan khususnya di bidang tanaman obat tradisional yang saat ini masih berdasarkan pengalaman, serta khalayak masyarakat tentang penggunaan gel *hand sanitizer* ekstrak daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) sebagai salah satu alternatif dalam penggunaan gel *hand sanitizer* antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Stevia

1. Sistematika tanaman



Gambar 1. Stevia rebaudiana Bertoni (Stevia)

Menurut depkes dan kesejahteraan Sosial RI Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan (2000) Klasifikasi tanaman stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) sebagai berikut :

Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Asterales
Famili	: Compositae
Genus	: Stevia
Spesies	: <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni

Nama lain dari stevia adalah Stevia (Sumatera) dan stevia (Jawa) (Depkes 2000).

2. Habitat dan morfologi tanaman

Tanaman stevia banyak terdapat di semak, semusim dengan tinggi 30-90 cm. Batang stevia berbentuk bulat, berbulu, beruas, bercabang dan hijau. Stevia mempunyai daun yang tunggal, berhadapan, bulat telur, ujung tumpul, pangkal runcing, tepi rata, dengan panjang 2-4 cm, lebar 1-5 cm, pertulangan menyirip, berbulu tangkai pendek dan hijau. Bagian bunga majemuk, bentuk malai, di ujung

dan di ketia daun, bentuk, terompet, kelopak bentuk tabung, berbulu, berbagi lima, hijau, tangkai benang sari, dan tangkai putik pendek, kepal sari kuning, putik bentuk silindris, putih, buah nya kotak, berambut, coklat. Biji berbentuk jarum, putih kotor, dengan akar yang tunggal, putih kotor (Depkes 2000).

3. Kandungan Kimia

Daun dan akar stevia rebaudiana mengandung saponin, flavonoida, tanin, steroid, dan polifenol (Depkes RI 2000). Daun stevia mengandung beberapa glikosida diterpen yaitu steviosida, rebaudiosida A, rebaudiosida B, rebaudiosida C, rebaudiosida D, rebaudiosida E, rebaudiosida F, dulkosida C, dulkosida A dan steviolbiosida. Selain itu stevia juga memiliki senyawa glikosida, kumarin, asam sinamat, fenilpropanoid, dan minyak esensial (Pande 2013).

Stevia rebaudiana Bertoni memiliki senyawa kandungan an-organik seperti aluminium, mangan, fosfor, kalium, kalsium, kromium, kolbalt silikon, besi dan magnesium. Komponen lain yaitu protein, β -karoten, dan serat ini juga terhadap pada daun stevia rebaudiana (Goyal *et al.*, 2010).

4. Manfaat tanaman

4.1 Penurunan kadar gula darah. Berdasarkan penelitian steviosida dapat meningkatkan sekresi insulin dan sensitivitas insulin. Sensitivitas insulin ditingkatkan oleh senyawa dalam stevia yang dapat menghibisi ekspresi hepatic dari phosphoenolpyruvat karboksikinas, dengan menstimulus sintesis glikogen hepatic. Komponen lain dalam stevia yaitu rebaudiosida A dapat menstimulasi sekresi insulin. Steviosida juga dapat berperan dalam menaikkan sekresi insulin tetapididak menyebabkan insulinemia (Thomas 2010).

4.2 Penurunan tekanan darah. Stevia dapat menurunkan tekanan darah dan memberikan efek vasorelaksasi. Hasil penelitian ini telah dilakukan, menunjukan stevia dapat menurunkan sistole dan diastole pada probandus (Thomas 2010).

4.3 Antikanker. Stevia juga dapat digunakan sebagai antikanker, dari senyawa pemanis diterpenoid pada daun stevia yaitu, steviosida, rebaudiosida A, rebaudiosida C, dulkosida pada induksi antigen virus muda Epstein Barr dengan

tumor promotor. Dari percobaan tersebut pemanis diterpenoid dapat menghambat induksi antigen virus muda Epstein Barr tetapi yang paling kuat yaitu steviosida (Konoshima dan Takasaki 2002).

4.4 Penurunan berat badan. Stevia merupakan suplemen yang baik untuk menurunkan berat badan karena tidak berkalori. Stevia juga dapat menurunkan nafsu makan karena glikosida yang terkandung dalam stevia dapat mempengaruhi kinerja dari otak untuk mengontrol perasaan lapar (Elkins 1997).

4.5 Antibakteri. Stevia dapat menjadi antibakteri dan telah dilakukan penelitian bahwa ekstrak daun stevia memberikan zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara in vitro dengan rata – rata daya hambat sebesar 10,32 mm yang termasuk kategori kuat berdasarkan penggolongan Davis dan Stout 1971 (Yaromis *et al.*, 2017).

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alami yang dapat digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengelolaan apapun juga kecuali dinyatakan lain (Depkes 1995). Istilah simplisia dipakai untuk menyebutkan bahan – bahan alam yang masih berada dalam bentuk wujud aslinya atau belum mengalami perubahan (Gunawan & Mulyani 2004). Berdasarkan hal tersebut simplisia di bagi 3 golongan yaitu berupa simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan atau mineral.

1.1 Simplisia nabati. Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, pada bagian tanaman atau eksudat tanaman. Eksudat tanaman adalah isi gel yang spontan keluar dari tanaman atau isi gel dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya atau zat nabati lainnya dengan cara tertentu di pisahkan dari tanamannya dan belum berupa zat kimia murni (Depkes 1995).

1.2 Simplisia Hewani. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa bagian hewan utuh atau zat – zat yang berguna yang di hasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni (Depkes 1995). Misalnya adalah minyak ikan (oleum icoris asseli), dan madu (mel depuratum) (Gunawan & Mulyani 2004).

1.3 Simplisia Pelikan atau mineral. Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia yang berupa bahan – bahan pelikan (mineral) yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana atau belum berupa zat kimia murni (Depkes 1995). Misalnya adalah serbuk seng atau serbuk tembaga (Gunawan & Mulyani 2004).

2. Perajangan.

Beberapa jenis bahan simplisia perlu mengalami proses perajangan, perajangan bahan simplisia dilakukan untuk mempermudah proses pengeringan, pengepakan, dan penggilingan. Perajangan dapat dilakukan dengan pisau atau alat mesin perajang khusus sehingga di peroleh iris tipis atau potong dengan ukuran yang di kehendaki (Depkes 1986). Tujuan dari perajangan adalah untuk memperluas permukaan bahan baku karena semakin luas permukaan bahan baku maka bahan baku akan cepat kering (Gunawan & Mulyani 2004).

3. Pengeringan

Pengeringan simplisia bertujuan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak sehingga dapat di simpan dalam waktu yang lebih lama, dan untuk mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi ezimatik untuk mencegah penurunan mutu atau perusakan simplisia. Pengeringan simplisia dapat dilakukan dengan sinar matahari atau menggunakan suatu alat pengering adalah suhu pengering, kelembaban udara, aliran udara, waktu pengeringan, dan luas permukaan bahan (Depkes 1985).

Proses pengeringan pada simplisia bertujuan untuk menurunkan kadar air sehingga bahan tersebut tidak mudah di tumbuhi kapang dan bakteri, menghilangkan aktivitas enzim yang dapat menguraikan lebih lanjut kandungan aktif yang terdapat pada bahan, memudahkan dalam hal proses selanjutnya (ringkas, mudah disimpan, tahan lam dan sebagainya). Terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi dalam pengeringan yaitu waktu pengeringan, suhu pengeringan, kelembaban udara, ketebalan bahan yang dikeringkan, sirkulasi udara, dan luar permukaan bahan (Gunawan & Mulyani 2004).

Cara pengeringan di tempat teduh adalah dengan cara bahan disebarakan rata di atas nampan lemari atau kotak kemudian dimasukan ke dalam oven dengan suhu yang telah di tentukan atau dengan cara meletakkan dibawah atap rumah agar terlindung dari cahaya matahari secara langsung. Bahan berupa rimpang sebelum dijemur dibawah matahari langsung harus dirajang terlebih dahulu untuk memperluas luas permukaan (Gunawan & Mulyani 2004).

4. Penyimpanan

Proses penyimpanan simplisia perlu diperhatikan beberapa hal seperti cara pengepakan, pembungkusan, dan pewadahan, persyaratan tempat gudang simplisia, cara sortasi, cara pemeriksaan mutu, serta cara pengawetannya. Penyebab utama kerusakan dari simplisia adalah air dan kelembaban. Kadar air simplisia yang disimpan perlu diperhatikan dan dijaga. kadar air simplisa yang tinggi akan menyebabkan tumbuhan kapang atau mikroorganisme lain yang dapat menyebabkan perubahan kimia pada senyawa aktif dan menurunkan mutu simplisia tersebut (Depkes 1985). Simplisia disimpan di tempat terlindung dari sinar matahari dan pada suhu kamar. Simplisia yang mudah menyerap air harus disimpan dalam wadah tertutup rapat yang berisi kapur tohor (Depkes 1995).

C. Ekstrak

1. Pengertian Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kering, kental, dan cair di buat dengan menyari simplisia nabati atau hewani dengan cara yang cocok di luar pengaruh cahaya matahari langsung. Ekstrak adalah proses penarikan zat yang di inginkan dari bahan obat dengan menggunakan pelarut yang cocok dimana zat yang diinginkan dapat larut (Ansel 1989).

Metode ekstraksi banyak macamnya di antaranya adalah maserasi, perkolasi, destilasi, dan sokletasi. Metode ekstraksi di pilih berdasarkan beberapa faktor seperti sifat bahan, daya penyesuaian tiap macam metode ekstraksi dan

kepentingan dalam memperoleh ekstrak yang sempurna atau mendekati sempurna (Ansel 1989).

2. Metode Ekstraksi (Maserasi)

Maserasi merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana. Maserasi sederhana merupakan proses ekstraksi bahan obat dengan pelarut yang cocok melalui pengocokan dengan beberapa pengocokan beberapa kali sehari pada suhu tertentu, sedangkan maserasi dengan pengocokan bahan obat yang dilakukan secara konstan disebut maserasi kinetik.

Proses maserasi dimulai dengan merendam simplisia yang sudah di haluskan menjadi serbuk dalam larutan penyari sampai meresap dan susunan sel akan melunak sehingga zat – zat yang sudah terlarut akan melarut (Ansel 1989). Berdasarkan farmakope indonesia edisi ketiga. Maserasi kecuali dinyatakan lain ialah memasukan 1 bagian simplisia atau campuran simplisia dengan derajat kehalusan yang sesuai kedalam sebuah bejana, dituangi dengan 75 bagian pelarut yang sesuai, biarkan 5 hari terlindung dari cahaya, cuci ampas dengan penyari secukupnya hingga diperoleh 100 bagian.

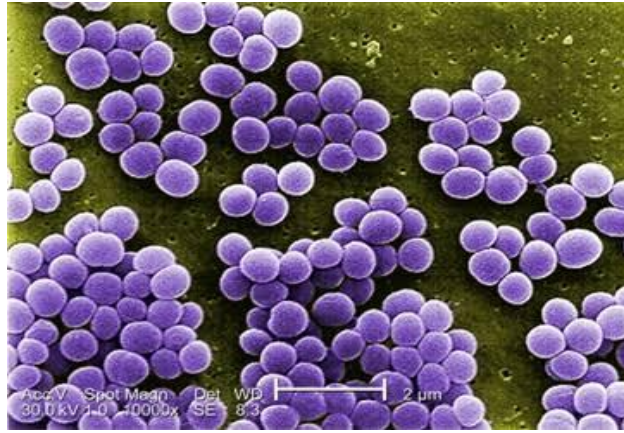
3. Pelarut

Pelarut umumnya adalah suatu cairan yang dapat berupa zat murni ataupun campuran. Zat yang terlarut dapat berupa gas, cairan lain, dan padat. Pemilihan pelarut penyari harus mempertimbangkan berbagai faktor. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi dipilih berdasarkan daya larut zat aktif dan zat yang tidak aktif (Ansel 1989).

Etanol lebih menembus membran sel dalam mengekstrak bahan intraseluler dari bahan tanaman. Etanol hampir semua mengidentifikasi komponen aktif dari tanaman terhadap mikroorganisme aromatik atau jenuh. Metanol lebih polar dibandingkan dengan etanol. Sifat metanol lebih toksik, sehingga tidak cocok untuk ekstraksi dalam beberapa jenis penelitian karena mengakibatkan hasil yang tidak diinginkan (Tiwari *et al.*, 2011).

D. *Staphylococcus aureus*

1. Sistematika bakteri



Gambar 2. *Staphylococcus aureus*

Divisi	: Protophyta
Classis	: Schizomycetes
Ordo	: Eubacteriales
Famili	: Micrococcaceae
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i> (Salle 1974)

2. Morfologi dan sifat

Staphylococcus aureus adalah bakteri yang berbentuk bulat seperti bola dengan garis tengah 0,8-1 μm , termasuk bakteri gram positif, tidak bergerak aktif. *Staphylococcus aureus* tersusun bergerombol seperti buah anggur atau terpisah dalam kelompok tidak teratur. *Staphylococcus aureus* hampir dapat tumbuh di segala macam medium pertumbuhan. Pertumbuhan yang paling baik apabila berada dalam kondisi aerobik (banyak oksigen), walaupun dapat tumbuh dalam kondisi oksigen yang sedikit. Tumbuh subur pada suhu antara 25-35°C, dapat juga tumbuh pada suhu 8 °C-48 °C. Bakteri ini dapat tumbuh pada media sintetik yang tidak mengandung asam amino atau protein (Supardi dan Sukanto 1999). *Staphylococcus aureus* tahan terhadap panas (tahan terhadap suhu 60 °C selama 1 jam dan beberapa strain tahan terhadap suhu 80 °C selama 30 menit), tahan kering (pada nanah yang kering akan tahan berminggu-minggu hingga bulanan), dan juga tahan terhadap sulfonamid dan antibiotik lainnya (Iskamto 2009)

3. Patogenetis

Staphylococcus aureus merupakan bakteri patogen dan bersifat invasive cenderung menghasilkan koagulas dan pigmen kuning, bersifat hemolitik dan meragikan manitol. Organisme demikian jarang menyebabkan penanahan tetapi dapat menginfeksi protesa ortopedik atau kardiovasekuler. Beberapa mikrokokus dapat menyebabkan pernanahan seperti pada infeksi *staphylococcus aureus* dan kadang-kadang menyebabkan pneumunea. Patogenitas suatu strain *staphylococcus aureus* merupakan gabungan efek ekstraseluler dan toksin-toksin bersama dengan sifat-sifat invasif strain, dan meliputi skala yang luas. (Jawetz *et al.*, 1986)

E. Antiseptik Tangan

1. Pengertian

Antiseptik tangan (*hand sanitizer*) merupakan cairan pembersih tangan berbahan dasar alkohol yang digunakan untuk membunuh mikroorganisme dengan cara pemakaian tanpa di bilas dengan air. Tidak seperti pencuci tangan dengan sabun dan air, *hand sanitizer* digunakan untuk membersihkan tangandari kuman, bukan untuk menyingkirkan kotoran yang tersisa pada tangan. *Hand sanitizer* banyak digunakan dengan alasan kepraktisan (Benjamin 2010).

Hand sanitizer mudah di bawa dan bisa cepat di gunakan tanpa perlu menggunakan air. *Hand sanitizer* sering digunakan ketika pada saat darurat di mana saat kita tidak bisa menemukan air. Di negara maju penggunaan antiseptik tangan telah berjalan sangat pesat. Beberapa sediaan antiseptik tangan dapat di jumpai di pasaran, dapat berupa gel atau spray. Sediaan gel *hand sanitizer* digunakan karena alasan praktis, selain itu gel dapat memberikan rasa dingindi kulit, dapat melembabkan karena adanya humektan yang bersifat sebagai emolien. Lebih jauh lagi humektan mampu memperlambat penguapan air dari kulit.

2. Kandungn *hand sanitizer*

Secara umum *hand sanitizer* mengandung alkohol 60 – 90%. Benzalkonium chloride, benzethonium chloride, chlorhexidine, gluconate, chloroxylenolfin clofucarang, hexachlorophenh, hexylresocarcinol, iodine (Benjamin 2010). Kadungn aktif yang sering ditemukan pada *hand senitizer* di

pasaran adalah 60% etil alkohol. Dalam penelitian yang akan dilakukan oleh (Liu *et al.*, 2010), menyatakan bahwa efektivitas dari suatu *hand sanitizer* ditentukan oleh berbagai faktor seperti, jenis antiseptik yang kita gunakan dan banyaknya, serta target organisme.

3. Cara penggunaan *hand sanitizer*.

Cara penggunaan *hand sanitizer* adalah dengan menuangkannya di atas telapak tangan lalu kemudian diratakan pada permukaan tangan selama 20-30 detik (Sari 2006).

F. Gel

1. Pengertian gel

Gel didefinisikan sebagai suatu sistem setengah padat yang terdiri dari suatu dispersi yang tersusun baik dari partikel anorganik yang kecil atau molekul organik yang besar dan saling di resapin cairan. Suatu gel yang makro molekulnya di sebarakan keseluruh cairan sampai tidak terlihat ada batas di antaranya disebut gel satu fase. Gel dua fase adalah suatu massa gel yang terdiri dari kelompok – kelompok partikel kecil yang berbeda (Ansel 1989). Gel dibuat dengan proses peleburan atau di perlukan suatu prosedur khusus berkenaan dari sifat mengembang dari gel (Banker and Anderson 1986).

Gel berdasarkan karakteristik cairannya dibedakan menjadi dua yaitu hidrogel dan lipogel. Lipogel merupakan suatu gel dengan basis lemak. Lipogel biasa digunakan bersamaan dengan lotion dan untuk kulit kering. Penggunaan lipogel akhir – akhir ini semakin menurun dan tinggal lemak babi satu – satu nya basis lemak yang masih bertahan saat ini. Salah satu nya adalah ketidak stabilannya menjadikan tengik, meskipun dapat di atasi dengan stabilator kimia sedangkan hidrogel merupakan sediaan yang dapat di oleskan yang terbentuk melaluipembengkakan terbatas bahan makro molekul organik atau senyawa anorganik (Voigt 1994).

Hidrogel tergolong ke dalam kelompok besar heterogel kaya cairan (kandungan air 80-90%). Hidrogel termasuk ke dalam struktur yang kental dan umumnya memiliki perilaku tiksotropi yang nyata tampak jelas pada gel bentonit.

Selama penyimpanan, khusus nya gel konsentrasi tinggi (*jelly*) akan mengalami perubahan, yang berlangsung dengan adanya pelepasan cairan, yang pada bentuk terluarnya tetap tinggal. Peristiwa ini dinyatakan sebagai *sineresis* yang disebabkan oleh mengkerutnya *perancah* disertai meningkatnya struktur kristalin. Hidrogel memiliki beberapa keuntungan yaitu daya sebar nya pada kulit lebih baik, mudah di cuci dengan air tidak melapisi permukaan kulit secara kedepan tidak menyumbat pori – pori kulit (Voigt 1994).

Karakteristik gel harus digunakan dengan tujuan penggunaan sediaan. Zat pembentuk gel yang ideal untuk sediaan farmasi : inert, aman, tidak beraksi dengan komponen farmasi lain. Inkompatibilitas yang potensial dapat terjadi dengan mencampur obat yang bersifat kation, pengawet, surfaktan, dengan senyawa pembentuk gel anionik. Pemilihan bahan pembentuk gel dalam setiap formulasi bertujuan membentuk sifat seperti : padatan yang cukup baik, selama penyimpanan mudah di pecah bila di berikan daya pada sistem. Berbagai bahan pembentuk gel yang dapat mempengaruhi karakter gel terbentuk. Diperlukan suatu bahan pembentuk gel tertentu atau campuran bahan – bahan tersebut untuk memperoleh gel dengan karakter tertentu sesuai dengan tujuan penggunaannya (Ansel 1985).

2. Manfaat gel

Gel dapat digunakan untuk obat yang diberikan secara topikal atau dimasukkan ke dalam lubang tubuh (Anonim 1995). Sediaan dalam bentuk gel jarang dijumpai dengan sediaan krim atau *lotion*, pada hal bentuk sediaan gel memiliki beberapa keuntungan yaitu tidak lengket, mudah dioleskan, mudah dicuci, tidak meninggalkan lapisan minyak pada kulit, viskositas gel tidak mengalami perubahan yang berarti selama penyimpanan (Lieberman1989).

3. Mekanisme kerja gel

Gel yang homogen perlu untuk mendispersikan bahan pembentuk gel, sehingga tidak terjadi penggumpalan ketika ditambah air. Beberapa teknik yang dapat dilakukan antara lain dengan menambahkan sejumlah kecil bahan pendispersi seperti alkohol atau gliserin, dan *trituration*. Teknik lain adalah

dengan meneteskan bahan pembentuk gel ke dalam air yang diaduk (Sulaiman *et al.*, 2008).

Pembuatan gel harus ada beberapa yang harus ditambahkan, terutama gel yang mengandung bahan alam. Presepatif yang sesuai, tergantung penggunaan dan bahan pembentuk gelnya, termasuk paraben 0,2% dan asam benzoat 0,2% (jika produk bersifat asam), dan klorokresol 0,1%. Sediaan dalam bentuk gel dibandingkan krim kadang memberikan kecepatan pelepasan obat yang tinggi yang tidak tergantung pada kelarutan obatnya (Sulaiman *et al.*, 2008).

4. Penggolongan gel

Gel kadang-kadang disebut jeli, merupakan sistem semipadat terdiri atas suspensi yang dibuat dari partikel anorganik yang kecil atau molekul organik yang besar, terpenetrasi oleh suatu cairan. Massa gel terdiri atas jaringan partikel kecil yang terpisah, gel digolongkan sebagai sistem dua fase (Anonim 1995).

Gel fase tunggal terdiri atas makromolekul organik yang tersebar serta sama dalam suatu cairan sampai tidak terlihat adanya ikatan antara molekul makro yang terdispersi dan cairan. Gel fase tunggal dapat dibuat dari makromolekul sintetik (misalnya karbomer) atau dari gom alam (misalnya tragakan) (Anonim 1995).

G. Antibakteri

1. Pengertian antibakteri

Antibakteri adalah zat yang dapat mengganggu pertumbuhan atau bahkan mematikan bakteri dengan cara mengganggu metabolisme mikroba yang dapat merugikan. Mikroorganisme dapat menimbulkan bahaya karena kemampuan menginfeksi dan menimbulkan penyakit serta merusak bahan pangan. Antibakteri termasuk kedalam golongan antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Jawetz *et al.*, 1996)

2. Mekanisme kerja

Mekanisme kerja antibakteri merupakan proses penghambatan kerja suatu bakteri oleh antibakteri. Suatu zat antibakteri dapat bersifat bakteristatik (hanya menghambat) atau dapat bersifat bakteriosida (membunuh bakteri). Perbedaan

dari kedua sifat tersebut adalah berdasarkan dari dosis yang digunakan. Suatu antibakteri yang ideal mempunyai toksitas selektif yang berarti obat antibakteri tersebut hanya berbahaya terhadap bakteri dan tidak membahayakan hospes tau host tertentu. (Pelczar *et al.*, 1988).

Antiseptik merupakan zat yang biasa digunakan untuk menghambat atau membunuh mikroorganisme yang hidup di permukaan tubuh. Mekanisme antiseptik ini antara lain merusak lemak pada membran sel bakteri atau dengan cara menghambat salah satu kerja enzim pada bakteri yang berperan dalam biosintesis asam lemak. (Syari 2014).

Pelczar (1988) menyatakan bahwa mekanisme kerja antibiotik dalam melakukan efeknya terhadap mikroorganisme adalah sebagai berikut :

2.1 Merusak dinding sel. Pada umumnya bakteri memiliki suatu lapisan luar yang kaku disebut dinding sel (*peptidoglikan*). Sintesis dinding sel ini melibatkan sejumlah langka enzimatik yang banyak diantaranya dihalangi oleh antimikroba. Rusaknya dinding sel bakteri misalnya karena pemberian enzim lisosim atau hambatan pembentuknya oleh karena itu antimikroba, dapat menyebabkan sel bakteri lisis. Kerusakan dinding sel akan melibatkan terjadinya perubahan-perubahan yang mengarah pada kematian sel karena dinding sel berfungsi sebagai pengatur pertukaran zat-zat dari luar dan kedalam sel, serta memberi bentuk sel.

2.2 Mengubah permeabilitas membrane sel. Sitoplasma semua sel hidup dibatasi oleh selaput yang disebut membrane sel yang mempunyai permeabilitas selektif. Membran ini tersusun atas fosfolipid dan protein. Membran sel berfungsi untuk mengatur keluar masuknya zat antar sel dengan lingkungan luar, melakukan pengangkutan zat-zat yang diperlukan aktif dan mengendalikan susunan dalam diri sel. proses pengangkutan zat-zat yang diperlukan baik kedalam maupun keluar sel dimungkinkan karena didalam membrane sel terdapat enzim protein untuk mensintesis peptidoglikan komponen membrane luar. Dengan rusaknya dinding sel, bakteri secara otomatis akan berpengaruh pada membrane sitoplasma, beberapa bahan antimikroba seperti fenol, kresol, detergen, dan beberapa antibiotic dapat menyebabkan kerusakan pada membrane sel sehingga fungsi semi

permeabilitas membrane ,mengalami kerusakan. Kerusakan pada membrane sel ini akan mengakibatkan terhambatnya sel atau matinya sel.

2.3 Kerusakan sitoplasma. Sitoplasma atau cairan sel terdiri atas 80% air, asam nukleat, protein, karbohidrat, lipid, ion anorganik, dan berbagai senyawa dengan bobot molekul rendah. Kehidupan suatu sel tergantung pada terpeliharanya molekul-molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan alaminya. Konsentrasi tinggi beberapa zat kimia dapat mengakibatkan kuagulasi dan denaturasi komponen-komponen seluler yang vital.

2.4 Menghambat kerja enzim. Didalam sel terdapat enzim dan protein yang membantu kelangsungan proses-proses metabolisme, banyak zat kimia yang diketahui dapat mengganggu reaksi biokimia misalnya logam-logam berat, golongan tembaga, perak, air raksa dan senyawa logam berat lainnya, umumnya efektif sebagai bahan antimikroba pada konsentrasi relatif rendah. Logam-logam ini akan mengikat gugus, enzim sulfhidril yang berakibat terhadap perubahan protein yang terbentuk penghambatan ini dapat mengakibatkan terganggunya metabolisme atau matinya sel.

2.5 Menghambat sintesis asam nukleat dan protein. DNA, RNA dan protein memegang peranan amat penting dalam sel, beberapa bahan antibakteri dalam bentuk antibiotik misalnya kloramfenikol, terasiklin, prumysim menghambat sintesis protein. Sedangkan sintesis asam nukleat dapat dihambat oleh senyawa antibiotik misalnya mitosimin. Bila terjadi gangguan pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel.

3. Metode pengujian antibakteri

Metode pengujian antibakteri ada dua cara yaitu metode difusi dan metode dilusi. Metode difusi adalah suatu ujian aktivitas dengan menggunakan cakram yang berliang renik atau suatu silinder yang tidak beralas yang mengandung obat dalam jumlah tertentu di tempatkan dalam pembenihan padat yang telah di tanami dengan biakan bakteri yang akan di periksa. Setelah di inkubasi, garis tengah daerah hambatan jernih yang mengelilingi obat di anggap sebagai kekuatan ukuran hambat terhadap bakteri yang di periksa. Metode ini zat yang akan di

tentukan aktivitas anti mikroba berdifusi pada lempeng agar *Mueller Hinton* yang telah di tanami mikroba yang akan di uji. Dasar penggunaan nya berbentuk atau tidaknya zona hambatan pertumbuhan bakteri sekeliling cakram atau silinder yang berisi zat anti mikroba (Herminta 2014). Metode yang paling sering digunakan adalah metode difusi agar/cakram/sumur. Cawan petri di isi dengan media MHA (*Mueller Hilton Agar*), menginokulasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada media tersebut, menunggu sampai bakteri menyerap pada media. Membuat sumuran dengan menggunakan boorprop, memasuka larutan uji dengan konsentration yang berbeda – beda kedalam sumuran yang telah di buat tadi, menginkubasi selama 24 jam dan mengamati diameter hambatan. Diameter daerah hambatan ini tergantung daya serap larutan uji yang digunakan kedalam agar dan kepekaan kuman terhadap obat tersebut (Bonang dan Koeswardono 2004). Metode difusi sumuran lebih sulit tetapi hasil yang di peroleh akan lebih mudah terlihat dan menampakan hasil yang nyata.

Prinsip metode dilusi adalah menghambat pertumbuhan bakteri dengan pembersihan cairan oleh suatu obat yang di campurkan kedalam pembersihan, pembersihan yang di pakai harus dengan pembersihan yang dapat menumbuhkan bakteri secara optimum yang tidak menetralkan obat yang dipergunakan (Bonang dan Koeswardono 2004). Metode ini menggunakan dengan kadar yang menurun secara bertahap, baik dengan metode cair atau padat, kemudian sampel uji diinokulasi pada media serta ditambah bakteri ujidan diinokulasi selama 24 – 48 jam. Keuntungan metode ini adalah memberikan hasil kuantitatif dengan pemberian hasil jumlah anti mikroba yang di butuhkan untuk mematikan bakteri (Jawetz *et al.*, 2001).

4. Kekuatan daya hambat antibakteri

Tabel 1. Penggolongan zona hambat.

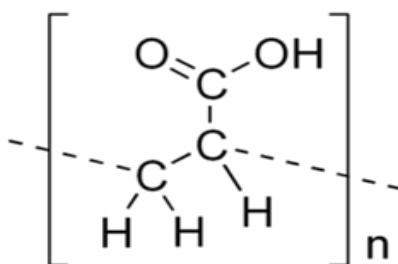
Kriteria kekuatan daya hambat	Diameterzona hambat (mm)
Lemah	Kurang dari 5
Sedang	5 – 10
Kuat	10 – 20
Sangat kuat	Lebih dari 20

(Davis dan Stount 1971)

H. Monografi Bahan

Berikut merupakan bahan – bahan yang digunakan untuk formulasi sediaan gel antiseptik ekstrak etanol daun stevia.

1. Carbopol 940 (*Polyacrylic Acid*)

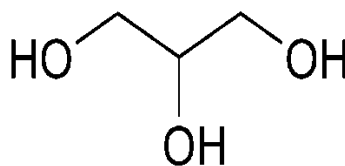


Gambar 3. Struktur karbopol

Carbopol terbagi menjadi beberapa macam yakni, karbopol 934 (pH 5,5 - 11) Carbopol 940 (pH 4,5-11) dan karbopol 941 (pH 3,5-11). Berdasarkan penelitian diantara ketiga carbopol tersebut yang paling stabil adalah karbopol 940, oleh karena itu dalam penelitian ini karbopol 940 digunakan sebagai basis pembuatan gel hand sanitizer.

Carbopol 940 merupakan resin akrilik larut air yang mempunyai sifat membentuk kekentalan sempurna meskipun konsentrasi yang digunakan dalam jumlah yang kecil dengan penetralan menggunakan basa yang cukup, larut dalam air dan alkohol, bersifat triksotropik, membentuk sediaan yang transparan dan bekerja efektif pada rentang pH yang luas. Pembuatannya dengan cara mendispersikan serbuk diatas air panas atau dingin atau dalam pelarut organik sambil diaduk untuk mencegah terbentuknya gumpalan, setelah itu pengadukan dilanjutkan sampai terbentuknya larutan dengan viskositas yang rendah sambil menambahkan zat penetral (Wade 1994).

2. Gliserin

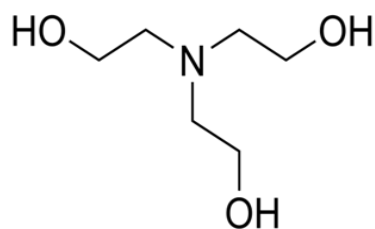


Gambar 4. Struktur Gliserin

Gliserin mempunyai rumus molekul $C_3H_8O_3$ dan berat molekul 92,09. Nama lain dari gliserin adalah *glicerol*, *glycerine*, *glycerolum*, *Glycon*, G-100, 1,2,3-propanetriol, *trihydroxypropane glycerol*. Pemerian gliserin adalah tidak berwarna, tidak berbau, kental, cairan higroskopis, netral terhadap lakmus, dan memiliki rasa manis kira-kira 0,6 kali sukrosa. Gliserin dapat berfungsi sebagai pengawet antimikroba, *cosolvent*, *emolien*, *humektan*, *plasticizer*, pelarut dan pemanis (Rowe *et al.*, 2009).

Kelarutan dari gliserin dapat bercampur dengan minyak, air, dan etanol. Gliserin tidak larut dalam kloroform, eter, minyak lemak, dan minyak menguap. Gliserin murni tidak rentan terhadap oksidasi. Gliserin dapat mengkristal jika di simpan pada suhu rendah. Gliserin harus disimpan dalam wadah kedap udara serta ditempat yang sejuk dan kering (Rowe *et al.*, 2009)

3. Trietanolamin

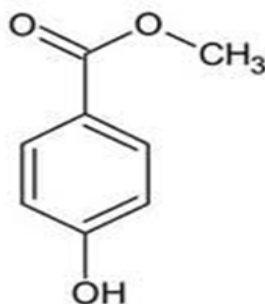


Gambar 5. Struktur Triethanolamin

Triethanolamin sering disebut juga dengan TEA, tealan, triethylolamin, trihydroxytriethylamine, dan tris (hydroxyethyl)amine. Trietanolamina mempunyai berat molekul sebesar 149,19 (Rowe *et al.*, 2006). Bahan ini berwujud cairan kental, tidak berwarna hingga kuning pucat, bau lemah mirip amoniak, higroskopis, dan mudah larut dalam air, etanol 95% P dan kloroform P (Anonim 1997)

Trietanolamina merupakan komponen organik yang mengandung gugus amino tersier dan sebuah tri-alkohol. Zat tambahan ini digunakan untuk menstabilkan pH pada pembuatan kosmetik dengan produk yang beragam dari lotion untuk kulit, gel mata, pelembap, shampoo, busa untuk mencukur dan lain sebagainya. (Rowe *et al.*, 2006)

4. Metil Paraben



Gambar 6. Struktur Metil Paraben

Nipagin atau metil paraben termasuk salah satu dari kelompok paraben yang memiliki rumus kimia $\text{CH}_3(\text{C}_6\text{H}_4(\text{OH})\text{COO})$. Nipagin merupakan metil ester dari asam p-hydroxybenzoat.

Metil paraben termasuk bahan tambahan pangan (BTP) khususnya antijamur yang digunakan secara luas sebagai pengawet untuk makanan, obat-obatan dan kosmetik. Senyawa ini sering ditemukan pada pembiusan lokal, bertindak sebagai agen bakteriostatik dan pengawet. Nipagin atau metil paraben umumnya digunakan sebagai agen antijamur dalam medium makanan drosophila. Penggunaan metil dikenal untuk memperlambat laju pertumbuhan drosophila pada stadium larva dan pupa.

Metil paraben diproduksi secara alami dan ditemukan di beberapa buah-buahan, khususnya blueberry, bersama dengan paraben lain. Tidak ada bukti bahwa metil atau propilparaben berbahaya pada konsentrasi yang biasanya digunakan dalam perawatan tubuh atau kosmetik. Secara umum metil dan propilparaben dianggap aman sebagai pengawet antibakteri pada makanan dan kosmetik. Nipagin di metabolisme oleh bakteri tanah sehingga benar-benar rusak. (Anonim 1997)

I. Landasan Teori

Kesehatan merupakan hal yang sangat penting dalam kehidupan, maka tindakan pencegahan dan pengobatan untuk menghindari resiko datangnya penyakit. Penyakit infeksi sering disebabkan oleh mikroorganisme, salah satunya

adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, yang dapat menyebabkan infeksi kulit yang kecil hingga akut serta jaringan lunak secara *invasive* (Bartlett *et al.*, 2010)

Salah satu bahan alam yang memiliki potensi untuk sebagai antiseptik adalah tanaman Stevia. Ekstrak daun Stevia mempunyai potensi terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan rata – rata zona hambat yang di hasilkan 10.32 mm yang tergolong kuat menurut Davis dan Stout 1971. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dengan etanol 70% daun Stevia mengandung alkaloid, flavonoid, steroid, saponin, dan tanin (Yaromis *et al.*, 2017).

Hand sanitizer merupakan cairan pembersih tangan berbahan dasar alkohol yang digunakan untuk membunuh mikroorganisme dengan cara pemakaian tanpa dibilas dengan air. Beberapa studi menyatakan bahwa penggunaan hand sanitizer terbukti efektif dalam menurunkan infeksi penyakit gastrointestinal serta respiratory karena bakteri (Hammond dkk 2000). *Hand sanitizer* juga lebih di rekomendasikan untuk tenaga kesehatan karena *hand sanitizer* mampu mengurangi resiko kulit yang kering akibat terlalu sering mencuci tangan (Shah dkk 2014).

Gel didefinisikan sebagai suatu sistem setengah padat yang terdiri dari suatu dispersi yang tersusun baik dari partikel anorganik yang kecil atau molekul organik yang besar dan saling diresapi cairan. Suatu gel yang makro molekulnya disebarkan keseluruh cairan sampai tidak terlihat ada batas di antaranya disebut gel satu fase. Antiseptik tangan (*hand sanitizer*) dalam bentuk sediaan gel sangat praktis digunakan. Cara pemakaian nya adalah dengan di teteskan pada telapak tangan, kemudian di ratakan pada permukaan tangan tanpa di bilas denga air. (Sari & isadiartuti 2006).

Staphylococcus aureus ATCC 25923 adalah bakteri bersifat gram positif, biasanya tersusun dalam rangkaian yang tidak beraturan seperti buah anggur. Beberapa di antaranya tergolong flora normal pada kulit dan selaput mukosa

manusia, menyebabkan penanahan, abses, berbagai infeksi pirogen dan bahkan septikimia yang fatal. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 mengandung polisakarida dan protein yang berfungsi sebagai anti gen dan merupakan substansi penting dalam struktur dinding sel, tidak membentuk spora dan tidak membentuk flagel (Jewetz *et al.*, 2001).

Penelitian ini menguji aktivitas antibakteri sediaan gel *hand sanitize* dari ekstrak daun stevia untuk meningkatkan efektivitas dan kepraktisannya dalam penggunaan maka dari itu di buat sediaan topical. Alasan bentuk gel di pilih karena rasa dingin di kulit, elastis, daya lekat tinggi yang tidak menyumbat pori sehingga pernafasan pori tidak terganggu, mudah mengering, mudah di cuci dengan air dan kemampuan penyebarannya pada kulit baik, dengan harga yang lebih murah, dan lebih mudah digunakan (Lachman *et al.*, 1994). Pada penelitian ini menggunakan metode difusi, dimana ekstrak daun stevia di uji ektivitasnya bila di buat dalam bentuk sediaan gel, dan pengaruh dari peningkatan konsentersasi dari ekstrak daun stevia yang di formulasi dalam sediaan gel. Bakteri yang digunakan dalam penilitian ini adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

J. Hipotesis

Berdasarkan permasalahan yang ada dapat disusun beberapa hipotesis dalam penelitian ini yaitu:

Pertama, Ekstrak etanol daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) dapat dibuat menjadi sediaan gel *hand sanitizer* yang mempunyai mutu fisik dan stabilitas yang baik.

Kedua, perbedaan konsentrasi 10%, 15%, dan 20% dalam sediaan gel *hand sanitizer* ekstrak etanol daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) memberikan pengaruh terhadap aktivitas bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

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 ekstrak daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) yang di ambil dari daerah Desa Kalisoro, Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah.

2. Sampel

Sampel adalah sebagian kecil dari populasi yang digunakan dalam melakukan penelitian. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah dari ekstrak daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) pada konsentrasi ekstrak 10%, 15%, dan 20% yang dibuat dalam sediaan gel *hand sanitizer*.

B. Variabel penelitian

1. Identifikasi Variabel Utama

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah gel ekstrak daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) berbagai konsentrasi.

Variabel utama kedua dalam penelitian ini adalah aktivitas antibakteri gel ekstrak daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

2. Klasifikasi Variabel Utama

Variabel utama yang telah diidentifikasi dapat diklasifikasikan dalam berbagai macam variabel yaitu variabel bebas, variabel terkendali dan variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variabel yang direncanakan untuk diteliti pengaruhnya terhadap variabel tergantung sedangkan pengertian variabel tergantung dalam penelitian ini adalah pusat persoalan yang merupakan pengaruh selain variabel bebas.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah gel ekstrak daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) dengan konsentrasi 10%, 15%, dan 20%.

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah variabel yang mempengaruhi variabel terikat sehingga perlu ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang diperoleh tidak tersebar dan dapat diulang oleh peneliti secara tepat. Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah ekstrak daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni), formulasi gel, bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, sterilisasi, suhu, kondisi penelitian, kondisi laboratorium, media dan metode penelitian.

Variabel terikat adalah titik pusat permasalahan yang merupakan pilihan dalam suatu penelitian. Variabel terikat dari penelitian ini adalah aktivitas antibakteri gel *hand sanitizer* ekstrak daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 paling optimum.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) yang diambil secara acak dari Desa Kalisoro, Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah, dengan ciri – ciri populasi dan sampel daun stevia yaitu yang segar dan yang tidak berpenyakit.

Kedua, ekstrak daun stevia adalah ekstrak hasil ekstraksi daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) dengan menggunakan metode maserasi.

Ketiga, konsentrasi masing–masing ekstrak daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) yang di formulasikan kedalam sediaan gel adalah 10%, 15%, dan 20%.

Keempat, bakteri uji dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi dengan menggunakan metode difusi.

Kelima, kontrol positif adalah gel *hand sanitizer* merk “DETTOL” antiseptik tangan yang mengandung zat aktif alkohol 60%.

Keenam, uji aktivitas antibakteri gel *hand sanitizer* ekstrak etanol daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) adalah dengan menggunakan metode difusi dan melihat diameter zona hambat pertumbuhan bakteri dalam media uji.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi timbangan, neraca Gram kasar dan Gram halus, gelas ukur, erlenmeyer, corong kaca, ayakan, oven, rotary evaporator vacum, wadah gel, stemfer, dan mortir, cawan Petri, pengaduk kaca, kertas saring, cawan, kertas cakram, jarum Ose, beaker glass, tabung reaksi, dan Bunsen.

2. Bahan

Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) yang tidak terlalu tua dan juga tidak terlalu muda yang diambil dari daerah Desa Kalisoro, Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah.

Bahan kimia yang digunakan antara lain, karbopol, gliserin, trietanolamin, metil paraben, alkohol 70%, cat kristal violet, lugol iodine, etanol aseton, dan H₂O₂ 3%. Media yang digunakan adalah, *Mueller Hinton Agar* (MHA), *Vogel Johnson Agar* (VJA), *Brain Heart Infusion* (BHI), Kalium Tellurit, dan Plasma sitrat.

Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman

Tahap pertama penelitian ini adalah menetapkan kebenaran sampel daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) yang berkaitan dengan ciri – ciri mikroskopis dan makroskopis, serta mencocokkan ciri – ciri morfologis yang ada pada tanaman daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) terhadap kepustakaan yang dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta, Solo, Jawa Tengah.

2. Pengambilan dan pemilihan bahan

Daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) yang di peroleh dari Desa Kalisoro, Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah. Bagian tanaman yang

digunakan untuk mendapatkan ekstrak adalah daun yang tidak terlalu tua dan juga tidak terlalu muda. Daun digunakan dalam keadaan segar tanpa mengering untuk menghasilkan ekstrak yang lebih maksimal.

3. Pengeringan simplisia

Daun stevia disortir dan dicuci dengan menggunakan air mengalir agar kotoran yang menempel pada daun stevia menghilang. Kemudian daun stevia yang telah bersih dioven pada temperatur 50°C sampai kering.

4. Pembuatan serbuk

Simplisia yang sudah dikeringkan kemudian diserbuk dengan alat penyerbuk (Blender), diblender sampai halus kemudian diayak dengan mess no 40 dan disimpan dalam wadah yang kering kemudian ditutup rapat.

5. Penetapan kadar lembab serbuk daun stevia

Penetapan kadar lembab serbuk daun stevia dilakukan menggunakan alat *Moisture balance*. Sebelumnya alat yang akan digunakan ditara terlebih dahulu dengan akurasi dan temperatur sesuai dengan jumlah simplisia yang diujikan. Ditimbang sebanyak 2 gram serbuk daun stevia lalu dimasukkan ke dalam alat tersebut kemudian dicatat hasilnya berupa angka dalam persen yang terdapat pada layar *Moisture balance*. Untuk meminimalisir kesalahan penetapan kadar air dilakukan sebanyak dua kali. Adapun syarat kadar lembab yaitu tidak lebih dari 10% (Badan POM RI 2004).

6. Pembuatan ekstrak kental daun stevia

Daun stevia yang telah menjadi serbuk dilanjutkan dengan proses maserasi dengan perbandingan 1:10 yaitu 1 kg serbuk : 10 liter pelarut. pertama direndam dalam etanol 70% menggunakan botol tertutup berwarna gelap minimal selama 3 hari perbandingannya 1 : 7,5. Setelah 5 hari di cuci dengan sisa pelarut yaitu 2,5. Hasil maserasi di saring dengan corong *Buchner* sehingga didapatkan filtrat dan residu kemudian filtrat dipekatkan dengan menggunakan alat *rotary evaporator* pada suhu tidak lebih dari 50°C, sehingga pelarut etanol terpisah dengan ekstrak tumbuhan dan didapatkan ekstrak kental. Hasil akhir berupa ekstrak kental daun stevia dengan konsentrasi 100%. Ekstrak kental yang diperoleh kemudian dimasukkan kedalam botol steril.

7. Uji bebas alkohol ekstrak kental daun stevia

Uji bebas alkohol ekstrak etanol daun stevia dilakukan untuk mengetahui bahwa ekstrak yang akan digunakan untuk penelitian benar – benar bebas dari etanol, karena diketahui mempunyai aktifitas antiseptik yang dapat membunuh bakteri. Uji ini dilakukan dengan cara ekstrak diteteskan pada tabung reaksi kemudian ditambahkan reagen H_2SO_4 pekat dan CH_3OOH lalu dipanaskan. Hasil uji bebas etanol dari ekstrak tersebut ditandai dengan tidak adanya bau ester yang khas dari etanol.

8. Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun stevia

Identifikasi kandungan kimia yang dimaksud adalah untuk menetapkan kebenaran kandungan kimia yang terkandung dalam serbuk dan ekstrak daun stevia. Identifikasi yang dilakukan berupa identifikasi senyawa alkaloid, fenol, flavonoid, saponin, tannin yang terkandung dalam ekstrak daun stevia. Pengujian fitokimia sebagai berikut:

8.1 Identifikasi senyawa alkaloid. Ekstrak etanol daun stevia dibasakan dengan larutan ammonia 10%, larutan basa diekstraksi dengan kloroform, ekstrak kloroform diasamkan dengan HCL 1N, kemudian asam dipisahkan dengan filtrat diuji dengan preaksi dragen dorf, endapan putih atau kuning menyatakan adanya alkaloid (Depkes 1978) .

8.2 Identifikasi golongan senyawa fenol. Ekstrak etanol daun stevia dimasukkan kedalam tabung reaksi, selanjutnya ditambahkan pereaksi FeCl_3 dalam larutan etanol, hasil positif ditunjukkan dengan adanya warna hijau, merah ungu, biru dan hitam (Habrone 1987).

8.3 Identifikasi senyawa flavonoid. Ekstrak etanol daun stevia dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi butiran logam Mg dan larutan HCL 2N, campuran ini dipanaskan selama 5-10 menit, setelah dingin dan disaring, dalam filtrat ditambahkan amil alkohol, dikocok kuat, warna merah atau jingga pada lapisan amil alkohol menunjukkan adanya flavonoid (Depkes 1978).

8.4 Identifikasi golongan senyawa saponin. Sejumlah tertentu ekstrak ditambah dengan air panas 10 ml, didinginkan lalu dikocok selama 10 detik. Kemudian didiamkan selama 10 menit. Saponin positif bila muncul buih yang

tinggi 1 – 10 cm. Pada penambahan satu tetes asam klorida 2N buih tidak hilang (Robinson 1995).

8.5 Identifikasi senyawa tannin. Sejumlah ekstrak ditambah 20 ml air panas kemudian dididihkan selama 15 menit, setelah dingin disaring. Sebanyak 5 ml filtrate dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan pereaksi larutan besi (III) klorida 1%. Jika tannin positif maka akan terbentuk warna hijau violet setelah direaksikan dengan larutan besi (III) klorida (Depkes 1995).

9. Sterilisasi

Media dan alat – alat gelas seperti beker glass dan gelas ukur yang digunakan dalam penelitian ini disterilkan terlebih dahulu dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit, sedangkan alat seperti jarum Ose disterilkan dengan pemanasan api langsung dan inkas disterilkan dengan menggunakan formalin (Suriawiria 2005).

10. Formula gel

Tabel 2. Formula Standar Antibacterial Hand Gel with Triclosan (Lubrizol 2010)

	INCI Name, Trade Name	Weight %	Function
A	1. Deionized Water	46,40	Diluent
	2. Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer, Carbopol Ultrez 20 Polymer	0,50	Rheology Modifer
B	3. Alcohol, Ethyl Alcohol, 200 Proof, Absolute	50,00	Solvet
	4. Triclosan	0,30	Antimicrobial Agent
	5. Glycerin	2,00	Humectant
	6. Triethanolamin (99%)	0,80	Neutralizer

Tabel 3. Rancangan Formula Gel Antiseptik Tangan yang telah Dimodifikasi

Bahan	Satuan	Kontrol basis	F1	FII	FII
Ekstrak Daun Stevia	%	-	10	15	20
Karbopol	g	0,50	0,50	0,50	0,50
Gliserin	ml	2,00	2,00	2,00	2,00
Trietanolamin	ml	1,00	1,00	1,00	1,00
Metil Paraben	g	0,10	0,10	0,10	0,10
Aquadest ad	ml	100	100	100	100

11. Pembuatan Sediaan Gel

Cara pembuatan gel adalah karbopol dimasukan ke dalam air, ditambahkan trietanolamin (TEA) untuk mengembangkan karbopol di dalam mortir panas, yang sebelumnya dipanaskan dengan diberi air panas. Di dalam wadah terpisah, metil paraben dilarutkan dalam akuades yang telah dipanaskan hingga larut kemudian

dimasukan kedalam karbopol yang sudah dikembangkan. Ekstrak daun stevia yang telah dilarutkan dengan gliserin, kemudian dimasukan ke dalam campuran sebelumnya. Diaduk hingga terbentuk massa gel yang kental, jernih dan homogen, dimasukkan dalam wadah yang cocok dan tertutup rapat.

12. Pembuatan Kontrol

12.1 Kontrol negatif. Kontrol negatif yang digunakan adalah gel yang tidak mengandung ekstrak daun stevia.

12.2 Kontrol Positif. Kontrol positif yang digunakan adalah gel hand sanitizer merk “DETTOL” antiseptik tangan yang mengandung zat aktif alkohol 60%.

13. Pengujian sifat fisik sediaan gel

13.1 Uji organoleptik. Uji organoleptik meliputi pemeriksaan konsistensi, warna, dan bau dari gel.

13.2 Uji homogenitas. Mengoleskan 3 bagian atas, tengah, dan bawah gel pada kaca transparan, homogen bila tidak terdapat butiran-butiran kasar pada sediaan. Uji dilakukan pada minggu pertama dan ketiga (Sayuti 2005).

13.3 Uji pH gel. Stik pH meter dicelupkan kedalam masing-masing gel yang telah diencerkan, dengan menimbang 10 Gram gel *hand sanitizer* dan dilarutkan 50 ml aquades. Pengujian dilakukan pada minggu pertama dan ketiga (Sayuti 2005).

13.4 Uji viskositas gel. Penetapan viskositas gel dilakukan dengan menggunakan viskometer VT-04 yang telah dikalibrasi untuk VT-04 adalah desipaskal detik (d-pas). Pengujian dilakukan pada minggu pertama dan ketiga (Sayuti 2005).

13.5 Uji daya lekat gel. Gel diletakan di obyek yang telah ditentukan luasnya. Gelas obyek yang telah diletakan di atas gel tersebut dan ditekan dengan beban 1 kg selama 15 menit, kemudian gelas obyek dipasangkan pada alat tes. Selanjutnya beban seberat 80 gram dilepaskan dan dicatat waktunya sehingga kedua gelas obyek tersebut terlepas. Masing – masing percobaan direplikasi 3 kali untuk setiap gel yang diperiksa. Uji dilakukan pada minggu pertama dan setelah penyimpanan selama 3 minggu

13.6 Uji daya sebar gel. Pengujian daya sebar gel dilakukan dengan alat ekstensometer, $\pm 0,5$ gram diletakan di tengah alat (kaca bulat), kaca bulat bagian atas ditimbang terlebih dahulu dan diletakan 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 gel yang menyebar seperti sebelumnya. Cara diatas diulangi untuk setiap formula gel yang diperiksa masing – masing 3 kali. Uji dilakukan pada minggu pertama dan setelah penyimpanan selama 3 minggu.

13.7 Uji stabilitas sediaan 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).

14. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

14.1 Identifikasi mikroorganisme secara isolasi. Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 diinokulasi pada media *Vogel Johnson Agar* (VJA) yang telah di tetesi 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 (Jawet *et al.*, 2007).

14.2 Identifikasi morfologi secara 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 sarfianian 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 selama kurang lebih 1 menit. Cuci dengan aquadestilata mengalir dan dikeringkan anginkan, preparat dilunturkan dengan Gram C didiamkan selama kurang lebih 30 detik, dicuci dengan aquadestilata mengalir kemudian ditetesi

Gram D dan didiamkan 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.

14.3 Identifikasi fisiologi secara biokimia. Identifikasi secara fisiologi ada dua cara yaitu uji katalase dan koagulase.

14.3.a Uji koagulase. Uji koagulase dapat dilakukan dengan cara menginokulasikan koloni bakteri *Stapyococcs aureus* ATCC 25923 ke dalam BHI 10 ml kemudian diinkubasi selama 18 – 24 jam pada suhu 37°C. Inokulum tersebut dipindahkan sejumlah 0,2 - 0,3 ml ke dalam tabung reaksi yang sudah disterilkan kemudian ditambahkan 0,5 ml koagulase plasma kemudian di aduk dan diinkubasi pada suhu 37°C. Diamati tiap jam sampai empat jam pertama dan dilanjutkan sampai 24 jam. Hal ini dimaksudkan untuk melihat atau mengecek koagulan yang terbentuk. Koagulan yang terbentuk secara padat atau solid serta tidak jatuh apabila tabung dibalik dinyatakan positif bahwa bakteri tersebut memang *Stapyococcs aureus* ATCC 25923.

14.3.b Uji katalase. Suspensi bakteri uji ditanam pada media *Vogel Johnson Agar* (VJA) kemudian diinkubasi selama 24 jam dan suhu 37°C, lalu ditambahkan 2-3 tetes H₂O₂ 3%. Hasil positif ditandai dengan adanya gelembung udara *Stapyococcs aureus* ATCC 25923 mempunyai katalase. Penambahan H₂O₂ akan terurai menjadi 2H₂ dan O₂, hal ini ditandai dengan timbulnya gelembung udara.

15. Pembuatan suspensi bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

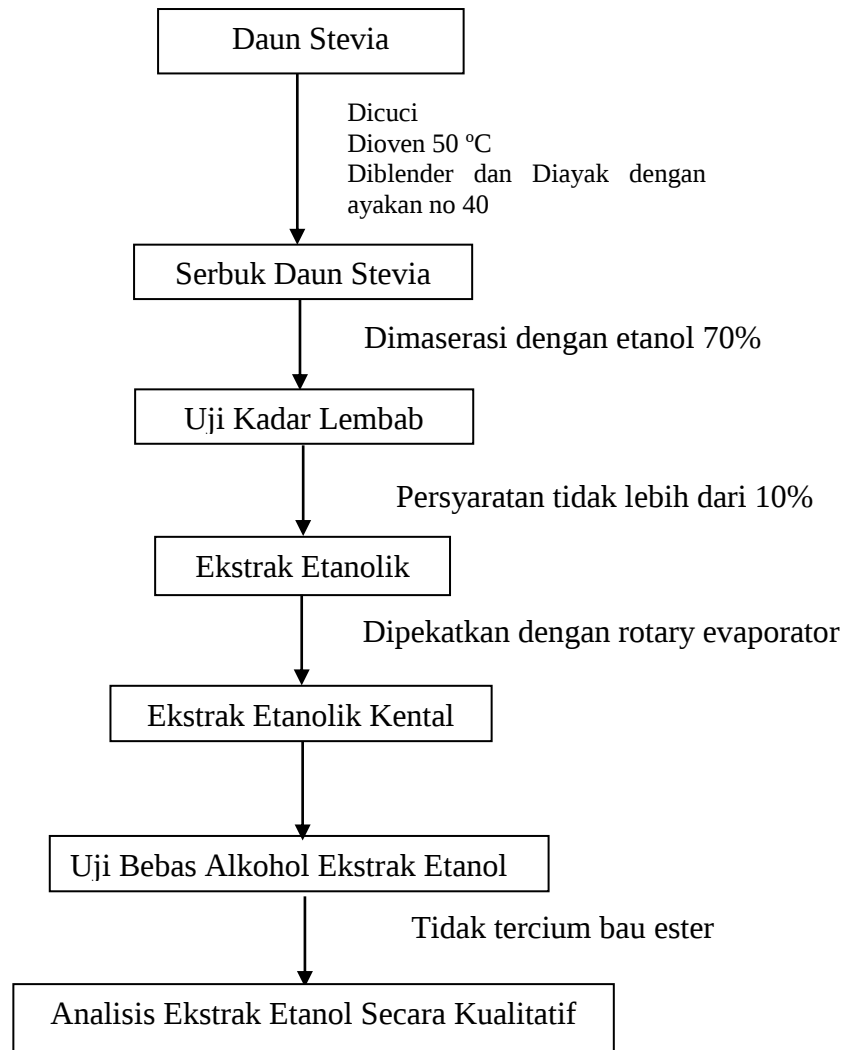
Pembuatan suspensi untuk difusi dengan mengambil biakan murni kurang lebih 2 Ose bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Suspensi dibuat dalam tabung yang berisi media *Brain Heart Infusion* (BHI) dan kekeruhannya disesuaikan dengan kekeruhan standar Mc Farland 0,5 setara dengan jumlah $1,5 \times 10^8$ 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.

16. Pengujian aktivitas antibakteri

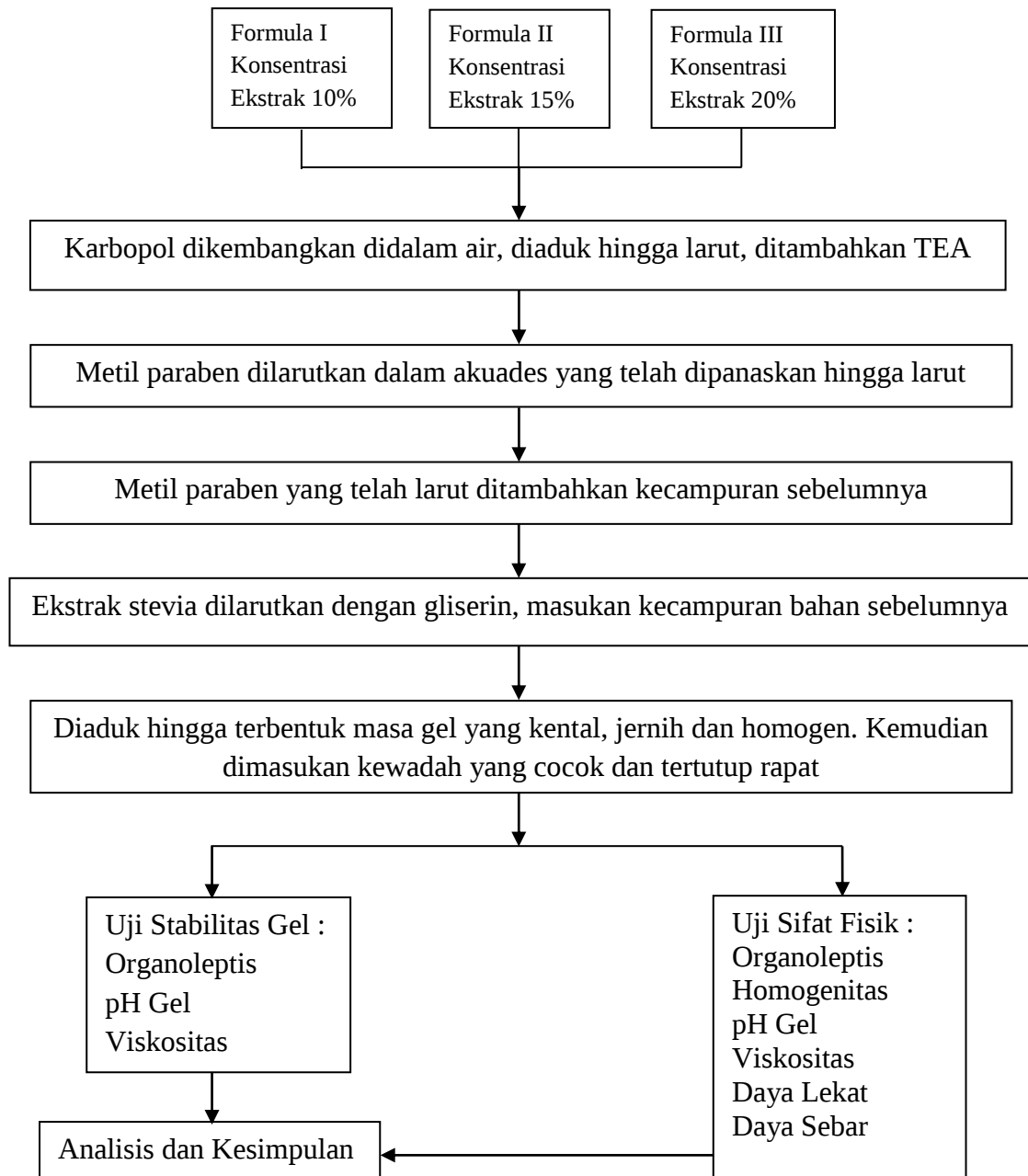
Metode yang digunakan untuk uji daya antibakteri adalah metode difusi. Metode difusi digunakan untuk mengetahui adanya daya hambat terhadap bakteri dan untuk menentukan diameter daerah hambat dari gel ekstrak daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) dengan konsentrasi 10%, 15%, dan 20% dibuat 5 sumuran dengan menggunakan boorprop pada media yang berisi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Sumuran 1 diisi gel ekstrak daun stevia (*Stevia Rebaudiana* Bertoni) dengan konsentrasi 5%, sumuran 2 diisi gel ekstrak daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) dengan konsentrasi 10%, sumuran 3 diisi gel ekstrak daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) dengan konsentrasi 15%, sumuran 4 diisi kontrol positif gel *hand sanitizer* merk “DETTOL”, sumuran 5 diisi kontrol negatif gel tanpa ekstrak daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni), masing – masing sumuran di isi sebanyak 50 μ L dan di buat 3 kali pengujian. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Dilakuan pengamatan terhadap penghambatan bakteri (Diameter zona hambat).

E. Analisis Hasil

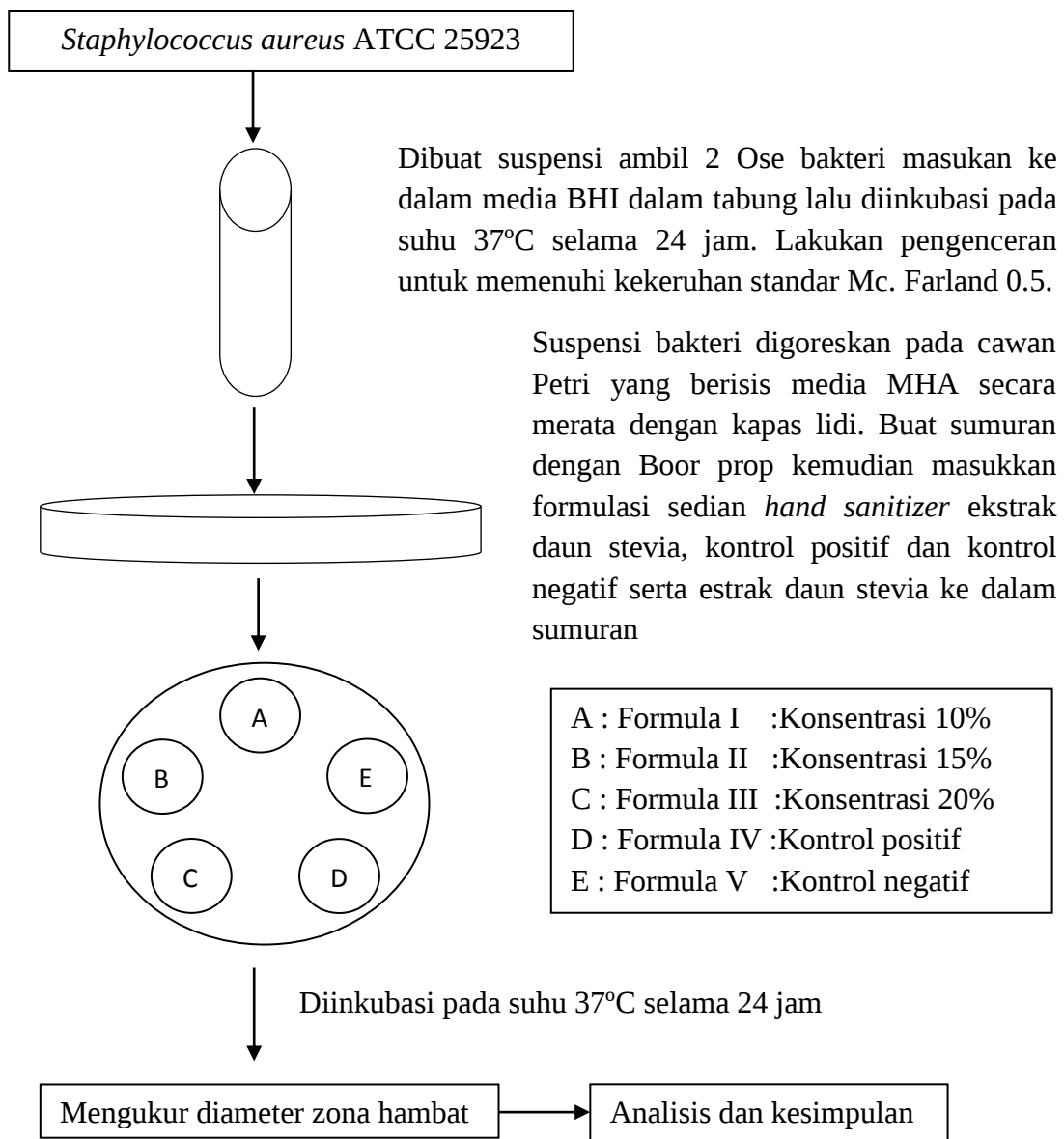
Data penelitian yang didapat berupa viskositas, pemeriksaan pH, daya sebar, daya lekat, stabilitas, dan uji antibakteri. Data hasil penelitian tersebut dianalisa dengan menggunakan *One Sample Kolmogorov Smirnov* dan *Two Way Anova* dengan program SPSS for windows.

F. Skema Penelitian

Gambar 7. Ekstraksi daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni)



Gambar 8. Skema pembuatan gel *hand sanitizer* ekstrak etanol daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni)



Gambar 9. Skema pengujian aktivitas antibakteri gel *hand sanitizer* ekstrak daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara difusi.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

1. Determinasi tanaman dan deskripsi tanaman stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni).

1.1 Hasil determinasi tanaman stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni).

Determinasi merupakan langkah awal yang harus dilakukan sebelum menggunakan bahan tanaman untuk penelitian. Determinasi tanaman dimaksudkan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang diambil, menyesuaikan morfologi tanaman dan bertujuan untuk menghindari kesalahan pengumpulan tanaman yang akan digunakan untuk penelitian. Determinasi dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Sebelas Maret Surakarta. Hasil kunci determinasi tanaman menurut C.A. Backer & R.C Bkhuizen van den Brink, Jr. (1963:1965) dan she *et al.* (2005) sebagai berikut :

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23a_____166.
Asteraceae 1b-3a-4b-5b-23b-28a-29b_____11. Stevia
1_____ *Stevia rebaudiana* Bertoni

1.2 Hasil deskripsi tanaman stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni).

Habitus : herba atau semak kecil, tumbuh tegak, tinggi 60 – 90 cm. Akar : tunggang, putih kotor atau putih kekuningan. Batang : bulat, berkayu, agak lunak, bercabang banyak, beruas, permukaan berbulu halus, warna hijau. Daun : tunggal, berhadapan hingga berseling, bertangkai pendek, bentuk bulat telur sampai lonjong, panjang 9 – 25 cm, tepi bergerigi, ujung runcing, pertulangan daun menyirip, permukaan atas berwarna hijau muda mengkilat, permukaan berbulu halus. Bunga : Biseksual, majemuk, bentuk capitulum, terletak diujung batang atau ketiak daun, terdiri atas 4-5 bunga kecil, panjang 15-17 mm, dilindungi oleh daun pembalut (involukrum); daun pembalut bentuk silindris atau memanjang, sempit, berjumlah 10-20; mahkota bunga berbentuk tabung, daun

mahkota berjumlah 5, permukaan berambut halus, warna putih di bagian luar, putih keunguan di bagian dalam terutama di bagian kerongkongan tabung mahkota; benang sari melekat di dasar tabung mahkota, berjumlah 5, ujung kepala sari tumpul; kepala putik bercuping dua, warna putih; bakal buah tenggelam. Buah : achenes, silindris memanjang, kecil, kering, bersudut 5. Biji : kecil, 3 mm, warna coklat gelap atau hitam.

2. Pemilihan daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni).

Daun stevia yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari petani di desa Kalisoro, Tawangmangu, Karangayar, Jawa tengah dalam keadaan masih segar. Daun segar yang telah di sortir dari batang sehingga di dapat daun murni kemudian di cuci dengan menggunakan air mengalir untuk menghilangkan kotoran dan zat lain yang tidak dibutuhkan. Bobot daun segar yang digunakan dalam penelitan ini adalah 9300 gram daun murni setelah pensortiran dari 20 kg daun beserta batangnya.

3. Pengeringan daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni).

Serbuk daun stevia diperoleh dari daun stevia segar yang berwarna hijau dengan bobot basah 9300 gram. Daun stevia basah kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C selama 4 hari sehingga didapatkan bobot kering daun stevia sebanyak 1450 gram. Hasil rendemen yang diperoleh adalah 15,60%. Hasil perhitungan rendemen serbuk daun stevia dapat di lihat pada lampiran 3.

Tabel 4. Rendemen serbuk daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni).

Berat basah	Berat kering	Persentase rendemen
9300 (gram)	1450 (gram)	15,60 %

4. Pembuatan serbuk (*Stevia rebaudiana* Bertoni).

Daun stevia yang sudah kering diserbuk dengan menggunakan mesin penggiling. Tujuan dilakukannya penyerbukan adalah untuk memperluas luas permukaan sehingga memudahkan simplisia untuk larut dalam zat penyari. Hasil penyerbukan simplisia sebanyak 1350 gram. Serbuk yang sudah digiling kemudian diayak dengan menggunakan mess no 40. Tujuan dilakukannya pengayakan agar didapatkan ukuran serbuk yang seragam sehingga pelepasan zat

aktifnya merata. Hasil pengayakan serbuk yang didapatkan yaitu 1300 gram serbuk halus.

Tabel 5. Rendemen serbuk terhadap berat daun kering

Berat kering	Berat serbuk	Persentase rendemen
1450 (gram)	1300(gram)	89,65 %

5. Identifikasi serbuk stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni).

5.1 Pemeriksaan organoleptis serbuk. Pemeriksaan organoleptis serbuk berupa pemeriksaan bentuk, warna, bau, dan rasa dari serbuk daun stevia. Hasil pemeriksaan organoleptis daun stevia dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 6. Pemeriksaan organoleptis serbuk daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni).

Jenis pemeriksaan	Hasil	Pustaka (Dian Kartikasari 2017)
Bentuk	Serbuk	Serbuk
Warna	Hijau	Hijau kecoklatan
Bau	Khas	Khas
Rasa	Manis	Manis

5.2 Penetapan kadar lembab serbuk. Kadar lembab serbuk daun stevia diukur dengan menggunakan alat *moisture balance*. Pemeriksaan ini ditujukan agar mengetahui kandungan lembab daun stevia yang berpengaruh terhadap kualitas serbuk. Jika kadar lembab tinggi dapat memudahkan tumbuhnya jamur dan organisme aerob lainnya. Kadar lembab serbuk yang baik adalah tidak lebih dari 10% (Badan POM RI 2004).

Tabel 7. Penetapan kandungan lembab serbuk daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni).

Serbuk	Penimbangan	Kandungan lembab serbuk
Daun stevia	2,0 gram	2,9 %
	2,0 gram	1,9 %
	2,0 gram	2,5 %
Rata – rata		2,4 %

Hasil penentuan kadar lembab serbuk daun stevia setelah diukur menggunakan *moisture balance* adalah 2,4 % dengan suhu 115°C selama kisaran waktu ± 8 menit. Hasil kadar lembab serbuk daun stevia ini memenuhi syarat yakni kadarnya tidak lebih dari 10%.

6. Pembuatan ekstrak etanol daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni)

Pembuatan ekstrak etanol daun stevia ini menggunakan bahan serbuk daun stevia yang sudah di haluskan dan telah diuji kadar airnya. Pembuatan ekstrak

etanol ini menggunakan metode ekstraksi yakni metode maserasi. Maserasi dipilih sebagai metode ekstraksi karena metodenya cukup sederhana, peralatan yang digunakan juga sederhana, mudah dilakukan dan metode ini cocok untuk senyawa yang mudah rusak dengan pemanasan. Pada penelitian ini pelarut yang digunakan adalah etanol 70% karena etanol merupakan pelarut universal, etanol juga lebih murah dibandingkan dengan pelarut lainnya, mudah di dapat dan selektifitasnya tinggi. Pemilihan konsentrasi pelarut etanol 70% dikarenakan etanol 70% lebih bersifat polar dibandingkan pelarut etanol 95% atau etanol 96%, untuk mengekstraksi senyawa seperti flavonoid, alkaloid, tannin yang bersifat polar maka digunakan pelarut yang bersifat polar juga yakni etanol 70%.

Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk halus daun stevia dengan menggunakan etanol 70% dalam botol maserasi berwarna gelap untuk menghindari terjadinya oksidasi oleh cahaya matahari. Botol maserasi kemudian digojog 3 kali dalam sehari agar tidak terjadi pengendapan dan partikel serbuk dapat bersentuhan langsung dengan pelarut. Proses maserasi dilakukan selama 5 hari, setelah 5 hari maserat kemudian disaring lalu diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak yang didapat dari hasil penguapan dengan *rotary evaporator* belum terlalu pekat, sehingga pemekatan ekstrak dilakukan pada oven suhu 50°C. Data rendemen ekstrak dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Rendemen ekstrak etanol daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni).

Serbuk daun stevia (g)	Ekstrak kental (g)	Rendemen (%)
1000	227,22	22,72%

7. Uji bebas alkohol daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni).

Uji bebas alkohol dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya kandungan alkohol didalam ekstrak etanol daun stevia. Diketahui bahwa alkohol memiliki aktivitas sebagai antibakteri, hal ini dapat mempengaruhi konsentrasi hambat ekstrak etanol daun stevia terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, oleh karena itu perlu dilakukan uji bebas alkohol untuk mengetahui bahwa efek yang ditimbulkan oleh sediaan *hand sanitizer* dalam penelitian ini berasal dari ekstrak etanol daun stevia yang sudah bebas alkohol. Uji bebas alkohol dilakukan dengan uji esterifikasi. Hasil uji bebas alkohol ekstrak etanol daun

stevia ini dinyatakan tidak mengandung alkohol karena tidak tercium bau ester yang khas saat dilakukan pemanasan.

Tabel 9. Uji bebas alkohol ekstrak kental daun stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni).	
Pustaka	Hasil uji
Positif bila tercium bau ester yang khas (Depkes 1978)	Tidak tercium bau ester yang khas

8. Identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni).

Identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol daun stevia dilakukan dengan menggunakan pereaksi kimia atau sering disebut dengan reaksi tabung. Kandungan kimia yang diidentifikasi pada penelitian ini adalah alkaloid, fenol, flavonoid, saponin dan tannin. Berdasarkan hasil uji identifikasi reaksi tabung ekstrak etanol daun stevia positif mengandung alkaloid, fenol, flavonoid, saponin dan tannin. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol daun stevia dapat dilihat pada lampiran dan tabel 10.

Tabel 10. Identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni).

No	Nama senyawa	Pustaka	Hasil uji
1	Alkaloid	Terdapat endapan putih atau kuning menyatakan adanya alkaloid (Depkes 1978) .	terbentuk endapan putih kekuningan
2	Fenol	Terdapat warna hijau, merah ungu, biru dan hitam (Habrone 1987).	Terbentuk warna hijau
3	Flavonoid	terdapat warna merah atau jingga pada lapisan amil alkohol menunjukkan adanya flavonoid (Depkes 1978).	Terbentuk warna merah pada lapisan amil alkohol
4	Saponin	Terdapat buih tidak hilang (Robinson 1995).	Terbentuk busa yang stabil
5	Tannin	Terdapat warna hijau violet setelah direaksikan dengan larutan besi (III) klorida (Depkes 1995).	Terbentuk warna hijau violet

9. Pengujian sediaan fisik gel *hand sanitizer* ekstrak etanol daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni).

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

9.1 Organoleptis. Pemeriksaan organoleptis dilakukan untuk mendeskripsi warna, bau, dan konsistensi dari sediaan gel. Sediaan yang dihasilkan sebaiknya memiliki warna yang menarik, bau yang menyenangkan, dan konsistensi yang bagus agar nyaman dalam penggunaan. Hasil yang di peroleh terhadap pemeriksaan organoleptis gel dapat dilihat pada tabel 11.

Tabel 11. Organoleptis formula gel *hand sanitizer* ekstrak daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) dengan berbagai konsentrasi ekstrak etanol.

Pemeriksaan	Waktu	Formula 1	Formula II	Formula III
Warna	Minggu 0	HK	HK	HK
	Minggu 3	HK	HK	HK
Bau	Minggu 0	***	***	***
	Minggu 3	**	**	**
Konsistensi	Minggu 0	+++	+++	++
	Minggu 3	+++	+++	++

Keterangan:

HK : Hijau kecoklatan

*** : Menunjukkan bau khas yang lebih intensif

** : Menunjukkan bau khas yang sudah berkurang

++ : Menunjukkan konsistensi gel yang agak kental

+++ : Menunjukkan konsistensi gel yang kental

Formula I : Gel ekstrak etanol daun stevia 10%

Formula II : Gel ekstrak etanol daun stevia 15%

Formula III : Gel ekstrak etanol daun stevia 20%

Tabel 11 menunjukkan bahwa dari minggu pertama sampai minggu ketiga gel mengalami warna hijau kecoklatan hal ini dikarenakan pencampuran ekstrak yang berwarna hijau kecoklatan dan bahan gel berwarna bening yang disertai pengadukan secara terus menerus pada saat pembuatan.

Gel yang dihasilkan menunjukkan bahwa pada penyimpanan minggu pertama memiliki bau khas yang tinggi, tetapi setelah penyimpanan selama 3 minggu bau khas berkurang, hal ini kemungkinan disebabkan ekstrak etanol daun stevia tidak dapat bertahan lama dalam campuran basis yang jumlahnya lebih besar.

Konsistensi yang dihasilkan dari setiap formula berbeda – beda. Hal ini disebabkan karena kandungan ekstrak etanol daun stevia dalam setiap formula berbeda – beda. Konsistensi pada formula I paling kental karena kandungan ekstrak etanol daun stevia paling kecil dari pada formula lainnya yaitu 10% gel dengan basis air (hidrogel). Konsistensi formula II kental karena kandungan

ekstrak etanol daun stevia 15% gel dengan basis air (hidrogel), sedangkan konsistensi formula III agak kental dikarenakan kandungan ekstrak Etanol paling banyak di antara ketiga formula yaitu dengan konsentrasi 20%. Semakin besar kandungan ekstrak etanol daun stevia yang digunakan menghasilkan gel dengan konsistensi semakin encer.

9.2 Uji homogenitas. Uji homogenitas sediaan dimaksudkan untuk mengetahui apakah ekstrak etanol daun stevia dalam sediaan sudah homogen atau belum. Hasil 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.

Tabel 12. Homogenitas sediaan gel *hand sanitizer* ekstrak etanol daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) dengan berbagai konsentrasi ekstrak etanol.

Formula	Minggu 0	Minggu 3
Formula I	Homogen	Homogen
Formula II	Homogen	Homogen
Formula III	Homogen	Homogen

Keterangan :

Formula I : gel ekstrak etanol daun stevia 10%

Formula II : gel ekstrak etanol daun stevia 15%

Formula III : gel ekstrak etanol daun stevia 20%

Setelah melakukan uji homogenitas gel ekstrak etanol daun stevia hasil pengamatan gel menunjukkan bahwa ketiga formula gel ekstrak etanol daun stevia memiliki homogenitas yang baik karena tidak ditemukan partikel yang memisah pada saat pengamatan dengan mikroskop dengan perbesaran 10x , fase terdispersi terdistribusi merata pada fase pendispersi. Uji homogenitas 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.

9.3 Uji pH. Uji ini dilakukan untuk mengetahui apakah kadar pH sediaan gel memenuhi persyaratan untuk sediaan topikal. Hasil penentuan pH sediaan gel dengan menggunakan pH meter dapat dilihat pada tabel 13.

Tabel 13. Pemeriksaan pH gel *hand sanitizer* ekstrak etanol daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) dengan berbagai konsentrasi ekstrak etanol.

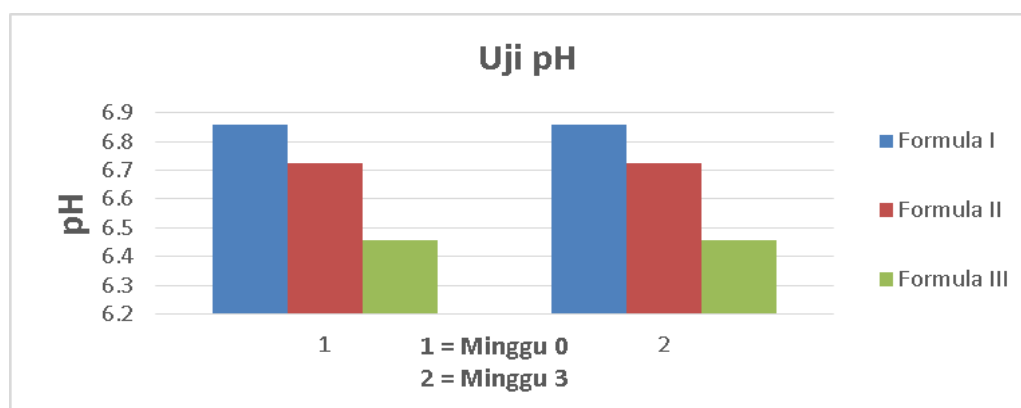
Waktu pemeriksaan	Formula I	Formula II	Formula III
Minggu 0	6,86	6,73	6,46
Minggu 3	6,70	6,69	6,48

Keterangan :

Formula I : gel ekstrak etanol daun stevia 10%

Formula II : gel ekstrak etanol daun stevia 15%

Formula III : gel ekstrak etanol daun stevia 20%



Gambar 10. Histogram uji pH gel *hand sanitizer* ekstrak etanol daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni).

Hasil pengamatan uji pH gel ekstrak etanol daun stevia pada tabel 14 menunjukkan bahwa pada penyimpanan selama 3 minggu atau 21 hari, sediaan gel mengalami penurunan dan kenaikan pH. Kemungkinan disebabkan oleh pengaruh lingkungan seperti gas-gas di udara yang bersifat asam dan masuk ke dalam gel, akan tetapi penurunan dan kenaikan pH yang terjadi pada setiap formula tidak ada perbedaan kenaikan dan penurunan yang bermakna sehingga dapat disimpulkan bahwa pH sediaan gel ini relatif stabil pada penyimpanan. Berdasarkan hasil penelitian diketahui pH sediaan dalam rentang 6,46 – 6,86 . Maka dari hasil penelitian ini pH tersebut memenuhi persyaratan pH sediaan yaitu 5,0 – 6,8 (Ansari 2009). Sedangkan pada kulit normal yang memiliki pH 5,0 – 6,8 sehingga sediaan topikal harus memiliki pH yang sama dengan pH normal kulit. Kesesuaian pH kulit dengan pH sediaan topikal dapat mempengaruhi penerimaan kulit terhadap sediaan. Sediaan topikal yang ideal adalah tidak mengiritasi kulit dan tidak bersifat toksik maka tidak menimbulkan bahaya saat digunakan. Kemungkinan iritasi kulit akan sangat besar dampaknya apabila sediaan topikal

terlalu asam atau pun terlalu basa, maka karena hal ini lah pH sediaan topikal harus memenuhi persyaratan.

9.4 Uji viskositas. 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 gel yang terlalu encer akan menurunkan daya lekat gel pada kulit sehingga efektivitas penghantaran zat aktif menjadi rendah, sedangkan apabila viskositas sediaan terlalu kental dapat memberikan ketidaknyamanan saat sediaan digunakan. Hasil uji viskositas gel ekstrak etanol daun stevia dapat dilihat pada tabel 14.

Tabel 14. Uji viskositas sediaan gel *hand sanitizer* ekstrak etanol daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) dengan berbagai konsentrasi ekstrak etanol.

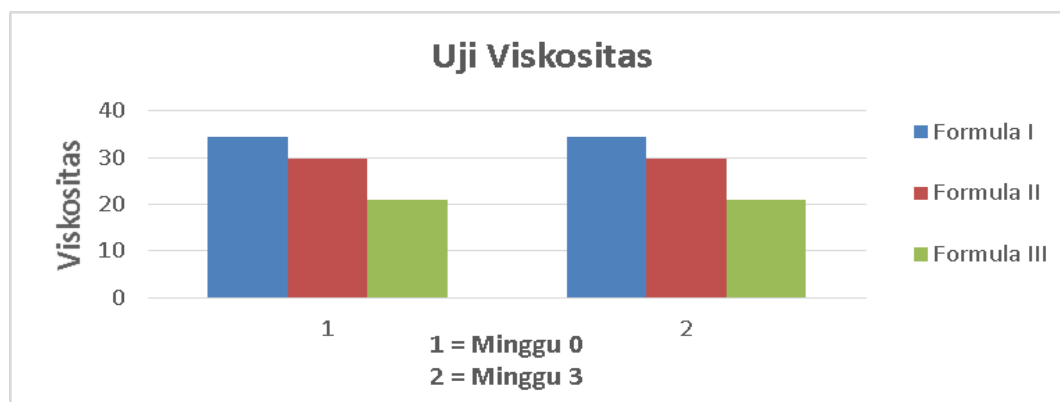
Waktu pemeriksaan	Viskositas (d Pas)		
	Formula I	Formula II	Formula III
Minggu 0	34,3±0,58	29,7±0,58	21±1
Minggu 3	24,7±1,15	22±1	12,7±1,53

Keterangan :

Formula I : gel ekstrak etanol daun stevia 10%

Formula II : gel ekstrak etanol daun stevia 15%

Formula III : gel ekstrak etanol daun stevia 20%



Gambar 11. Histogram uji viskositas gel *hand sanitizer* ekstrak etanol daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni).

Setelah melakukan uji viskositas pada berbagai formula dengan konsentrasi yang berbeda dalam rentang waktu pengujian yang berbeda maka di dapat hasil yang menunjukkan bahwa formula 1 lebih kental dari pada formula 2 dan 3. Konsentrasi ekstrak etanol daun stevia dengan konsentrasi 10% dan 15% menghasilkan gel dengan viskositas yang besar. Sedangkan gel ekstrak etanol

daun stevia konsentrasi 20% menghasilkan viskositas yang encer atau viskositas kecil. Hasil pengamatan terhadap viskositas gel menunjukkan bahwa viskositas dari ketiga formula dari minggu ke minggu cenderung menurun. Penurunan viskositas tersebut dapat disebabkan karena pengaruh suhu selama penyimpanan di ruangan. Dapat disebabkan adanya kenaikan suhu akan memperbesar jarak antara atom sehingga gaya antara atom akan berkurang. Jarak menjadi renggang mengakibatkan viskositas sediaan menjadi turun. Viskositas suatu sediaan berpengaruh pada luas penyebarannya, semakin rendah viskositas suatu sediaan maka penyebarannya akan semakin besar sehingga kontak antara obat dengan kulit semakin luas dan absorpsi obat ke kulit akan semakin cepat (Maulidaniar dkk, 2011)

9.5 Uji daya sebar. Uji daya sebar dilakukan untuk mengetahui kemampuan basis menyebar pada permukaan kulit ketika diaplikasikan. Gel yang baik adalah gel yang memiliki daya sebar paling luas, mudah dicuci dan diabsorpsi dengan baik oleh kulit sehingga kontak antara zat aktif dengan kulit semakin bagus. Syarat daya sebar sediaan gel yang baik yaitu 5 – 7 cm (Nutrisia 2015). Hasil uji daya sebar dapat dilihat pada tabel 15.

Tabel 15. Pengukuran daya sebar gel *hand sanitizer* ekstrak etanol daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) dengan berbagai konsentrasi ekstrak etanol.

Formula	Beban (g)	Luas penyebaran ($\text{cm}^2 \pm \text{SD}$)	
		Minggu 0	Minggu 3
Formula I	49,293	5,59 $\pm$ 0,03	5,73 $\pm$ 0,03
	99,293	5,84 $\pm$ 0,02	5,98 $\pm$ 0,04
	149,293	6,12 $\pm$ 0,11	6,42 $\pm$ 0,02
	199,293	6,96 $\pm$ 0,01	7,08 $\pm$ 0,04
Formula II	49,293	6,06 $\pm$ 0,02	6,23 $\pm$ 0,02
	99,293	6,38 $\pm$ 0,2	6,75 $\pm$ 0,04
	149,293	6,68 $\pm$ 0,02	7,12 $\pm$ 0,01
	199,293	7,30 $\pm$ 0,02	7,65 $\pm$ 0,01
Formula III	49,293	7,38 $\pm$ 0,01	7,58 $\pm$ 0,02
	99,293	7,79 $\pm$ 0,01	7,88 $\pm$ 0,02
	149,293	8,36 $\pm$ 0,01	8,57 $\pm$ 0,02
	199,293	8,83 $\pm$ 0,02	9,01 $\pm$ 0,03

Keterangan :

Formula I : gel ekstrak etanol daun stevia 10%
 Formula II : gel ekstrak etanol daun stevia 15%
 Formula III : gel ekstrak etanol daun stevia 20%

Setelah dilakukan uji daya sebar maka didapatkan hasil data yang menunjukkan bahwa semakin besar konsentrsi ekstrak etanol, makan semakin besar daya sebar, karena besarnya konsentrasi ekstrak etanol didalam gel menyebabkan konsistensi gel menjadi semakin encer, sehingga lebih mudah menyebar dan menyebabkan daya sebar yang semakin besar. Daya sebar yang semakin baik menyebabkan kontak antara obat dengan kulit manjadi luas, sehingga absorpsi obat ke kulit berlangsung cepat.

9.6 Uji daya lekat. Uji daya lekat dilakukan untuk mengetahui kemampun gel melekat pada tempat aplikasinya. Daya lekat akan berhubungan dengan lamanya kontak antara basis dengan permukaan kulit dan kenyamanan penggunaan basis. Semakin lama gel melekat, maka semakin lama kontak yang akan terjadi antara kulit dan gel sehingga penghantaran obat semakin efektif. Hasil pengukuran daya lekat gel dapat dilihat pada tabel 16.

Tabel 16. Uji daya lekat gel *hand sanitizer* ekstrak etanol daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) dengan berbagai konsentrasi ekstrak etanol.

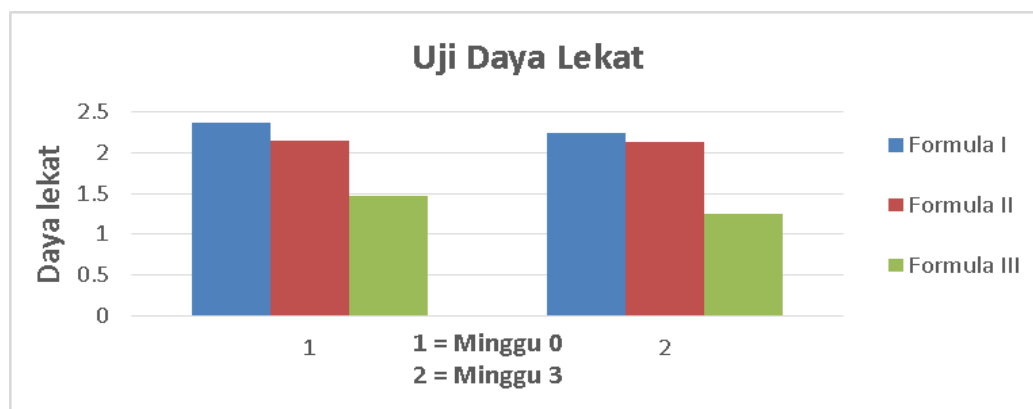
Waktu pemeriksaan	Formula I	Formula II	Formula III
Minggu 0	2,37±0,02	2,15±0,04	1,48±0,01
Minggu 3	2,24±0,04	2,12±0,03	1,25±0,03

Keterangan :

Formula I : gel ekstrak etanol daun stevia 10%

Formula II : gel ekstrak etanol daun stevia 15%

Formula III : gel ekstrak etanol daun stevia 20%



Gambar 12. Histogram uji daya lekat gel *hand sanitizer* ekstrak etanol daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni).

Setelah dilakukan uji daya lekat maka di dapatkan hasil data yang menunjukkan hubungan antara viskositas dan daya lekat gel adalah berbanding searah, artinya semakin besar viskositas maka daya lekat akan semakin

meningkat, begitupun sebaliknya. Semakin kecil viskositas maka daya lekatnya akan semakin menurun. Formula yang memiliki daya lekat paling tinggi adalah gel ekstrak etanol daun stevia pada konsentrasi 10% dan formula yang memiliki daya lekat paling rendah adalah gel ekstrak etanol daun stevia dengan konsentrasi 20%.

10. Pengujian stabilitas gel,

Pengujian stabilitas gel ini dilakukan untuk mengetahui stabil tidaknya gel yang akan dibuat berdasarkan penyimpanan pada suhu yang berbeda. Pengujian dilakukan dengan metode *freeze thaw* yaitu dengan menyimpan sediaan pada suhu 4°C selama 48jam 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.

10.1 Uji organoleptis. Pemeriksaan organoleptis dilakukan secara visual (pengamatan) dengan melihat ada tidaknya perubahan yang terjadi pada gel ekstrak etanol daun stevia setelah di uji dengan metode *freeze thaw*. Hasil uji organoleptis stabilitas gel dengan metode *freeze thaw* dapat dilihat pada tabel 17.

Tabel 17. Uji organoleptis stabilitas gel *hand sanitizer* ekstrak etanol daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) dengan berbagai konsentrasi ekstrak etanol dengan 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	Stabil
5	Stabil	Stabil	Stabil

Keterangan :

Formula I : gel ekstrak etanol daun stevia 10%

Formula II : gel ekstrak etanol daun stevia 15%

Formula III : gel ekstrak etanol daun stevia 20%

Hasil pengamatan secara visual uji stabilitas pada tabel 18 menunjukkan bahwa penyimpanan pada suhu yang berbeda secara terus menerus selama lima siklus menyatakan bahwa tidak mengalami pemisahan. Maka hal ini berarti dari segi organoleptis ketiga formula gel dinyatakan stabil.

10.1 Uji pH. Uji stabilitas selanjutnya dilakukan pada pengujian pH. Uji ini dilakukan untuk mengetahui apakah ada perubahan pH pada sediaan gel

sebelum dan sesudah diberlakukan dengan metode *freeze thaw*. Hasil uji stabilitas pada bagian pH sediaan gel dapat dilihat pada tabel 18.

Tabel 18. Uji pH stabilitas gel *hand sanitizer* ekstrak etanol daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) dengan berbagai konsentrasi ekstrak etanol dengan metode *freeze thaw*.

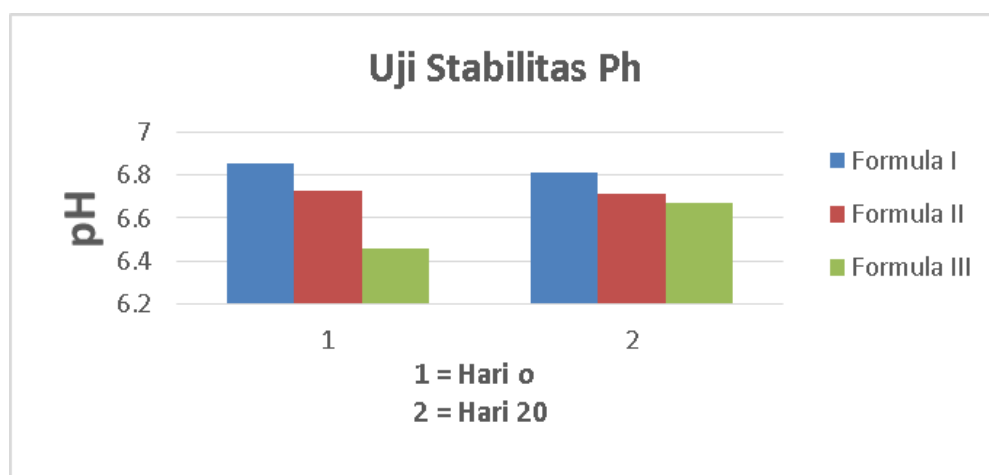
Waktu pemeriksaan	Formula I	Formula II	Formula III
T0	6,86	6,73	6,46
T20	6,81	6,71	6,67

Keterangan :

Formula I : gel ekstrak etanol daun stevia 10%

Formula II : gel ekstrak etanol daun stevia 15%

Formula III : gel ekstrak etanol daun stevia 20%



Gambar 13. Histogram uji stabilitas pH gel *hand sanitizer* ekstrak etanol daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni).

Setelah dilakukan uji pH maka di dapatkan data hasil pengamatan terhadap pH ketiga formula sebelum dan setelah uji kesetabilan dengan *freeze thaw* terlihat adanya penurunan dan kenaikan pH. Penyebabnya karena pengaruh lingkungan seperti gas – gas di udara dan suhu selama penyimpanan yang masuk kedalam gel. Akan tetapi, pada penurunan dan kenaikan pH yang terjadi pada setiap formula tidak terlalu signifikan dan dapat dikatakan pH sediaan stabil.

10.3 Uji viskositas. 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 kesetabilan dengan metode *freeze thaw* dapat dilihat pada Tabel 19.

Tabel 19. Uji viskositas stabilitas gel *hand sanitizer* ekstrak etanol daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) dengan berbagai konsentrasi ekstrak etanol dengan metode *freeze thaw*.

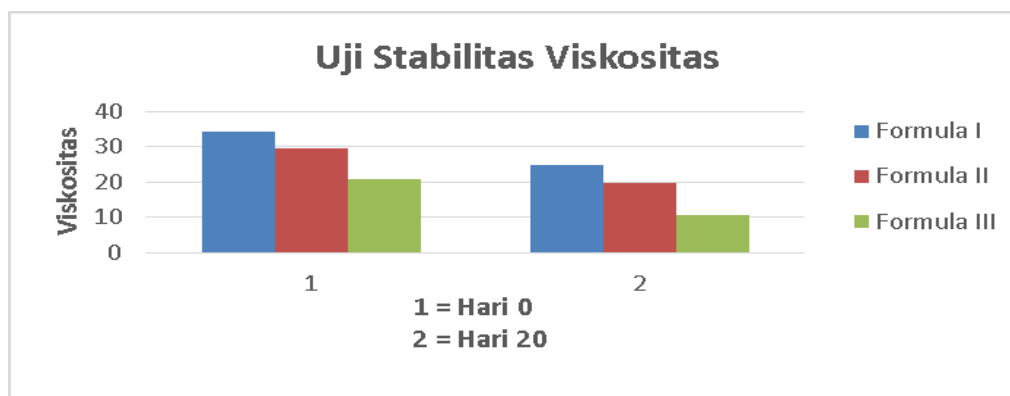
Waktu Pemeriksaan	Viskositas (d Pas)±SD		
	Formula I	Formula II	Formula III
T0	34,3±0,58	29,7±0,58	21±1
T20	25±1	19,7±0,58	10±1

Keterangan :

Formula I : gel ekstrak etanol daun stevia 10%

Formula II : gel ekstrak etanol daun stevia 15%

Formula III : gel ekstrak etanol daun stevia 20%



Gambar 14. Histogram uji stabilitas viskositas gel *hand sanitizer* ekstrak etanol daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni).

Hasil pengujian kestabilan viskositas sediaan gel *hand sanitizer* ekstrak etanol daun stevia setelah diterapkan metode *freeze thaw* menyatakan bahwa viskositas sediaan gel cenderung mengalami penurunan pada seluruh formula gel *hand sanitizer*. Hal tersebut disebabkan adanya perlakuan berupa perubahan suhu dari 40°C menjadi 4°C selama 5 siklus terhadap sediaan gel *hand sanitizer* ekstrak etanol daun stevia. Perubahan suhu pada saat penyimpanan dapat mempengaruhi viskositas gel. Menurut persamaan Arrhenius, viskositas berbanding terbalik dengan suhu. Semakin tinggi suhu maka semakin kecil viskositas. Faktor lain yang dapat menyebabkan penurunan viskositas yakni lamanya penyimpanan yang menyebabkan sediaan lebih lama kontak dengan lingkungan dan terpengaruh oleh udara. Kemasan yang kurang kedap menyebabkan sediaan menyerap uap air dari udara sehingga menambah volume air dalam sediaan. (Septiani *et al.*, 2012).

11. Pembuatan suspensi bakteri uji

Bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dalam biakan murni diambil dua Ose kemudian dimasukan secara aseptis kedalam tabung reaksi steril

yang berisi BHI (*Brain Heart Infusion*), diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah diinkubasi dilakukan pengenceran ke tabung reaksi yang berisi BHI (*Brain Heart Infusion*) dengan Ose sampai kekeruhan hasil suspensi bakteri uji disesuaikan dengan kekeruhan standar Mc. Farland 0,5 untuk difusi. Hasil pembuatan suspensi dapat dilihat pada lampiran 5.

12. Identifikasi uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara isolasi.

Identifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara isolasi berdasarkan koloni dengan melakukan inokulasi suspensi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada media diferensial Vogel Johnson Agar (VJA) yang telah ditetesi 3 tetes kalium tellurit 1% kedalam cawan Petri dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil pengujian menunjukkan koloni dengan warna hitam dan warna medium disekitar koloni kuning, hal ini dikarenakan *Staphylococcus aureus* mampu memfermentasi manitol membentuk suasana asam dan fenol red maka medium disekitar koloni berwarna kuning (Jawetz *et al* 2007). Hasil identifikasi secara isolasi berdasarkan koloni dapat dilihat pada lampiran 5.

13. Identifikasi morfologi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara pewarnaan Gram

Tujuan pewarnaan Gram ialah untuk melihat apakah bakteri *Staphylococcus aureus* termasuk Gram positif atau Gram negatif dan mengetahui kemurnian sel bakteri. Pengecatan Gram merupakan salah satu pewarnaan yang sering digunakan, yang dikembangkan oleh Christian Gram. Hasil identifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada pengamatan dengan mikroskop perbesaran kuat (100x) tampak berwarna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol tidak teratur seperti buah anggur, dapat pula tersusun empat - empat (tetra), membentuk rantai (3 - 4 sel), berpasangan atau satu-satu. Bakteri Gram positif (*Staphylococcus aureus*) memiliki peptidoglikan yang lebih tebal dari pada Gram negatif, sehingga pada pengecatan Gram *Staphylococcus aureus* dapat mempertahankan warna violet dari Gram A (kristal violet). Maka pada identifikasi secara pewarnaan gram dinyatakan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan Gram positif (Fardiaz 1993). Hasil identifikasi secara morfologi dapat dilihat pada lampiran 5.

14. Identifikasi fisiologi secara biokimia

14.1 Uji Katalase. Menggunakan suspensi bakteri uji yang telah diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C pada media *Vogel Johnson Agar* (VJA) kemudian ditambah H₂O₂ 3% sebanyak 3 tetes. Hasil positif ditandai dengan adanya gelembung udara sebab *Staphylococcus aureus* mempunyai enzim katalase, dimana H₂O₂ yang dituangkan akan terurai menjadi 2H₂ dan O₂ (oksigen), hal ini ditandai dengan adanya gelembung udara. H₂O₂ bersifat toksik terhadap sel karena bahan ini menginaktifkan enzim dalam sel. H₂O₂ terbentuk sewaktu metabolisme aerob, sehingga mikroorganisme yang tumbuh, dalam lingkungan aerob pasti menguraikan bahan tersebut (Lay 1994). Hasil gambar identifikasi fisiologi berdasarkan katalase dapat dilihat pada lampiran 5.

14.2 Uji Koagulase. Dilakukan dengan cara menginokulasikan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ke dalam BHI 10 ml kemudian diinkubasi selama 18 – 24 jam pada suhu 37°C. Inokulum tersebut dipindahkan sejumlah 0,2 - 0,3 ml ke dalam tabung reaksi yang sudah disterilkan kemudian ditambahkan 0,5 ml koagulase plasma kemudian di sentrifugasi dan diinkubasi pada suhu 37°C. Diamati tiap jam sampai empat jam pertama dan dilanjutkan sampai 24 jam. Hal ini dimaksudkan untuk melihat atau mengecek koagulan yang terbentuk. Koagulan yang terbentuk secara padat atau solid serta tidak jatuh apabila tabung dibalik atau dimiringkan dinyatakan positif bahwa bakteri tersebut memang *Staphylococcus aureus* (Jawetz *et al* 2001). Hasil identifikasi pada penelitian ini menunjukkan positif terjadi perubahan plasma darah yang terdenaturasi oleh *Staphylococcus aureus* sehingga terjadi penggumpalan putih. Tes koagulase ini digunakan untuk membedakan antara bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*, karena *Staphylococcus epidermidis* tidak membentuk gumpalan – gumpalan putih. Hasil gambar identifikasi secara koagulase dapat dilihat pada Lampiran 5.

15. Pengujian aktivitas antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri gel ekstrak etanol daun stevia dilakukan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan metode difusi pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA), khususnya metode sumuran. Pengujian

dilakukan terhadap sampel uji ketiga formula (formula I, formula II dan formula III), kontrol positif gel *hand sanitizer* Dettol dan kontrol negatif basis tanpa ekstrak etanol daun stevia. Berikut adalah tabel hasil uji aktivitas antibakteri dari masing-masing formula dan pada lampiran 6.

Tabel 20. Uji aktivitas antibakteri gel ekstrak etanol daun stevia

Formula	Diameter hambat (mm)			Rata – rata (mm)	± SD
	Replikasi				
I	10,8	11,3	11	11	±0,28
II	13	13,2	12,8	13	±0,23
III	15	15	15,3	15,4	±0,12
Kontrol positif	16,8	17	16,8	16,8	±0,14
Kontrol negatif	-	-	-	-	-

Keterangan :

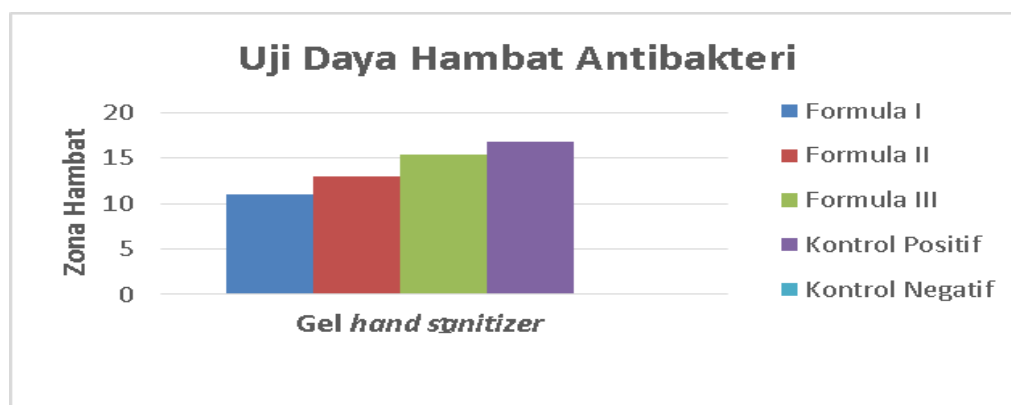
Formula I : gel ekstrak etanol daun stevia 10%

Formula II : gel ekstrak etanol daun stevia 15%

Formula III : gel ekstrak etanol daun stevia 20%

Kontrol (+) : produk “DETTOL” (alkohol 60%)

Kontrol (-) : basis gel tanpa ekstrak etanol daun stevia



Gambar 15. Histogram uji daya hambat antibakteri gel *hand sanitizer* ekstrak etanol daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni).

Data pada tabel 20 menunjukkan adanya perbedaan daya hambat ketiga formula tersebut. Hal tersebut dikarenakan adanya pengaruh perbedaan kandungan ekstrak etanol daun stevia dari ketiga formula gel *hand sanitizer* tersebut. Kontrol negatif berupa basis gel tanpa ekstrak etanol daun stevia tidak menunjukkan adanya zona hambat, artinya gel basis tanpa ekstrak etanol daun stevia tidak mempunyai aktivitas sebagai antibakteri. Urutan zona hambat pertumbuhan bakteri dimulai dari yang paling besar ke yang kecil yaitu formula III (gel ekstrak etanol daun stevia 20%), formula II (gel ekstrak etanol daun stevia 15%), dan formula I (gel ekstrak etanol daun stevia 10%).

Pengaruh perbedaan besar kecil zona hambat adalah dari kandungan ekstrak etanol daun stevia didalam gel tersebut. Semakin besar ekstrak etanol daun stevia yang terkandung di dalam gel maka menghasilkan zona hambat yang semakin besar. Menurut penelitian sebelum nya (Yaromis *et al.*, 2017). Ekstrak etanol daun stevia memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan rata – rata daya hambat sebesar 10,32 mm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Besarnya rata – rata zona hambat yang dibentuk ekstrak etanol daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) tergolong kuat dalam penggolongan Davis dan Stout 1971. Tanaman stevia memiliki zat aktif yang bersifat antibakteri di antaranya ialah tannin, alkaloid, dan flavonoid. Hasil dari zona hambat yang terbentuk pada sumuran gel *hand sanitizer* ekstrak etanol daun Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) disebabkan karena adanya senyawa aktif daun stevia dengan aktivitas antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri melalui penghambatan sintesis dinding sel yang akan menyebabkan lisis pada dinding sel bakteri sehingga pertumbuhan bakteri terhambat. Tannin pada ekstrak daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) bekerja sebagai antibakteri dengan menghambat sintesis asam nukleat dengan mendenaturasi protein sel DNA merusak membran sel. Mekanisme kerja antibakteri flavonoid dalam ekstrak daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) yaitu dengan mengikat protein, sehingga mengganggu proses metabolisme bakteri *Staphylococcus aureus* (Poeloengan dan Pratiwi 2010),

Aktivitas antibakteri dari zat aktif ekstrak daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) ini mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 merupakan bakteri gram positif yang dinding selnya terdiri dari peptidoglikan, asam teikoat, teikuronat, polisakarida dan protein. Kerusakan lapisan ini mengakibatkan kerusakan dinding sel bakteri, sehingga menyebabkan terhambatnya pertumbuhan bakteri. Melihat data tersebut dapat diasumsikan bahwa ekstrak etanol daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) dapat membunuh bakteri.

Hasil uji statistik dari ketiga formula gel *hand sanitizer* dengan ekstrak etanol daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni), kontrol positif (Dettol), dan kontrol negatif terdapat perbedaan bermakna dari masing – masing formula, hal tersebut menunjukkan bahwa pengaruh penggunaan besar dan kecilnya konsentrasi ekstrak etanol daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) yang dimasukkan kedalam gel berpengaruh pada besar dan kecilnya daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Semakin besar konsentrasi ekstrak etanol daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) yang digunakan pada gel *hand sanitizer*, maka semakin besar daya hambatnya.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

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

Pertama, ekstrak etanol daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) dapat dibuat sebagai sediaan gel *hand sanitizer* dengan berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun stevia dan mempunyai mutu fisik serta stabilitas yang baik.

Kedua, gel *hand sanitizer* ekstrak etanol daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) dengan berbagai konsentrasi 10%, 15%, dan 20% memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 serta yang paling aktif pada konsentrasi 20%.

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 *hand sanitizer* ekstrak etanol daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) menggunakan spesies bakteri patogen yang berbeda.
3. Perlu dilakukan isolasi senyawa utama daun stevia yaitu stevioside yang memiliki aktivitas antibakteri, antivirus dan antifungi untuk memaksimalkan dalam membunuh mikroba patogen.

DAFTAR PUSTAKA

- Andryana , Noor, dan Vera. 2017. *Pengaruh daya antibakteri ekstrak daun stevia pada konsentrasi 5%, 10%, 20%, 40% dan 80% terhadap streptococcus mutans (in vitro)*. Jurnal Ilmu Kedokteran Gigi. Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Ansari, S. A (2009). *Skin pH and Skin Flora*. In Hanbook of Cosmetics Science and Technology. Edisi Ketiga. New York: Informa Healthcare USA Halaman 222-223.
- Anonim. 1995. *Farmakope Indonesia*, Edisi III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hlm 28-31, 65-378.
- Anonim. 1997. *Farmakope Indonesia*, Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Ansel H.C. 1985. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi* Edisi IV. Jakarta: Universitas Indonesia. Diterjemahkan oleh Ibrahim F. Edisi ke IV. Hal 390-391.
- Ansel H.C. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi* Edisi IV. Jakarta: Universitas Indonesia. Diterjemahkan oleh Ibrahim F. Edisi ke IV. Hal 607-608.
- Badan POM RI., 2004, Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia, Volume 1, Jakarta
- Banker , GS and Anderson, N.R. 1986. Semi solid in Lachman, L, Lieberman, H.A., Kanig, J.I., *The Theory and Practice of Industrial Pharmacy*, 3rd ed, Lea and Febiger, Philadepia
- Bartlett, A.H., Hulton, K.H., 2010. Staphylococcus aureus Pathogenesis, Secretion Systems, Adhesins, and Invasins. *CRPIDS*, 29(9) : 860-861.
- Benjamin, DT, 2010. *Introduction to Hand Sanitizer*
- Bonang G, Koeswardono ES. 2004. *Mikrobiologi Kedokteran Untuk Laboratorium dan Klinik*. Jakarta: Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Davis dan Stout.1971. Disc Plate Method Of Microbiological Antibiotic Essay. *Journal Of Microbiology*.22 : 4 - 9.
- Dian Kartikasari,Nurkhasanah, Suwijiyo Pramono. 2017. Karakteristik Simplisia Dan Ekstrak Etanol Daun Bertoni (*Stevia Rebaudiana*) Dari Tiga Tempat

Tumbuh. Pasca Sarjana Progdi Farmasi Universitas Ahmad Dahlan. Yogyakarta

[Depkes RI]. 1978. *Materi Medika Indonesia*. Jilid IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

[Depkes], 1985. *Cara pembuatan simplisia*, Jakarta, Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hlm. 7.

[Depkes] 1986. *Sediaan Galenika*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta

[Depkes RI], 1995, *Farmakope Indonesia*, Edisi IV, 112, 712, 1203, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.

[Depkes RI]. 2000. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (1) Jilid 1*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hlm 221-222.

Dyer, D., Gerenraich, K. B., & Wadhams, P. S., 1998, Testing a New Alcohol-Free Hand Sanitizer to Combat Infection, *AORN Journal*, 68(4), 239-251.

Elkins R. 1997. *Stevia Nature's sweeteners*. Pleasant Grove: Woodland Publishing, Inc. Hlm 8-9, 21-23, 27.

Ferdiaz, Srikandi. 1993. *Analisis Mikrobiologi Pangan*. Raja Grafindo Persada, Jakarta

Gul, A., F. Kidoglu., Y. Tuzel dan I. H. Tilzel. 2008. Effects of nutrition and *Bacillus amyloliquefaciens* on tomato (*Solanum lycopersicum* L.) growing in perlite. *Spanish Journal of Agricultural*.6(3),422-429

Gunawan, D. Dan Mulyani, S. 2004. *Farmakognosi*, Jakarta : Penebar Swadaya.

Gunawan, D. Dan Mulyani, S. 2004. *Ilmu obat alam (Farmakognosi) Jilid 1*, Yogyakarta: Penebar Swadaya. Hlm.9.

Goyal SK, Samsher, Goyal RK. 2010. Stevia (*Stevia rebaudiana*) a bio-sweetener: a review. *Internasional Journal of Food Sciences and Nutrition* 61 (1): 1-10.

Hammond, B., Ali, Y., Fendler, M., Dolan, M., Donovn, S., 2000, *Effect of hand sanitizer Use on elementary School Absenteeism*, *America Journal of Infektion Control*, 28 (5), 340 – 346.

Harborne, J.r.1987. *Metode Fitokimia Pantunan Cara Metode Menganalisis Tumbuhan*. ITB, Bandung.

- Hartanti F. 2006. Uji Antibakteri Salep Minyak Atsiri Daun Nilam (*Pogostemon cablin* Benth) Terhadap Punggung Kelinci yang Diinfeksi Bakteri *Staphylococcus aureus* ATTC 25923 [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
- Herminta. 2004. *Mikrobiologi Kedokteran Untuk Laboratorium*. Jakarta: Fakultas Kedokteran UI. PT Gramedia.
- Iskamto B. 2009. *Bakteriologi Kesehatan*, Cetakan ke-1. Surakarta: Universitas Negri Sebelas Maret Press. Hlm 11,12,14.
- Irianto, K., 2013, *Mikrobiologi Medis*, Cetakan Kesatu, 81, Bandung, Alfabeta, cv
- Jawet E, Malnick JL, Adelberg EA. 1996. *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan Edisi IV*. Penerjemah: Bonang, G. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran 239-244.
- Jawetz *et al*, Melnick. J.L Adelberg. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran: Bagian Mikrobiologi* Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Surabaya: Penebar Swadaya.
- Jawetz E, Melnick. J.L & Adelberg. E. A., 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*, Edisi XXII, diterjemahkan oleh Mudihardi, E., Kuntaman, Wasito, E. B., Mertaniasih, N. M., Harsono, S., Alimsardjono, L., 82, 277-278, 279, 317-318, Jakarta, Penerbitan Salemba Medika.
- Jawetz E, Jl. Melnick, EA Adelberg, GF Brooks, JS Butet, LN Ornston, 2007. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi ke-23. Nugroho, Maulany RF, Penerjemah; Jakarta: Buku Kedokteran EGC. Terjemahan dari: *Medical Microbiology*.
- Jawetz E, Melnick, J L, EA, 2012. *Medical Microbiology*. 26 th. Ed. Elferia Nr. Penerjemah: Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Konoshima T, Takasaki M. 2002. Cancer – chemopreventive effects of natural sweeteners and related compounds, *Pure Appl Chem* 74 (7): 1309-1316.
- Lachman et al. 1994. *Teori Dan Praktek Farmasi Industry 2*. Diterjemahkan oleh Suyatmi, S. Edisi II. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Lamonthe, R.G., Mitchell, G., Gattuso, M., Diarra, M.S., Malouin, F., Bouarab, K., 2009, Plant Antimicrobial Agent and Their Effect on Plant and Human Pathogens, *Int.J.Mol.Sci.*, 10 : 3400-3419
- Liu P, Yuen Y, Hsiao H M, Jaykus L A, Moe C, 2010 *Effeksion of Liquid Soap and hand Sanitizer against Norwalk Virus*. *Appl Environ Microbial*, 2010 Januari;76(2) 394 – 399.

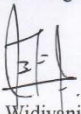
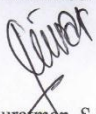
- Lubrizol, 2010, *Antibakterial Hand Gel with Triclosan*. Lubrizol Advanced Materials, Inc.
- Lieberman, Rieger, and Naker, 1989. *Pharmaceutical Dosage Forms : Disperse System*. Vol 2. New York : Marcell Dekker Inc. Hlm 213.
- Maulidaniar, R., Rahima, S. R., Rita, M., Hamidah, N. dan Yuda, A. W. (2011). *Gel Asam Salisilat*. Universitas Lampung Mangkurat Banjar Baru, dipublikasikan.
- Melki, Wike A, 2008. Kurniati.2011. Uji antibakteri Ekstrak *Gracilaria sp* (Rumput Laut) Terhadap *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Program Studi Ilmu Kelautan FMIPA Universitas Sriwijaya.
- Mousumi Debnath. *Klonal Propagasi dan Aktivitas Antimikroba dari Tanaman Obat Endemik Stevia rebaudiana*. Jurnal Penelitian Tanaman Obat. 2008.
- Nutrisia Aquariushinta Sayuti, 2015, Formulasi dan Uji Stabilitas Fisik Sediaan Gel Ekstrak Daun Ketepeng Cina (*Cassia alata* L.). Jurusan Jamu Poltekkes Kemenkes Surakarta.
- Pande SS, Gupta P. 2013. Plant tissue culture of stevia rebaudiana (Bertoni): A review. *Journal of Pharmacognocny and Phytoterapy* 5 (1): 26-33.
- Pastra, D.A, Melki dan H. Surbakti. 2012. Penapisan Bakteri yang Bersimbiosis dengan Spons Jenis *Aplysina* sp. Sebagai Penghasil Antibakteri dari Perairan Pulau Tegal Lampung. *Maspari Journal*. 4(1), 77-82
- Pelczar, M.J and Chan, E.G.S. 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Diterjemahkan Hadi Oentomo.R.S Imestejo, tjitrosomo. S. Angka. S.L. Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta, 107-173.
- Pelczar, M.j., dan Chan, E.C.S., 1998, *Dasar – Dasar Mikrobiologi*, 809-812, UI Press, Jakarta.
- Poeloengan, M., Praptiwi, 2010, Antibacterial Activity Test Of Mangos Teen (*Garcinia mangostana* Linn) Peel, *Media Litbang Kes.*, Vol. 20 No. 2 hal. 65-69
- Priani, Ega S,. Humanisya Haniva, Darusman, F (2014). Development of sunscreen Emulgen Containing *Cinnamomum Burmannii* Stem Bark Extract, *International Journal of Science and Research (IJSR)*, Des, Vol, 3, Issue, 12 hal, 2338-2339
- Radji M. 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi: Panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran*. Jakarta: Buku Kedokteran EGL.

- Rasyid, Rosalaili., Suheimi, K., 2000. Prevalensi Infeksi Nasokomial Pada Pasien Pasca Sectio Sesaria Pada Bagian Kebidanan & Penyakit Kandungan Rsup Dr. M. Djamil Padang. *Majalah Kedokteran Andalas* No.2 Vol.24.
- Retnosari, Isadiartuti, D., 2006, *Studi efektivitas Sediaan Gel Antiseptik Tangan Ektrak daun sirih (piper betle linn)*, *Majalah farmasi Indonesia* 17(4), 163 – 169.
- Robinson, Trevor. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Edisi Keenam. Terjemahan Kokasih Padmawinata. Bandung : FMIPA ITB.
- Rowe *et al.* 2009. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. Six Edition, London: Pharmaceutical Press. Page: 118-121, 283-286, 411-444, 564-565, 595-598.
- Rowe R, Shekey P., Waller P.2006. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. Edisi keempat. Washington DC: Pharmaceutical Press and American Pharmacutical association.
- Salle A.J. 1947. *Fundamental Principle of Bacteriology*. Megraw Hill.India. Hlm 505
- Sari, Retno dan Dewi Isdiartuti. 2006. Studi Efektifitas Sediaan Gel Antiseptic Tangan Ekstrak Daun Sirih (Piper Betle Linn). *Majalah Farmasi Indonesia*.
- Sulaiman, T. N. S. & Kuswahyuning, R., 2008, *Teknologi dan Formulasi Sediaan Semipadat*, 82, Yogyakarta, Pustaka Laboratorium Teknologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
- Supardi I dan Sukamto. 1999. *Mikrobiologi dalam Pengolahan dan Keamanan Pangan*. Bandung : Penerbit Alumni.
- Suriawiria, U. 2005. *Mikrobiologi Dasar*. Papas Sinar Sinanti, Jakarta.
- Septiani *et al.* 2012. *Formulasi Sediaan Masker Gel Antioksidan Dari Ekstrak Etanol Daun Melinjo (Gnetum Gnenom Linn)*. Fakultas Farmasi Universitas Padjajaran. Bandung.
- Shah, M. A., Natarajan, S.B., Gousuddin, M., 2014, *Formulation, Evaluation and Antibacterial Efficiency of Herbal Hand Wash Gel*, *Internasional Journal of Pharmaceutical Science*, 25(2),120 - 124
- Shu, M., 2013, *Formulasi Sediaan gel Hand Sanitizer dengan Bahan Aktif Triklosan 0,5% dan 1%*. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa*, Universitas Surabaya, Vol.2 No.1.

- Syari Wahyuni Ansiah., 2014, Formulasi Sediaan Gel Antiseptik Fraksi Polar Daun Kesum (*Polygonum minus* Huds). *Jurnal Ilmiah Mahasiswa*, Universitas Tanjungpura Pontianak.
- Tiwari, Kumar, Kaur Mandeep, Kaur Gurpreet & Kaur Harleem. 2011 *Phytochemical Screening and Extraction: A Review*, Internasionale Pharmaceutical Sceincia Vol, 1: issue 1.
- Thomas JE, Glade MJ. 2010. Stevia: it;s not just about calorie. *The Open Obesity Journal* 2: 101-109.
- Voigt, R. 1984 *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Diterjemahkan oleh : Soendari, Noerono, S., UGM Press, Yogyakarta. Hal 338-338.
- Voigt, R. 1994 *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Diterjemahkan oleh : Soendari, Noerono, S. Edisi V. Universitas Gajah Mada Press, Yogyakarta. Hal 311-370, 560-567.
- Waluyo, Lud, 2004. Mikrobiologi Umum. UMM PRESS, Malang.
- Wade A., Weller,Paul J. 1994. *Handbook of Excipients*. Second Edition. The Pharmaceutical Press. London
- Yaromis Wenda, Pensi M. Wowor, Michael A. Leman. 2017. Uji daya hambat ekstrak daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni M.) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. volume 5 edisi 1.

$\mathcal{L}$ $\mathcal{A}$ $\mathcal{M}$ $\mathcal{P}$ $\mathcal{I}$ $\mathcal{R}$ $\mathcal{A}$ $\mathcal{N}$

Lampiran 1. Hasil determinasi

	KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI UNIVERSITAS SEBELAS MARET FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM LAB. PROGRAM STUDI BIOLOGI Jl. Ir. Sutami 36A Ketingan Surakarta 57126 Telp. (0271) 663375 Fax (0271) 663375 http://www.biology.mipa.uns.ac.id, E-mail biologi@mipa.uns.ac.id
Nomor : 21/UN27.9.6.4/Lab/2018 Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan Lampiran : -	
Nama Pemesan : Wisky Amarta NIM : 20144246A Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta	
HASIL DETERMINASI TUMBUHAN	
Nama Sampel : <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni Familia : Asteraceae	
Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963;1965) : 1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23a 166. Asteraceae 1b-3a-4b-5b-23b-28a-29b 11. <i>Stevia</i> 1 <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni	
Deskripsi Tumbuhan : Habitat : herba atau semak kecil, tumbuh tegak, tinggi 60-90 cm. Akar : tunggang, putih kotor atau putih kekuningan. Batang : bulat, berkayu, agak lunak, bercabang banyak, beruas, permukaan berbulu halus, warna hijau. Daun : tunggal, berhadapan hingga berseling, bertangkai pendek, bentuk bulat telur sampai lonjong, panjang 9-25 cm, tepi bergerigi, ujung runcing, pertulangan daun menyirip, permukaan atas berwarna hijau muda mengkilat, permukaan berbulu halus. Bunga : biseksual, majemuk, bentuk capitulum, terletak di ujung batang atau ketiak daun, terdiri atas 4-5 bunga kecil, panjang 15-17 mm, dilindungi oleh daun pembalut (involukrum); daun pembalut bentuk silindris atau memanjang, sempit, berjumlah 5-6, tersusun menyirip seperti genting; kelopak bunga termodifikasi menjadi pappus, berjumlah 10-20; mahkota bunga berbentuk tabung, daun mahkota berjumlah 5, permukaan berambut halus, warna putih di bagian luar, putih keunguan di bagian dalam terutama di bagian kerongkongan tabung mahkota; benang sari melekat di dasar tabung mahkota, berjumlah 5, ujung kepala sari tumpul; kepala putik bercuping dua, warna putih; bakal buah tenggelam. Buah : achenes, silindris memanjang, kecil, kering, bersudut 5. Biji : kecil, 3 mm, warna coklat gelap atau hitam.	
Kepala Lab. Program Studi Biologi  Dr. Tetri Widiyanti, M.Si. NIP. 19711224 200003 2 001	Surakarta, 25 Januari 2018 Penanggungjawab Determinasi Tumbuhan  Suratman, S.Si., M.Si. NIP. 19800705 200212 1 002
Mengetahui   Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si. NIP. 19660714 199903 2 001	

Lampiran 2. Tanaman Stevia dan Maserasi



Daun stevia



Penimbangan serbuk stevia



Uji kadar lembab



Maserasi & penyaringan

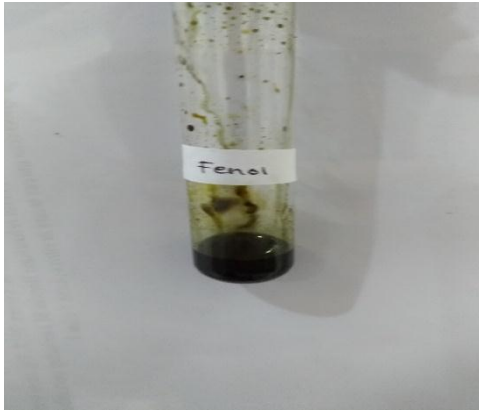


Rotary evaporator



Ekstrak daun stevia

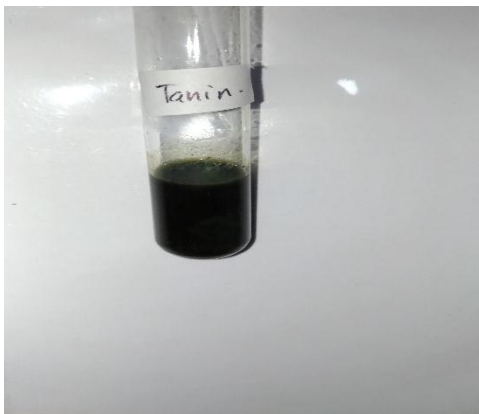
Lampiran 3. Identifikasi kandungan tanaman



Uji fenol



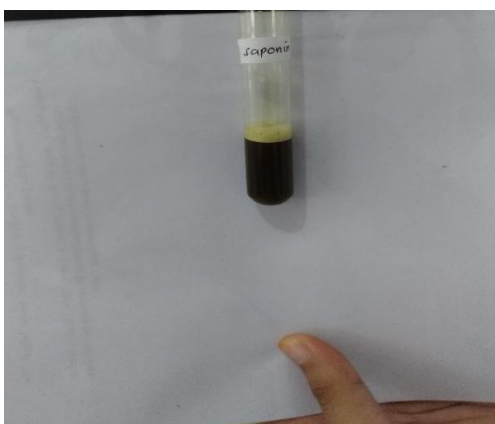
Uji alkaloid



Uji tannin



Uji flavonoid



Uji saponin



Uji kandungan kimia

Lampiran 4. Gambar alat uji gel & sediaan gel *hand sanitizer*



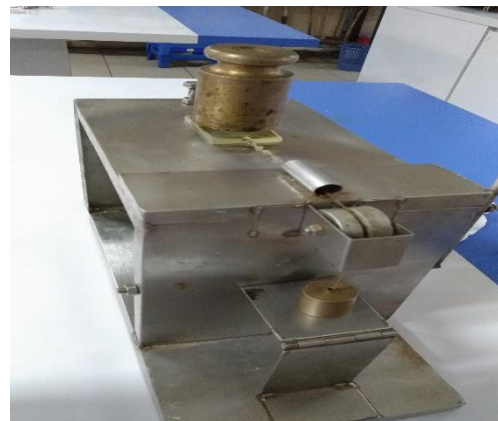
Sediaan gel *hand sanitizer*



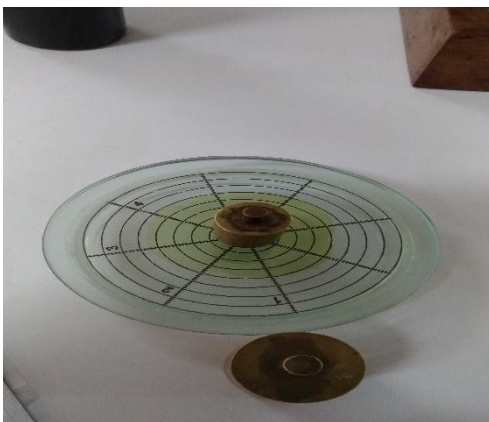
Uji homogenitas



Uji viskositas



Uji daya lekat



Uji daya sebar



Uji Ph



Oven



Uji stabilitas



Pembuatan kontrol negatif



Pembuatan gel hand sanitizer

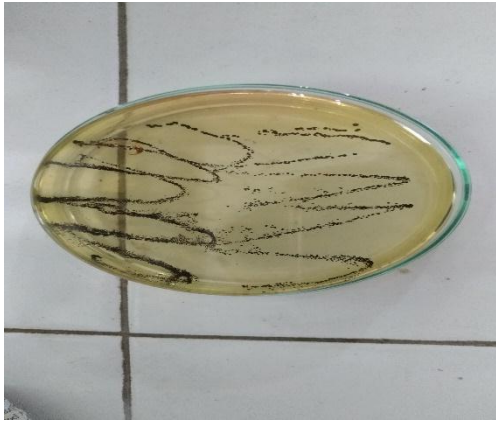


Kontrol positif

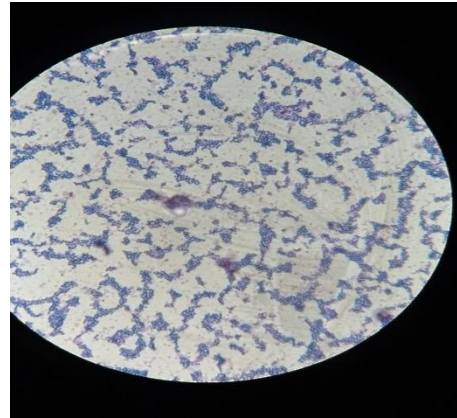


Mikroskop

Lampiran 5. Gambar Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



Hasil isolasi dengan media VJA



Identifikasi secara pewarnaan Gram



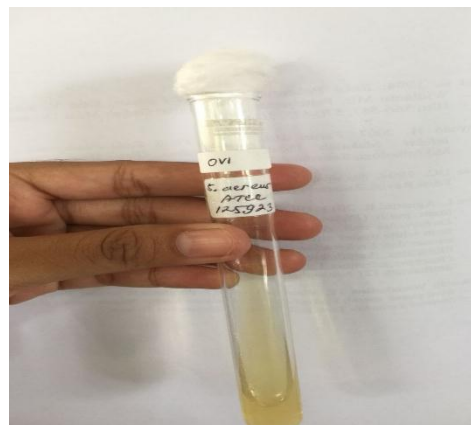
Uji secara katalase



Uji secara koagulase

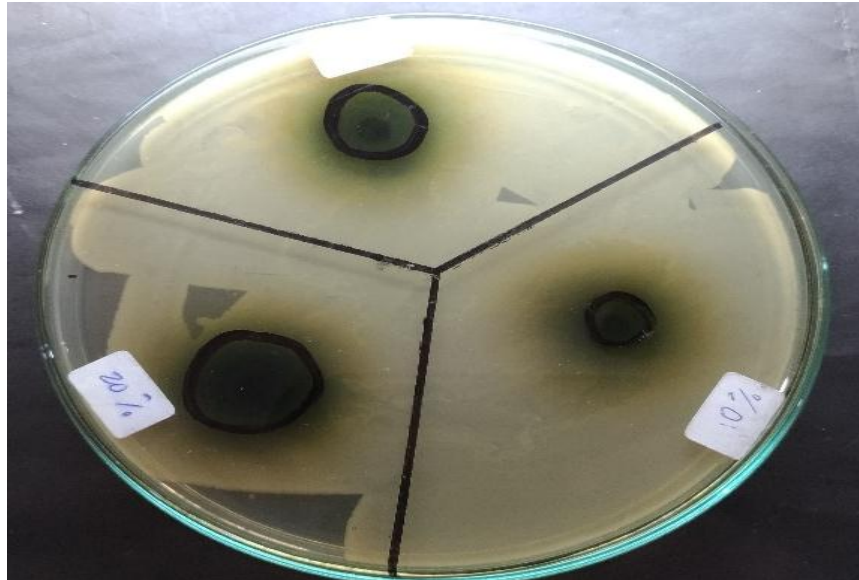


Suspensi biakan bakteri



Biakan murni bakteri

Lampiran 6. Gambar orientasi ekstrak daun stevia & uji daya hambat gel *hand sanitizer*



Orientasi uji daya hambat ekstrak daun stevia



Uji daya hambat gel *hand sanitizer* ekstrak daun stevia

Lampiran 7. Perhitungan rendemen daun stevia kering

Daun stevia kering yang diperoleh dari daun stevia yang masih basah seberat 9300 gram adalah 1450 gram. Rendemen yang didapat sebesar :

Persentase rendemen daun stevia

$$\begin{aligned}\text{Rendemen} &= \frac{\text{Bobot kering (gram)}}{\text{Bobot basah (gram)}} \times 100 \% \\ &= \frac{1450}{9300} \times 100\% \\ &= 15,60 \%\end{aligned}$$

Lampiran 8. Perhitungan rendemen serbuk terhadap daun stevia kering

Serbuk daun stevia yang di peroleh dari daun stevia kering seberat 1450 gram adalah 1300 gram. Rendemen yang didapatkan sebesar :

Persentasi rendemen serbuk daun stevia

$$\begin{aligned}\text{Rendemen} &= \frac{\text{Bobot serbuk (gram)}}{\text{Bobot kering (gram)}} \times 100 \% \\ &= \frac{1300}{1450} \times 100\% \\ &= 89,65 \%\end{aligned}$$

Lampiran 9. Komposisi media

A. Formulasi dan pembuatan *Vogel Jhonson Agar*

Peptone from casein	10,0 gram
Yeast extract	5,0 gram
Di-potasium hydrogen phosphate	10,0 gram
d(-)-mennitol	10,0 gram
Lithium chloride	5,0 gram
Glycine	10,0 gram
Agar	13,0 gram

Reagen – reagen diatas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml, dipabaskan sampai larut sempurna, tambah kalium tellurit 3,5% dalam satu palte, kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit dan situangkan ke dalam cawan petri pH 7,4 (Anonim 2008)

B. Formulasi dan pembuatan *Brain Heart Infusion*

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

Reagen - reagen diatas dilarutkan dalam aquadest 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan dalam cawan petri pH 7,4 (Anonim 2008)

C. Formulasi dan pembuatan *Muller Hinton Agar*

Meat infusion	2,0 gram
Bacto asam kasamino	17,5 gram
Kanji	1,5 gram
Agar	17,0 gram

Reagen - reagen diatas dilarutkan dalam aquadest 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan dalam cawan petri pH 7,4 (Anonim 2008)

Lampiran 10. Data dan statistik uji pH gel *hand sanitizer* ekstrak etanol daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni)

UJI PH								
Minggu 0					Minggu 3			
Replikasi	F I	F II	F III		Replikasi	F I	F II	F III
1	6,87	6,7	6,48		1	6,8	6,68	6,44
2	6,84	6,76	6,45		2	6,76	6,68	6,52
3	6,86	6,72	6,44		3	6,8	6,7	6,47
Rata-rata	6,86	6,73	6,46		Rata-rata	6,79	6,69	6,48
SD	0,02	0,03	0,02		SD	0,02	0,01	0,04

Uji statistik Kolmogorov smirnov, analisis Two way anova uji pH gel *hand sanitizer* ekstrak etanol daun stevia

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Ph	18	6,6650	,15565	6,44	6,87

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		pH
N		18
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	6,6650
	Std. Deviation	,15565
	Absolute	,205
Most Extreme Differences	Positive	,160
	Negative	-,205
Kolmogorov-Smirnov Z		,870
Asymp. Sig. (2-tailed)		,436

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Univariate Analysis of Variance

Descriptive Statistics

Dependent Variable: pH

Formula	Waktu	Mean	Std. Deviation	N
Formula 10%	Minggu 0	6,8567	,01528	3
	Minggu 3	6,7867	,02309	3
	Total	6,8217	,04215	6
Formula 15%	Minggu 0	6,7267	,03055	3
	Minggu 3	6,6867	,01155	3
	Total	6,7067	,03011	6
Formula 20@	Minggu 0	6,4567	,02082	3
	Minggu 3	6,4767	,04041	3
	Total	6,4667	,03077	6
Total	Minggu 0	6,6800	,17783	9
	Minggu 3	6,6500	,13910	9
	Total	6,6650	,15565	18

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable: pH

F	df1	df2	Sig.
1,271	5	12	,338

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

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

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Formula

pH					
	Formula	N	Subset		
			1	2	3
Tukey HSD ^{a,b}	Formula 20@	6	6,4667		
	Formula 15%	6		6,7067	
	Formula 10%	6			6,8217
	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 = 6,000.

b. Alpha = ,05.

Lampiran 11. Data dan statistik uji daya lekat gel *hand sanitizer* ekstrak etanol daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni)

UJI DAYA LEKAT								
Minggu 0					Minggu 3			
Replikasi	FI	FII	FIII		Replikasi	FI	FII	FIII
1	2,39	2,16	1,49		1	2,28	2,13	1,25
2	2,37	2,11	1,47		2	2,24	2,15	1,27
3	2,35	2,18	1,47		3	2,2	2,09	1,22
Rata-rata	2,37	2,15	1,48		Rata-rata	2,24	2,12	1,25
SD	0,02	0,04	0,01		SD	0,04	0,03	0,03

Uji statistik Kolmogorov smirnov, analisis Two way anova uji daya lekat gel *hand sanitizer* ekstrak etanol daun stevia

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Dayalekat	18	1,9344	,43069	1,22	2,39

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Dayalekat
N		18
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	1,9344
	Std. Deviation	,43069
	Absolute	,308
Most Extreme Differences	Positive	,182
	Negative	-,308
Kolmogorov-Smirnov Z		1,305
Asymp. Sig. (2-tailed)		,066

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Univariate Analysis of Variance

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Dayalekat

Formula	Waktu	Mean	Std. Deviation	N
Formula 10%	Minggu 0	2,3700	,02000	3
	Minggu 3	2,2400	,04000	3
	Total	2,3050	,07662	6
Formula 15%	Minggu 0	2,1500	,03606	3
	Minggu 3	2,1233	,03055	3
	Total	2,1367	,03327	6
Formula 20%	Minggu 0	1,4767	,01155	3
	Minggu 3	1,2467	,02517	3
	Total	1,3617	,12719	6
Total	Minggu 0	1,9989	,40365	9
	Minggu 3	1,8700	,47106	9
	Total	1,9344	,43069	18

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable: Dayalekat

F	df1	df2	Sig.
,749	5	12	,603

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

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

Post Hoc Tests

Formula

Homogeneous Subsets

Dayalekat					
	Formula	N	Subset		
			1	2	3
Tukey HSD ^{a,b}	Formula 20%	6	1,3617		
	Formula 15%	6		2,1367	
	Formula 10%	6			2,3050
	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 = 6,000.

b. Alpha = ,05.

Lampiran 12. Data dan statistik uji viskositas gel *hand sanitizer* ekstrak etanol daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni)

UJI VISKOSITAS								
Minggu 0					Minggu 3			
Replikasi	FI	FII	FIII		Replikasi	FI	FII	FIII
1	35	30	21		1	24	21	11
2	34	30	20		2	24	23	13
3	34	29	22		3	26	22	14
Rata-rata	34,3	29,7	21		Rata-rata	24,7	22	12,7
SD	0,58	0,58	1		SD	1,15	1	1,53

Uji statistik Kolmogorov smirnov, analisis Two way anova uji viskositas gel *hand sanitizer* ekstrak etanol daun stevia

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Viskositas	18	24,0556	7,09160	11,00	35,00

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Viskositas
N		18
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	24,0556
	Std. Deviation	7,09160
	Absolute	,117
Most Extreme Differences	Positive	,114
	Negative	-,117
Kolmogorov-Smirnov Z		,497
Asymp. Sig. (2-tailed)		,966

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Univariate Analysis of Variance

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Viskositas

Formula	Waktu	Mean	Std. Deviation	N
Formula 10%	Minggu 0	34,3333	,57735	3
	Minggu 3	24,6667	1,15470	3
	Total	29,5000	5,35724	6
Formula 15%	Minggu 0	29,6667	,57735	3
	Minggu 3	22,0000	1,00000	3
	Total	25,8333	4,26224	6
Formula 20%	Minggu 0	21,0000	1,00000	3
	Minggu 3	12,6667	1,52753	3
	Total	16,8333	4,70815	6
Total	Minggu 0	28,3333	5,89491	9
	Minggu 3	19,7778	5,56277	9
	Total	24,0556	7,09160	18

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable: Viskositas

F	df1	df2	Sig.
,886	5	12	,519

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

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

Post Hoc Tests

Formula

Homogeneous Subsets

Viskositas					
	Formula	N	Subset		
			1	2	3
Tukey HSD ^{a,b}	Formula 20%	6	16,8333		
	Formula 15%	6		25,8333	
	Formula 10%	6			29,5000
	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) = 1,056.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6,000.

b. Alpha = ,05.

Lampiran 13. Data dan statistik uji daya sebar gel *hand sanitizer* ekstrak etanol daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni)

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Dayasebar	72	7,0550	,99171	5,55	9,13

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Dayasebar
N		72
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	7,0550
	Std. Deviation	,99171
	Absolute	,099
Most Extreme Differences	Positive	,099
	Negative	-,065
Kolmogorov-Smirnov Z		,842
Asymp. Sig. (2-tailed)		,478

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Univariate Analysis of Variance

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Dayasebar

Formula	Beban	Waktu	Mean	Std. Deviation	N
Formula 10%	Beban 49,293	Minggu 0	5,5933	,04041	3
		Minggu 3	5,7333	,07638	3
		Total	5,6633	,09416	6
	Beban 99,293	Minggu 0	5,8433	,04041	3
		Minggu 3	5,9833	,05774	3
		Total	5,9133	,08869	6
	Beban 149,293	Minggu 0	6,1167	,12583	3
		Minggu 3	6,4200	,09644	3
		Total	6,2683	,19405	6
	Beban 199,293	Minggu 0	6,9600	,05292	3
		Minggu 3	7,0767	,09292	3
		Total	7,0183	,09304	6
Formula 15%	Beban 49,293	Minggu 0	6,1283	,54117	12
		Minggu 3	6,3033	,53692	12
		Total	6,2158	,53472	24
	Beban 99,293	Minggu 0	6,0600	,06557	3
		Minggu 3	6,2267	,09292	3
		Total	6,1433	,11622	6
	Beban 149,293	Minggu 0	6,3867	,04041	3
		Minggu 3	6,7500	,10000	3
		Total	6,5683	,21037	6
	Beban 199,293	Minggu 0	6,6867	,04041	3
		Minggu 3	7,1167	,07638	3
		Total	6,9017	,24178	6

Formula 20%	Beban 199,293	Minggu 0	7,3033	,16166	3
		Minggu 3	7,6500	,08660	3
		Total	7,4767	,22250	6
	Total	Minggu 0	6,6092	,48470	12
		Minggu 3	6,9358	,54810	12
		Total	6,7725	,53280	24
	Beban 49,293	Minggu 0	7,3767	,06807	3
		Minggu 3	7,5867	,04041	3
		Total	7,4817	,12545	6
	Beban 99,293	Minggu 0	7,7933	,01155	3
		Minggu 3	7,8767	,07506	3
		Total	7,8350	,06626	6
	Beban 149,293	Minggu 0	8,3600	,05292	3
		Minggu 3	8,5700	,06557	3
		Total	8,4650	,12677	6
	Beban 199,293	Minggu 0	8,8367	,04041	3
		Minggu 3	9,0133	,10408	3
		Total	8,9250	,11979	6
	Total	Minggu 0	8,0917	,57998	12
		Minggu 3	8,2617	,59057	12
		Total	8,1767	,57898	24
Total	Beban 49,293	Minggu 0	6,3433	,80256	9
		Minggu 3	6,5156	,83367	9
		Total	6,4294	,79876	18
	Beban 99,293	Minggu 0	6,6744	,87201	9
		Minggu 3	6,8700	,82763	9
		Total	6,7722	,83084	18
	Beban 149,293	Minggu 0	7,0544	1,01230	9
		Minggu 3	7,3689	,95256	9
		Total	7,2117	,96716	18
	Beban 199,293	Minggu 0	7,7000	,86977	9
		Minggu 3	7,9133	,86545	9
		Total	7,8067	,84883	18
	Total	Minggu 0	6,9431	,99485	36
		Minggu 3	7,1669	,98972	36
		Total	7,0550	,99171	72

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable: Dayasebar

F	df1	df2	Sig.
1,329	23	48	,200

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

a. Design: Intercept + Formula + Beban + Waktu + Formula * Beban + Formula * Waktu + Beban * Waktu + Formula * Beban * Waktu

Post Hoc Tests

Formula

Homogeneous Subsets

Dayasebar					
	Formula	N	Subset		
			1	2	3
Tukey HSD ^{a,b}	Formula 10%	24	6,2158		
	Formula 15%	24		6,7725	
	Formula 20%	24			8,1767
	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) = ,006.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 24,000.

b. Alpha = ,05.

Lampiran 14. Data dan statistik uji stabilitas pH gel *hand sanitizer* ekstrak etanol daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni)

UJI STABILITAS uji ph								
T0					T20			
Replikasi	F I	F II	F III		Replikasi	F I	F II	F III
1	6,87	6,7	6,48		1	6,88	6,73	6,67
2	6,84	6,76	6,45		2	6,82	6,72	6,68
3	6,86	6,72	6,44		3	6,74	6,68	6,67
Rata-rata	6,86	6,73	6,46		Rata-rata	6,81	6,71	6,67
SD	0,02	0,03	0,02		SD	0,07	0,03	0,01

Uji statistik Kolmogorov smirnov, analisis Two way anova uji stabilitas pH gel *hand sanitizer* ekstrak etanol daun stevia

NPar Tests

Descriptive Statistics					
	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
ph	18	6,7061	,13465	6,44	6,88

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		ph
N		18
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	6,7061
	Std. Deviation	,13465
	Absolute	,228
Most Extreme Differences	Positive	,120
	Negative	-,228
Kolmogorov-Smirnov Z		,966
Asymp. Sig. (2-tailed)		,309

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Univariate Analysis of Variance

Descriptive Statistics

Dependent Variable: ph

Formula	Waktu	Mean	Std. Deviation	N
Formula 10%	T0	6,8567	,01528	3
	T20	6,8133	,07024	3
	Total	6,8350	,05128	6
Formula 15%	T0	6,7267	,03055	3
	T20	6,7100	,02646	3
	Total	6,7183	,02714	6
Formula 20%	T0	6,4567	,02082	3
	T20	6,6733	,00577	3
	Total	6,5650	,11946	6
Total	T0	6,6800	,17783	9
	T20	6,7322	,07328	9
	Total	6,7061	,13465	18

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable: ph

F	df1	df2	Sig.
2,408	5	12	,099

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

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

Post Hoc Tests

Formula

Homogeneous Subsets

Ph					
	Formula	N	Subset		
			1	2	3
Tukey HSD ^{a,b}	Formula 20%	6	6,5650		
	Formula 15%	6		6,7183	
	Formula 10%	6			6,8350
	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 = 6,000.

b. Alpha = ,05.

Lampiran 15. Data dan statistik uji stabilitas viskositas gel *hand sanitizer* ekstrak etanol daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni)

Uji stabilitas viskositas								
T0					T20			
Replikasi	FI	FII	FIII		Replikasi	FI	FII	FIII
1	35	30	21		1	26	20	12
2	34	30	20		2	24	19	10
3	34	29	22		3	25	20	10
Rata-rata	34,3	29,7	21		Rata-rata	25	19,7	10,7
SD	0,58	0,58	1		SD	1	0,58	1,15

Uji statistik Kolmogorov smirnov, analisis Two way anova uji stabilitas viskositas gel *hand sanitizer* ekstrak etanol daun stevia

NPar Tests

Descriptive Statistics					
	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Viskositas	18	23,39	7,815	10	35

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Viskositas
N		18
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	23,39
	Std. Deviation	7,815
	Absolute	,121
Most Extreme Differences	Positive	,094
	Negative	-,121
Kolmogorov-Smirnov Z		,511
Asymp. Sig. (2-tailed)		,956

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Univariate Analysis of Variance

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Viskositas

Formula	Waktu	Mean	Std. Deviation	N
Formula 10%	TO	34,33	,577	3
	T20	25,00	1,000	3
	Total	29,67	5,164	6
Formula 15%	TO	29,67	,577	3
	T20	19,67	,577	3
	Total	24,67	5,502	6
Formula 20%	TO	21,00	1,000	3
	T20	10,67	1,155	3
	Total	15,83	5,742	6
Total	TO	28,33	5,895	9
	T20	18,44	6,327	9
	Total	23,39	7,815	18

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable: Viskositas

F	df1	df2	Sig.
,640	5	12	,674

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

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

Post Hoc Tests

Formula

Homogeneous Subsets

Viskositas					
	Formula	N	Subset		
			1	2	3
Tukey HSD ^{a,b}	Formula 20%	6	15,83		
	Formula 15%	6		24,67	
	Formula 10%	6			29,67
	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) = ,722.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6,000.

b. Alpha = ,05.

Lampiran 16. Data dan statistik uji daya hambat antibakteri gel *hand sanitizer* ekstrak etanol daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni)

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI					
Replikasi	F1	F II	FIII	KP	KN
I	10,8	13	15,5	16,8	—
II	11,3	13,2	15,5	17	—
II	11	12,8	15,3	16,8	—
Rata - rata	11	13	15,4	16,8	—
±SD	0,28	0,23	0,12	0,14	—

Uji statistik Kolmogorov smirnov, analisis Two way anova uji stabilitas viskositas gel *hand sanitizer* ekstrak etanol daun stevia

NPar Tests

Descriptive Statistics					
	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Antibakteri	15	11,2667	6,18993	,00	17,00

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Antibakteri
N		15
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	11,2667
	Std. Deviation	6,18993
	Absolute	,270
Most Extreme Differences	Positive	,177
	Negative	-,270
Kolmogorov-Smirnov Z		1,046
Asymp. Sig. (2-tailed)		,224

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Univariate Analysis of Variance

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Antibakteri

Formula	Mean	Std. Deviation	N
Formula 10%	11,0333	,25166	3
Formula 15%	13,0000	,20000	3
Formula 20%	15,4333	,11547	3
Kontrol Positif	16,8667	,11547	3
Kontrol Negatif	,0000	,00000	3
Total	11,2667	6,18993	15

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable: Antibakteri

F	df1	df2	Sig.
2,023	4	10	,167

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

a. Design: Intercept + Formula

Post Hoc Tests

Formula

Homogeneous Subsets

		Antibakteri					
	Formula	N	Subset				
			1	2	3	4	5
Tukey HSD ^{a,b}	Kontrol Negatif	3	,0000				
	Formula 10%	3		11,0333			
	Formula 15%	3			13,0000		
	Formula 20%	3				15,4333	
	Kontrol Positif	3					16,8667
	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) = ,026.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

b. Alpha = ,05.