

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI *SPRAY GEL* MINYAK ATSIRI DAUN  
JERUK PURUT (*Citrus hystrix* DC.) TERHADAP *Staphylococcus aureus*  
ATCC 25923 SECARA *IN VIVO***



**Oleh :**

**WIDIYASANTI  
20144191A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2017**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI *SPRAY GEL* MINYAK ATSIRI DAUN  
JERUK PURUT (*Citrus hystrix* DC.) TERHADAP *Staphylococcus aureus*  
ATCC 25923 SECARA *IN VIVO***

*SKRIPSI*

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

**Oleh:**

**Widiyasanti  
20144191A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2017**

**PENGESAHAN SKRIPSI**

berjudul

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI *SPRAY GEL* MINYAK ATSIRI DAUN  
JERUK PURUT (*Citrus hystrix* DC.) TERHADAP *Staphylococcus aureus*  
ATCC 25923 SECARA *IN VIVO***

Oleh

Widiyasanti  
20144191A

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

Mengetahui,  
Fakultas Farmasi  
Universitas Setia Budi



Dekan,

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

Pembimbing Utama

Ismi Rahmawati, M.Si., Apt

Pembimbing Pendamping

Dewi Ekowati, M.Sc., Apt

Penguji:

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

## PERSEMBAHAN



*Bacalah dengan menyebut nama Tuhanmu*

*Dia telah menciptakan manusia dari segumpal darah Bacalah, dan Tuhanmulah yang mahamulia*

*Yang mengajar manusia dengan pena,*

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

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

"Sesuatu yang belum dikerjakan, seringkali tampak mustahil; kita baru yakin kalau kita telah berhasil melakukannya dengan baik."

Bukanlah suatu aib jika kamu gagal dalam suatu usaha, yang merupakan aib adalah jika kamu tidak bangkit dari kegagalan itu

### *Kupersembahkan Skripsi ini untuk :*

- ◆ *Allah Yang Maha Kuasa, yang memberikan kekuatan agar terus semangat menyelesaikan skripsi meskipun banyak halangan.*
- ◆ *My family (Ayah, mama, kakak-kakak dan adik) yang selalu mendukung agar tak mudah menyerah, dan mendukung menjadi orang yang bertanggung jawab. Sebagai tanda bakti, hormat, dan rasa terima kasih yang tiada terhingga kupersembahkan karya kecil ini kepada mama dan Ayah yang telah memberikan kasih sayang, segala dukungan, dan cinta kasih yang tiada terhingga.  
Terima Kasih mama.... Terima Kasih Ayah...*
- ◆ *Dosen pembimbingku Ibu Ismi Rahmawati, M.Si., Apt dan Ibu Dewi Ekowati M.Sc., Apt terima. Selaku dosen pembimbing tugas akhir saya, terima kasih banyak sudah mau membimbing dan meluangkan waktu untuk membagikan ilmunya padahal diri ini masih penuh kekurangan.*
- ◆ *Terimakasih untuk rekan tim yang telah berjuang bersama-sama dalam suka duka "Ayu, Fero, Petra"*
- ◆ *Sahabat-sahabatku tercinta dan tersayang satu perjuangan Dewanti, Regina, Rostika, Rosita, Masyitah, Yunda, Isti, Diny, Iyem, iin terima kasih telah memberikan dukungan dalam susah maupun senang, bantuan selama skripsi, dan atas segala waktunya.*
- ◆ *Teman-temanku yang tidak bisa disebutkan satu persatu terima kasih banyak atas segala bantuan selama proses pengerjaan skripsi ini*
- ◆ *Almamater Kebanggaanku Fakultas Farmasi USB 2014.*
- ◆ *Agama, Bangsa dan Negara ku Indonesia.*

## **PERNYATAAN**

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

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

Surakarta, 28 Oktober 2017



Widiyasanti

## KATA PENGANTAR

*Assalammu'alaikum Wr.Wb*

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

Alhamdulillahirobbil'alamin, akhirnya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI *SPRAY GEL* MINYAK ATSIRI DAUN JERUK PURUT (*Citrus hystrix* DC.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 SECARA *IN VIVO*”** diharapkan dapat memberikan sumbangan bagi ilmu pengetahuan dalam bidang teknologi farmasi.

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


1. Allah SWT yang senantiasa memberikan anugerah, nikmat serta petunjuk disetiap langkah hidupku.
2. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
4. Ismi Rahmawati, M.Si., Apt. selaku Dosen Pembimbing yang telah banyak memberikan ilmu, masukan, pengarahan dan bimbingan selama penyusunan Skripsi ini.

5. Dewi Ekowati, S. Si., M.Sc., Apt. selaku Dosen Pembimbing yang telah banyak memberikan ilmu, masukan, pengarahan dan bimbingan selama penyusunan Skripsi ini.
6. Dra. Nony Puspawati, M.Si. yang telah meluangkan waktu untuk menguji dan memberikan masukan untuk skripsi ini.
7. Ilham Kunchayo, M.Sc., Apt. yang telah meluangkan waktu untuk menguji dan memberikan masukan untuk skripsi ini.
8. Destik Wulandari, S.Pd., M.Si. yang telah meluangkan waktu untuk menguji dan memberikan masukan untuk skripsi ini.
9. Segenap dosen, instruktur laboratorium yang banyak memberikan bantuan dan kerjasama selama penyusunan penelitian Skripsi ini.
10. Orang tuaku tercinta, kakakku, keponakanku, semua saudara dan teman yang telah membantu, mendukung, dan memberi semangat serta doa.
11. Sahabat serta rekan-rekan seperjuangan yang tak henti memberikan dukungan dan motivasi kepada penulis.

Penulis menyadari banyak kekurangan dan masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu Penulis mengharap segala saran dan kritik dari pembaca untuk menyempurnakan Skripsi ini. Semoga Skripsi ini bisa berguna bagi siapa saja yang membacanya.

*Wassalamu 'alaikum Wr.Wb*

Surakarta, 28 Oktober 2017

  
Widiyasanti

## 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.....	xvi
ABSTRACT.....	xvii
<b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
A. Latar Belakang.....	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Manfaat Penelitian.....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>5</b>
A. Tanaman Jeruk Purut.....	5
1. Sistematika Tanaman Jeruk Purut.....	5
2. Nama Lain.....	5
3. Morfologi Tanaman Jeruk Purut.....	5
4. Kegunaan Tanaman.....	6
5. Kandungan tanaman.....	7
B. Simplisia.....	8
1. Pengertian simplisia.....	8
2. Pengumpulan simplisia.....	8
C. Minyak Atsiri.....	8
1. Sifat minyak atsiri.....	8



2.	Metode isolasi minyak atsiri .....	9
3.	Identifikasi minyak atsiri.....	10
4.	Penetapan indeks bias minyak atsiri.....	10
5.	Penetapan bobot jenis minyak atsiri.....	11
6.	Uji kelarutan dalam alkohol 70% .....	11
D.	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	11
1.	Sistematika bakteri .....	11
2.	Morfologi dan identifikasi.....	11
3.	Patogenesis .....	12
4.	Epidemiologi .....	13
E.	Hewan Uji Kelinci <i>New Zealand White</i> .....	13
F.	Infeksi .....	14
G.	Antibakteri.....	14
1.	Menghambat metabolisme sel bakteri.....	14
2.	Menghambat sintesis dinding sel bakteri. ....	15
3.	Menghambat keutuhan membran sel bakteri. ....	15
4.	Menghambat sintesis protein sel bakteri. ....	15
5.	Menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri. ....	16
H.	Gel .....	16
I.	Gel semprot ( <i>Spray Gel</i> ).....	17
J.	Uji Mutu Fisik <i>Spray Gel</i> .....	18
1.	Pemeriksaan Organoleptik .....	18
2.	Pemeriksaan Homogenitas .....	18
3.	Pengukuran Viskositas .....	18
4.	Pengukuran pH.....	18
5.	Pemeriksaan Pola Penyemprotan .....	19
6.	Pengujian Daya Sebar Lekat .....	19
K.	Uji Stabilitas Gel .....	19
L.	Monografi Bahan.....	20
1.	Carbopol 940 ( <i>Polyacrylic acid</i> ).....	20
2.	Propilen glikol .....	20
3.	Triethanolamin .....	21
4.	Metil paraben (Nipagin) .....	21
5.	Propil paraben (Nipazol) .....	21
6.	Air (Aqua Destillata).....	21
7.	Gentamisin Sulfat.....	21
M.	Landasan Teori .....	22
N.	Hipotesis .....	24
BAB III METODE PENELITIAN .....		25
A.	Populasi dan Sampel .....	25
B.	Variabel Penelitian .....	25
1.	Identifikasi variabel utama .....	25
2.	Klasifikasi variabel utama.....	25
3.	Definisi operasional variabel utama .....	26
C.	Alat Dan Bahan .....	27

1.	Alat .....	27
2.	Bahan.....	27
2.1	Bahan kimia. ....	27
2.2	Bahan kimia. ....	27
2.3	Bakteri uji. ....	27
2.4	Hewan Uji. ....	27
D.	Jalannya Penelitian .....	27
1.	Determinasi tanaman.....	27
2.	Pengambilan bahan .....	28
3.	Isolasi minyak atsiri dengan metode destilasi uap air .....	28
4.	Analisa minyak atsiri.....	28
4.1	Pengamatan organoleptik.....	28
4.2	Identifikasi minyak atsiri. ....	29
4.3	Penetapan indeks bias minyak atsiri. ....	29
4.4	Penetapan bobot jenis minyak atsiri .....	29
4.5	Penetapan kelarutan dalam alkohol. ....	29
5.	Sterilisasi .....	29
6.	Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 dengan media selektif.....	30
7.	Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 dengan pewarnaan Gram.....	30
8.	Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 dengan biokimia .....	30
9.	Pembuatan suspensi bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 .....	31
10.	Formula <i>Spray Gel</i> .....	31
11.	Pembuatan Sediaan <i>Spray Gel</i> .....	32
12.	Pembuatan kontrol.....	32
12.1	Kontrol negatif.....	32
12.2	Kontrol positif.....	32
12.3	Kontrol normal.....	32
13.	Pengujian sifat fisik sediaan <i>spray gel</i> .....	32
13.1	Pemeriksaan Organoleptik.....	32
13.2	Pemeriksaan Homogenitas.....	32
13.3	Pengukuran pH. ....	32
13.4	Pengukuran Viskositas.....	32
13.5	Pemeriksaan Pola Penyemprotan.....	33
13.6	Uji daya sebar gel. ....	33
13.7	Pengujian Daya Sebar Lekat.....	33
13.8	Uji stabilitas sediaan <i>spray gel</i> . ....	33
14.	Pengujian Efek Antibakteri .....	34
15.	Pengamatan pengujian efek antibakteri.....	34
16.	Perhitungan jumlah bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 dari nanah .....	34
E.	Analisis Data .....	35
F.	Skema Penelitian .....	36

BAB IV	HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	40
A.	Hasil Penelitian.....	40
1.	Determinasi tanaman.....	40
2.	Pengambilan Bahan.....	40
3.	Isolasi minyak atsiri .....	40
4.	Pengamatan organoleptik minyak atsiri .....	41
5.	Identifikasi minyak atsiri.....	41
6.	Penetapan indeks bias minyak atsiri daun jeruk purut .....	42
7.	Penetapan bobot jenis minyak atsiri daun jeruk purut .....	43
8.	Penetapan kelarutan dalam alkohol.....	43
9.	Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 berdasarkan koloni .....	44
10.	Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 dengan metode pewarnaan .....	44
11.	Hasil Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 secara biokimia.....	45
12.	Pembuatan suspensi bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 .....	46
13.	Hasil pengujian sifat fisik <i>spray gel</i> minyak atsiri daun jeruk purut .....	46
13.1	Organoleptis.....	46
13.2	Hasil uji homogenitas. ....	47
13.3	Hasil uji pH.....	48
13.4	Hasil uji viskositas.....	49
13.5	Pemeriksaan Pola Penyemprotan.....	51
13.6	Hasil uji daya sebar.....	52
13.7	Hasil uji daya sebar lekat.....	53
14.	Hasil pengujian stabilitas <i>spray gel</i> .....	54
14.1	Hasil uji organoleptis.....	54
14.2	Hasil uji pH.....	54
14.3	Uji viskositas.....	56
15.	Hasil pengujian aktivitas antibakteri secara <i>in vivo</i> .....	57
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN .....	64
A.	Kesimpulan.....	64
B.	Saran .....	64
DAFTAR PUSTAKA	.....	65
LAMPIRAN	.....	72

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Tanaman jeruk purut.....	6
Gambar 2. Skema isolasi minyak atsiri daun jeruk purut.....	36
Gambar 3. Skema kerja pembuatan formulasi <i>spray gel</i> .....	37
Gambar 4. Skema pembuatan <i>spray gel</i> minyak atsiri daun jeruk purut.....	38
Gambar 5. Skema pengujian <i>spray gel</i> minyak atsiri daun jeruk purut. ....	39
Gambar 6. Diagram hasil uji pH <i>spray gel</i> minyak atsiri daun jeruk purut .....	49
Gambar 7. Diagram hasil uji viskositas <i>spray gel</i> minyak atsiri daun jeruk purut.....	50
Gambar 8. Diagram hasil uji pola penyemprotan <i>spray gel</i> minyak atsiri daun jeruk purut.....	51
Gambar 9. Diagram hasil uji kestabilan pH <i>spray gel</i> minyak atsiri daun jeruk purut.....	55
Gambar 10. Diagram hasil uji kestabilan viskositas <i>spray gel</i> minyak atsiri daun jeruk purut.....	56
Gambar 11. Diagram hasil uji aktivitas antibakteri <i>spray gel</i> minyak atsiri daun jeruk purut.....	59

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Komponen Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut.....	7
Tabel 2. Formulasi spray gel .....	31
Tabel 3. Rancangan Formula Spray Gel yang telah Dimodifikasi .....	31
Tabel 4. Rendemen minyak atsiri daun jeruk purut.....	40
Tabel 5. Hasil pemeriksaan organoleptik minyak atsiri daun jeruk purut.....	41
Tabel 6. Identifikasi minyak atsiri daun jeruk purut .....	42
Tabel 7. Indeks bias minyak atsiri daun jeruk purut.....	42
Tabel 8. Hasil penetapan bobot jenis minyak atsiri daun jeruk purut .....	43
Tabel 9. Hasil organoleptis formula spray gel minyak atsiri daun jeruk purut.....	47
Tabel 10. Hasil homogenitas sediaan <i>spray gel</i> minyak atsiri daun jeruk purut dengan berbagai konsentrasi minyak atsiri. ....	48
Tabel 11. Hasil pemeriksaan pH <i>spray gel</i> minyak atsiri daun jeruk purut dengan berbagai konsentrasi minyak atsiri .....	48
Tabel 12. Hasil viskositas sediaan <i>spray gel</i> minyak atsiri daun jeruk purut dengan berbagai konsentrasi minyak atsiri.....	50
Tabel 13. Hasil pengukuran diameter semprot sediaan <i>spray gel</i> minyak atsiri daun jeruk purut dengan berbagai konsentrasi minyak atsiri .....	51
Tabel 14. Hasil pengukuran daya sebar <i>spray gel</i> minyak atsiri daun jeruk purut dengan berbagai konsentrasi minyak atsiri .....	52
Tabel 15. Hasil pengukuran daya sebar lekat <i>spray gel</i> minyak atsiri daun jeruk purut dengan berbagai konsentrasi minyak atsiri.....	53
Tabel 16. Hasil uji organoleptis stabilitas <i>spray gel</i> minyak atsiri daun jeruk purut dengan berbagai konsentrasi minyak atsiri dengan menggunakan metode <i>freeze thaw</i> .....	54
Tabel 17. Hasil pengukuran pH <i>spray gel</i> minyak atsiri daun jeruk purut sebelum dan setelah uji kestabilan dengan metode <i>freeze thaw</i> .....	55

Tabel 18. Hasil pengukuran viskositas <i>spray gel</i> minyak atsiri daun jeruk purut sebelum dan setelah uji kestabilan dengan metode <i>freeze thaw</i> . .....	56
Tabel 19. Pengamatan gejala klinis pada kulit punggung kelinci yang diinfeksi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	58
Tabel 20. Waktu penyembuhan infeksi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 pada kulit punggung kelinci.....	59
Tabel 21. Perhitungan jumlah koloni bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 pada media VJA .....	60
Tabel 22. Homogeneous subsets hasil uji aktivitas antibakteri <i>spray gel</i> minyak atsiri daun jeruk purut.....	62

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman jeruk purut.....	73
Lampiran 2. Surat Keterangan Hewan Uji.....	74
Lampiran 3. Daun jeruk purut dan destilasi.....	75
Lampiran 4. Identifikasi Indeks Bias Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut .....	76
Lampiran 5. Identifikasi minyak atsiri dan kelarutan dalam alkohol .....	77
Lampiran 6. Gambar alat .....	78
Lampiran 7. Alat sterilisasi .....	79
Lampiran 8. Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 .....	80
Lampiran 9. Bahan uji antibakteri .....	81
Lampiran 10. Bahan pewarnaan bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	82
Lampiran 11. Bahan pembuatan <i>Spray gel</i> .....	83
Lampiran 12. Punggung kelinci yang diinfeksi <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 .....	84
Lampiran 13. Pengamatan pengurangan jumlah koloni bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 punggung kelinci.....	85
Lampiran 14. Perhitungan kadar minyak atsiri daun jeruk purut .....	86
Lampiran 15. Perhitungan bobot jenis minyak atsiri daun jeruk purut.....	87
Lampiran 16. Hasil uji pH <i>spray gel</i> minyak atsiri daun jeruk purut .....	89
Lampiran 17. Uji statistik Kolmogorov-Smirnov, analisis two way anova pH <i>spray gel</i> minyak atsiri daun jeruk purut .....	90
Lampiran 18. Hasil uji viskositas <i>spray gel</i> minyak atsiri daun jeruk purut .....	93
Lampiran 19. Uji statistik Kolmogorov-Smirnov, analisis two way anova viskositas <i>spray gel</i> minyak atsiri daun jeruk purut .....	94
Lampiran 20. Hasil uji pH stabilitas <i>spray gel</i> minyak atsiri daun jeruk purut.....	96

Lampiran 21. Uji statistik Kolmogorov-Smirnov, analisis two way anova pH stabilitas <i>spray gel</i> minyak atsiri daun jeruk purut.....	97
Lampiran 22. Hasil uji viskositas stabilitas <i>spray gel</i> minyak atsiri daun jeruk purut .....	99
Lampiran 23. Uji statistik Kolmogorov-Smirnov, analisis two way anova viskositas stabilitas <i>spray gel</i> minyak atsiri daun jeruk purut.....	100
Lampiran 24. Data pola penyemprotan <i>spray gel</i> .....	102
Lampiran 25. Uji statistik kolmogorov-Smirnov, analisis twoway anova diameter semprot <i>spray gel</i> minyak atsiri daun jeruk purut.....	103
Lampiran 26. Data pengukuran daya sebar sediaan <i>spray gel</i> .....	106
Lampiran 27. Uji statistik kolmogorov-Smirnov, analisis twoway anova daya sebar <i>spray gel</i> minyak atsiri daun jeruk purut.....	107
Lampiran 28. Data koloni bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 pada punggung kelinci.....	111
Lampiran 29. Uji statistik kolmogorov-Smirnov, analisis twoway anova jumlah koloni bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 .....	112
Lampiran 30. Komposisi media.....	117



## INTISARI

**Widiyasanti, 2017, UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI *SPRAY GEL* MINYAK ATSIRI DAUN JERUK PURUT (*Citrus hystrix* DC.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 SECARA *IN VIVO*, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI SURAKARTA.**

Minyak atsiri daun jeruk purut mengandung sitronelal yang berkhasiat sebagai antibakteri, karena dapat merusak dinding sel sehingga bakteri terhambat. Penggunaan secara langsung kurang efektif dan tidak praktis, sehingga dibuat *spray gel*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut terhadap infeksi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara *in vivo*.

Daun jeruk purut didestilasi uap air, minyak atsiri yang diperoleh dibuat *spray gel* dengan konsentrasi 1%, 2%, dan 4%, kemudian diuji mutu fisik dan stabilitas. Uji antibakteri *spray gel* dengan mengamati waktu penyembuhan infeksi berdasarkan hilangnya eritema, nanah dan penurunan jumlah koloni bakteri yang dilakukan dengan menggunakan metode *Plate count*. Data yang diperoleh diolah dengan statistik *Analysis of Variance* metode dua jalan.

Minyak atsiri daun jeruk purut dapat dibuat sediaan *spray gel* dengan mutu fisik yang baik dan stabilitas yang baik pada konsentrasi 1% dan 2%. Hasil uji aktivitas antibakteri *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut dengan berbagai konsentrasi memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diinfeksi pada kelinci. Berdasarkan uji Kolmogorov Smirnov, signifikansinya  $0,159 > 0,05$ , *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut dengan konsentrasi 4% memiliki efek penyembuhan paling optimal terhadap bakteri *Staphylococcus aureus aureus* ATCC 25923 yang diinfeksi pada kelinci.

Kata kunci: *Staphylococcus aureus*, *Spray gel*, Minyak Atsiri, *Citrus hystrix* DC.

## ABSTRACT

**Widiyasanti, 2017, SPRAY GEL ANTIBACTERIAL ACTIVITY TESTS ESSENTIAL OIL LIME LEAVES (*Citrus hystrix* DC.) ON *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 FOR IN VIVO, Skripsi, FACULTY OF PHARMACY, UNIVERSITY OF SETIA BUDI SURAKARTA.**

Essential oils containing citronellal lime leaves are useful as antibacterial, because it can damage the cell walls so that the bacteria inhibited. The direct use of ineffective and impractical, so a spray gel. This study aims to determine the antibacterial activity of essential oils gel spray lime leaves against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 infection in vivo.

Lime leaves steam distilled water, essential oil obtained by spray gel made with a concentration of 1%, 2% and 4%, then tested the physical quality and stability. Test Antibacterial spray gel by observing the healing time of infection by the loss of erythema, pus and a decrease in the number of bacterial colonies using the method of Plate count, The data obtained were processed with statistical Analysis of Variance method of two-way.

Essential oils can be made lime leaves spray gel preparation with a good physical quality and good stabilitias at a concentration of 1% and 2%. The test results spray gel antibacterial activity of essential oil of kaffir lime leaves with different concentrations of antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 were infected in rabbits. based on the test Kolmogorov Smirnov, significance  $0.159 > 0.05$ , *spray gel* essential oil of kaffir lime leaves to a concentration of 4% has the most optimal healing effect against *Staphylococcus aureus aureus* ATCC 25923 who are infected in rabbits.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, *Spray gel*, Essential Oil, *Citrus hystrix* DC.

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang**

Masyarakat menginginkan keadaan yang sehat dalam melakukan aktivitas hidup mereka, maka diperlukan upaya untuk memelihara dan meningkatkan derajat kesehatannya sendiri (Indan 2010). Cara meningkatkan derajat kesehatan dengan menjaga sanitasi dan higiene kulit. Kulit merupakan organ terbesar dalam tubuh, bagiannya lebih dari 10% massa tubuh dan memungkinkan sering berinteraksi dengan lingkungan (Gibson 2008). Penyakit kulit merupakan salah satu penyakit yang sering dijumpai pada negara beriklim tropis seperti Indonesia. Penyakit infeksi di negara berkembang masih merupakan jenis penyakit yang paling banyak diderita oleh masyarakat dan salah satunya disebabkan oleh bakteri (Radji 2011). Penyakit kulit bukan penyakit mematikan, maka keberadaannya seringkali diabaikan dan dianggap tidak serius oleh penderita. Penyakit kulit dapat menurunkan kualitas hidup penderita dan juga berdampak pada produktivitas sumber daya manusia (Sayuti 2006). Salah satu jenis bakteri flora normal yang banyak terdapat pada kulit manusia yang dalam jumlah berlebih dapat menjadi patogen yaitu *Staphylococcus aureus*. Hal ini terjadi apabila bakteri berada pada lokasi asing (luka) dalam jumlah banyak dan juga terdapat faktor-faktor predisposisi seperti keringat berlebih, perubahan pH menjadi rendah, dan mandi tidak bersih (FKUI 2002).

*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 memproduksi koagulasi yang mengkatalisasi perubahan fibrinogen menjadi fibrin dan membantu organisme ini untuk membantu barisan perlindungan. Bakteri ini juga memiliki reseptor terhadap permukaan sel pejamu dan terhadap protein matriks yang membantu organisme tersebut untuk melekat (Irianto 2014). Infeksi oleh *Staphylococcus aureus* ditandai dengan kerusakan jaringan yang disertai abses bernanah. Bakteri *Staphylococcus aureus* bertanggung jawab atas 80% penyakit supuratif, dengan permukaan kulit sebagai habitat alaminya (Ginanjari *et al.* 2010).

Pengetahuan masyarakat tentang khasiat suatu tumbuhan untuk penyembuhan atau pencegahan suatu penyakit pada umumnya didasarkan pada resep nenek moyang, kebiasaan atau kepercayaan masyarakat setempat maupun pengetahuan tradisional dan seiring berkembangnya ilmu pengetahuan maka banyak dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap tanaman obat. Salah satu bahan alam yang memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai antiseptik adalah tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix*). Bagian tanaman jeruk purut yang sering digunakan untuk pengobatan maupun diperdagangkan adalah bagian buah, kulit buah, dan daun dari tanaman.

Hasil penelitian Putra RED (2017) menunjukkan kemampuan buah jeruk purut dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 karena kandungan minyak atsiri yang terdapat didalam buah jeruk purut yang dapat merusak dinding sel sehingga bakteri terhambat. Daun jeruk purut juga digunakan sebagai antibakteri karena daun jeruk purut mengandung flavonoid, tannin, polifenol, alkaloid dan minyak atsiri. Minyak atsiri daun jeruk purut mengandung sitronelal 81,49%, sitronelol 8,22%, linalol 3,69%, geraniol 0,31% (Munawaroh 2010). Komponen utama minyak atsiri daun jeruk purut adalah  $\beta$ -sitronelal, monoterpen (66,85% dari total minyak atsiri) yang diikuti oleh  $\beta$ -sitronelol, linalool, dan sitronelol (Loh *et al.* 2011). Sitronelal memiliki aktivitas antibakteri yang tinggi ditunjukkan dengan zona hambat sebesar 22 mm dan nilai KHM dan KBM sebesar 1,1 mg/ml (Vimol *et al.* 2012). Penelitian yang dilakukan oleh Yuliani (2011) juga menunjukkan minyak atsiri daun jeruk purut mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) berturut-turut sebesar 1% dan 2%.

Penggunaan minyak atsiri daun jeruk purut secara langsung pada kulit dianggap kurang efektif dan tidak praktis, sehingga untuk meningkatkan efektivitas penggunaan minyak atsiri daun jeruk purut dalam penelitian ini akan diformulasikan menjadi sediaan topikal yang berkhasiat sebagai antibakteri, sediaan yang dipilih yaitu berupa *spray gel*. Gel merupakan sistem semisolid yang terdiri dari dispersi molekul-molekul kecil atau besar didalam pembawa cairan

berair yang membentuk seperti jeli dengan penambahan *gelling agent* (Allen 2002). Menurut Niyaz *et al.* (2011) menyebutkan bahwa salah satu keuntungan penambahan *gelling agent* dalam sediaan gel adalah akan meningkatkan viskositas gel.

Gel semprot atau *spray gel* menurut Holland (2002) mengatakan istilah “gel atau hidrogel” mengacu pada bahan yang memiliki fase berair dengan setidaknya 10% sampai 90% dari berat sediaan, dan istilah *spray* mengacu pada komposisi yang dikabutkan, seperti terdiri dari tetesan cairan berukuran kecil atau besar, yang diterapkan melalui aplikator aerosol atau pompa semprot. *Spray gel* dibuat dengan menyesuaikan *gelling agent* karbopol untuk mendapatkan sediaan gel yang dapat disemprotkan langsung ke luka. Sediaan topikal dengan teknik semprot lebih disukai dibandingkan salep atau gel yang dioleskan, terutama untuk luka di kulit (Jauregui 2009). Bentuk ini memiliki keuntungan dimana dengan teknik semprot memungkinkan sediaan yang akan dihantarkan ke luka tanpa kontak dengan kapas swab, sehingga dapat meminimalkan limbah, mengurangi kemungkinan kontaminasi atau infeksi dan trauma pada pasien (Suyudi 2014).

Minyak atsiri daun jeruk purut memiliki aktivitas antibakteri, sehingga dapat ditingkatkan pemanfaatannya dengan memformulasi menjadi sediaan farmasi yaitu sediaan *spray gel* yang dapat digunakan secara topikal untuk menyembuhkan kulit punggung kelinci yang diinfeksi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

## **B. Perumusan Masalah**

Berdasarkan uraian latar belakang tersebut, maka dapat dibuat rumusan masalah sebagai berikut:

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

Kedua, apakah sediaan *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diinfeksi pada kelinci?

Ketiga, berapakah konsentrasi penyembuhan paling optimal dari konsentrasi 1 %, 2%, dan 4% pada sediaan *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut terhadap infeksi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada kelinci?

### **C. Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah:

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

Kedua, mengetahui apakah sediaan *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diinfeksi pada kelinci.

Ketiga, mengetahui konsentrasi penyembuhan paling optimal dari konsentrasi 1%, 2%, dan 4% pada sediaan *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut terhadap infeksi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada kelinci.

### **D. Manfaat Penelitian**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat bagi masyarakat luas khususnya pengembangan ilmu pengetahuan dibidang kesehatan yang saat ini masih berdasarkan pengalaman, dengan penambahan data hasil penelitian uji aktivitas antibakteri minyak atsiri daun jeruk purut dalam sediaan *spray gel* terhadap infeksi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada kelinci diharapkan dapat menjadi referensi tambahan dan dapat memberikan landasan ilmiah bagi penelitian selanjutnya.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Tanaman Jeruk Purut**

##### **1. Sistematika Tanaman Jeruk Purut**

Sistematika tanaman jeruk purut menurut USDA (2015) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Dicotyledonae
Subkelas	: Rosidae
Ordo	: Sapindales
Famili	: Rutaceae
Genus	: Citrus
Spesies	: <i>Citrus hystrix</i> DC.

##### **2. Nama Lain**

Indonesia: Unte mukur, unte pangir (Batak), lemau purut, lemau sarakan (Lampung), lemau puruik (Minangkabau), limau purut, jeruk wangi, jeruk purut (Sunda, Jawa)(Nuraini 2011).

##### **3. Morfologi Tanaman Jeruk Purut**

Jeruk (atau limau/limo) purut (*Citrus hystrix*) merupakan tumbuhan perdu yang dimanfaatkan terutama buah dan daunnya sebagai bumbu penyedap masakan. Jeruk purut adalah tanaman yang tumbuh pada daerah tropis, yang tersebar luas di Asia bagian selatan. Daun dan buah digunakan sebagai makanan. Buahnya berkerut, berbentuk pir dan berwarna hijau tua dan akan menjadi kuning apabila sudah matang. Daunnya berwarna hijau tua, mengkilap, dan permukaan bawah hijau muda atau kekuningan, buram, jika diremas baunya harum. Biasanya daunnya tumbuh berpasangan dan seperti angka delapan. Tangkai daun sebagian melebar menyerupai anak daun. Helai anak daun berbentuk bulat sampai

lonjong, pangkal membulat atau tumpul, ujung tumpul sampai meruncing, Panjangnya 8-15 cm, dan lebarnya 2-6 cm dan kedua permukaan licin dengan bintik-bintik kecil berwarna jernih. Bunganya berbentuk bintang, berwarna putih kemerah-merahan atau putih kekuning-kuningan. Bentuk buahnya bulat, kulitnya hijau berkerut, rasanya asam agak pahit. Tanaman ini perdu, setinggi 3-5 meter. Dalam kemasan dan ruang penyimpanan yang baik, daun jeruk purut bisa bertahan selama sekitar satu minggu. Sementara buah dalam keadaan utuh, bisa bertahan untuk jangka waktu sekitar dua minggu (Joko S 2010).



**Gambar 1. Tanaman jeruk purut**  
(Sumber: Munawaroh 2010)

#### **4. Kegunaan Tanaman**

Jeruk purut termasuk suku Rutaceae yang berpotensi sebagai penghasil minyak atsiri. Daun jeruk purut mengandung sabinena dan limonene yang berguna untuk kosmetik, aromaterapi pencuci rambut, antelmintik, obat sakit kepala, nyeri lambung, dan biopestisida. Daunnya juga sering digunakan sebagai rempah yang berfungsi untuk memberi aroma yang khas pada masakan (Munawaroh 2010).

Minyak atsiri daun jeruk purut disebut *kaffir lime oil* yang banyak digunakan dalam industri makanan, minuman, farmasi, flavor, parfum, pewarna.



Misalnya dalam industri pangan banyak digunakan sebagai pemberi cita rasa dalam produk olahan (Munawaroh 2010).

Minyak atsiri jeruk purut juga digunakan untuk mengobati jerawat, anemia, bengkak-bengkak, bisul, kutil, kulit berlemak, reumatik, tekanan darah tinggi, asma, infeksi tenggorokan, bronchitis, flu, dan lain-lain (Ma'mun & Sintha Suhirman 2012).

## 5. Kandungan tanaman

Daun jeruk purut mengandung alkaloid polifenol,  $\alpha$ -tokoferol, minyak atsiri, tannin, steroid triterpenoid, sitronellal, flavanoid sianidin, myricetin, peonidin, quercetin, luteolin, hesperetin, apigenin, dan isorhamnetin. Senyawa kimia yang dominan ada pada bagian-bagian tanaman jeruk adalah flavanoid dan minyak atsiri (Rahmi 2013). Minyak daun jeruk purut mengandung senyawa-senyawa sitral, mirsen, limonene, simen, 2,6- dimetilheptenal, sitronellal, linalool, betakaryofilen, geranil asetat, sikloheksana, karyofillen oksida, dan lain-lain (Lawless 2002). Hasil penelitian Koswara (2009), menyatakan minyak atsiri daun jeruk purut diperoleh dari proses destilasi mengandung komponen utama senyawa terpen yaitu sitronelal, sitronelol, linalool, dan geraniol. Hasil dari penelitian lain kandungan terbesar dalam minyak atsiri daun jeruk purut dengan proses pemeraman yaitu sitronelal yang memiliki kadar terbesar yakni 64,15%. Komponen lain dari minyak atsiri daun jeruk purut adalah beta-citronellol (10,71%), trans-caryophyllene (5,54%), dan linalool (5,31%) (Lia *et al* 2015). Senyawa aktif antibakteri dalam minyak atsiri daun jeruk purut adalah sitronelal yang ditunjukkan dengan zona hambat sebesar 22 mm dan nilai KHM dan KBM sebesar 1,1 mg/ml (Vimol *et al* 2012).

**Tabel 1. Komponen Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut**

Komponen Persentase	
Sitronelal	81,49%
Sitronelol	8,22%
Linalol	3,69%
Geraniol	0,31%
Komponen lain	6,29%

(Sumber: Munawaroh 2010)

## **B. Simplisia**

### **1. Pengertian simplisia**

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga, kecuali dinyatakan lain, simplisia merupakan bahan yang dikeringkan (Depkes 2008). Simplisia dibedakan menjadi simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelican (mineral). Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman dengan tingkat kehalusan tertentu. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh, atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan atau belum berupa bahan kimia murni. Simplisia pelican (mineral) yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa bahan murni (Gunawan dan Mulyani 2004).

### **2. Pengumpulan simplisia**

Waktu panen sangat erat hubungannya dengan senyawa aktif yang terdapat di dalam bagian tanaman yang dipanen. Waktu panen yang tepat pada saat bagian tanaman tersebut mengandung senyawa aktif dalam jumlah yang besar (Depkes 1985).

## **C. Minyak Atsiri**

Minyak ini juga disebut minyak menguap, minyak eteris, atau minyak esensial karena pada suhu biasa (kamar) mudah menguap di udara terbuka. Istilah esensial dipakai karena minyak atsiri mewakili bau dari tanaman asalnya (Gunawan dan Mulyani 2004). Minyak atsiri merupakan senyawa yang pada umumnya berwujud cairan, yang diperoleh dari bagian tanaman, akar, kulit, batang, daun, buah, dan biji maupun dari bunga dengan beberapa cara penyulingan minyak atsiri (Sastrahamidjojo 2004). Minyak atsiri juga disebut *essential oil* (dari kata *essence*) karena minyak tersebut memberikan bau pada tanaman (Koensoemardiyah 2010).

### **1. Sifat minyak atsiri**

Sifat-sifat minyak atsiri antara lain tersusun oleh bermacam-macam komponen senyawa, memiliki bau khas. Bau ini mewakili bau tanaman aslinya,

mempunyai rasa getir, kadang-kadang terasa tajam, menggigit, memberi kesan hangat sampai panas, atau justru dingin ketika terasa dikulit, tergantung dari jenis komponen penyusunnya, dalam keadaan murni (belum tercemar oleh senyawa lain) mudah menguap pada suhu kamar, bersifat tidak bisa disabunkan dengan alkali dan tidak biasa berubah menjadi tengik, pada umumnya tidak dapat bercampur dengan air, tetapi cukup dapat larut hingga dapat memberikan baunya kepada air walaupun kelarutannya sangat kecil, sangat mudah larut dalam pelarut organik (Gunawan dan Mulyani 2004).

Minyak atsiri ini berupa cairan jernih, tidak berwarna, selama penyimpanan akan mengental dan berwarna kekuningan atau kecoklatan. Hal tersebut terjadi karena adanya pengaruh oksidasi dan resinifikasi (berubah menjadi damar atau resin). Minyak atsiri harus dilindungi dari pengaruh sinar matahari untuk mencegah atau memperlambat proses oksidasi dan resinifikasi yang akan mengoksidasi minyak atsiri tersebut. Minyak atsiri sebaiknya disimpan dalam wadah berbahan dasar kaca yang berwarna gelap (misalnya, botol berwarna coklat atau biru gelap) untuk mengurangi sinar yang masuk, serta botol penyimpan minyak atsiri harus terisi penuh agar oksigen udara yang ada dalam ruang udara tempat penyimpanan tersebut kecil (Koensoemardiyah 2010).

Beberapa jenis minyak atsiri yang memiliki aroma yang mirip, tetapi tidak persis sama dan sangat bergantung pada komponen kimia penyusun minyak tersebut. Tidak semua jenis tumbuhan menghasilkan minyak atsiri, hanya tumbuhan yang memiliki sel glandula sajalah yang biasa menghasilkan minyak atsiri (Agusta 2000). Bagian utamanya adalah terpenoid, biasanya terpenoid terdapat pada fraksi yang tersuling uap. Zat inilah penyebab wangi, harum atau bau khas pada tumbuhan (Harborne 2007).

## **2. Metode isolasi minyak atsiri**

Minyak atsiri pada umumnya diisolasi dengan empat metode yang lazim digunakan. Pertama, metode destilasi/ penyulingan terhadap bagian tanaman yang mengandung minyak. Dasar dari metode ini adalah memanfaatkan perbedaan titik didih. Kedua, metode penyarian dengan menggunakan pelarut penyari yang cocok. Dasar dari metode ini adalah adanya perbedaan kelarutan. Minyak atsiri

sangat mudah larut dalam pelarut organik dan tidak larut dalam air. Ketiga, metode pengepresan dan pemerasan. Metode ini hanya bisa dilakukan terhadap simplisia yang mengandung minyak atsiri dalam kadar yang cukup besar karena kadar minyak atsiri yang kecil hanya akan habis didalam proses. Keempat, metode perlekatan bau dengan menggunakan media lilin. Cara ini memanfaatkan aktivitas enzim yang diyakini masih terus aktif selama sekitar 15 hari sejak bahan minyak atsiri dipanen (Gunawan dan Mulyani 2004).

Metode isolasi yang paling lazim digunakan adalah metode destilasi. Metode destilasi air, meliputi destilasi air dan uap air dan destilasi uap langsung. Metode ini dapat digunakan untuk bahan kering maupun bahan segar dan terutama digunakan untuk minyak-minyak yang kebanyakan dapat rusak akibat panas kering. Seluruh bahan dihaluskan kemudian dimasukan kedalam bejana yang bentuknya mirip dandang (Gunawan dan Mulyani 2004).

Penyulingan dengan air dan uap, bahan olah diletakkan di atas rak-rak atau saringan berlubang. Ketel suling diisi dengan air sampai permukaan air benda tidak jauh dibawah saringan. Air dapat dipanaskan berbagai cara yaitu dengan uap jenuh yang basah dengan bertekanan rendah. Ciri khas dari penyulingan ini adalah uap selalu dalam keadaan basah, jenuh dan tidak terlalu panas, bahan yang disuling hanya berhubungan dengan uap dan tidak dengan air panas (Guenther 2010). Penyulingan dengan uap, sering disebut penyulingan uap langsung, memiliki kesamaan prinsip dengan metode yang lain hanya dari penyulingan ini adalah air tidak diisikan dalam ketel.

### **3. Identifikasi minyak atsiri**

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

### **4. Penetapan indeks bias minyak atsiri**

Penetapan indeks bias ditetapkan dengan alat refraktometer dan diulang sebanyak tiga kali. Badan prisma dibuka dan kemudian dibersihkan dengan kapas yang telah dibasahi alkohol. Refraktometer diatur sehingga garis dan skala tampak

jelas, mencatat suhu ruang tempat bekerja kemudian meneteskan cairan yang diukur pada prisma dan menutup kembali. Pemutar sebelah kanan diatur sehingga batas gelap dan terang tepat pada garis dan dibaca skala dicatat indeks biasanya.

### **5. Penetapan bobot jenis minyak atsiri**

Bobot jenis minyak atsiri adalah perbandingan bobot minyak atsiri dengan bobot air pada suhu dan volume yang sama. Penetapan bobot jenis dilakukan dengan menggunakan metode pignometer dan dilakukan 3 kali pengulangan (Ansel 2006).

### **6. Uji kelarutan dalam alkohol 70%**

Menurut Badan Standar Nasional Indonesia (2001), uji kelarutan minyak atsiri dalam alkohol dilakukan dengan cara memipet minyak sebanyak 1ml ke dalam gelas ukur 10 ml, ditambahkan alkohol 70% secara bertahap. Pada setiap penambahan alkohol dikocok dan diamati kejernihannya. Minyak atsiri tersebut larut dalam alkohol ditandai dengan larutan yang jernih dengan penambahan alkohol.

## **D. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

### **1. Sistematika bakteri**

Klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menurut Soedarto (2015) adalah sebagai berikut:

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

### **2. Morfologi dan identifikasi**

*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 adalah bakteri Gram positif berbentuk bulat, berdiameter 0,8-1,0 mikron, tidak bergerak, tidak berspora,

bergerombol menyerupai untaian anggur, tidak terkapsul, tidak membentuk spora, nonmotil, aerob, fakultatif anaerob, dinding sel mengandung dua komponen utama yaitu polisakarida dan protein (Radji 2011). *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 tumbuh dengan mudah pada sebagian besar media bakteriologis dengan kondisi aerob atau mikroaerofilik, tumbuh paling cepat pada 37°C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada temperatur ruang (20-25°C). Koloni pada media solid berbentuk bulat, halus, timbul, dan mengkilat (Jawetz *et al.* 2012). *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 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 kering akan tahan berminggu-minggu hingga bulanan), dan juga tahan terhadap sulfonamide dan antibiotik lainnya (Iskamto 2009).

*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 mempunyai warna khas kuning keemasan hanya intensitas warnanya dapat bervariasi, koloni yang masih sangat muda tidak berwarna, tetapi dalam pertumbuhannya terbentuk pigmen yang larut dalam alkohol, eter, dan kloroform (Radji 2011). Pigmen ini termasuk dalam golongan lipolirum dengan alam tetap dalam koloni tidak meresap dalam pembenihan, tetapi larut dalam eksudat jaringan-jaringan sehingga nanah berwarna sedikit kuning keemasan yang merupakan petunjuk tentang adanya infeksi oleh kuman ini. Setiap jaringan atau alat tubuh dapat diinfeksi oleh bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan menyebabkan timbulnya penyakit dengan tanda-tanda khas yaitu peradangan dan pembentukan abses (Jawetz *et al.* 2001).

### **3. Patogenesis**

*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menyebabkan berbagai jenis infeksi pada manusia, antara lain infeksi pada kulit, seperti bisul dan furunkulosis; infeksi yang lebih serius, seperti pneumonia, mastitis, flebitis, dan meningitis; dan infeksi pada saluran urine. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 juga menyebabkan infeksi kronis, seperti osteomielitis dan endokarditis. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 merupakan salah satu penyebab utama infeksi nosokomial akibat luka tindakan operasi dan pemakaian alat-alat perlengkapan perawatan di rumah

sakit. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat menyebabkan keracunan makanan akibat enterotoksin yang dihasilkannya dan menyebabkan sindrom renjat toksik (*toxic shock syndrome*) akibat pelepasan superantigen ke dalam aliran darah (Radji 2011).

#### 4. Epidemiologi

*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 adalah parasit manusia yang menginvasi dan menyerang setiap bagian tubuh kita. Sumber utama infeksi akibat bakteri ini adalah *secret lesi* manusia, benda yang terkontaminasi lesi-lesi tersebut, dan saluran nafaas serta kulit manusia. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menyebar melalui kontak yang paling tinggi terjadi di rumah sakit (Jawetz *et al* 2012).

#### E. Hewan Uji Kelinci *New Zealand White*

Klasifikasi kelinci menurut Kartadisastra (1997) sebagai berikut :

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Chordota
Sub Phylum	: Vertebrata
Clasis	: Mamalia
Ordo	: Lagomorpa
Familia	: Leporidae
Sub Familia	: Lepus
Genus	: <i>Oryctolagus</i>
Species	: <i>Oryctolagus canicullus</i>

Kelinci dengan ras *New Zealand White* merupakan kelinci albino, kelinci ini memiliki ciri bulu putih halus, padat, tebal, dan matanya berwarna merah. Berat anak kelinci *New Zealand White* umur 58 hari sekitar 1,8 kg, umur 8 minggu beratnya rata-rata 3,6 kg dan umur 10-12 minggu beratnya mencapai 4,5-5 kg (Hustamin 2006).

Kelinci *New Zealand White* ini digunakan untuk penelitian karena memiliki beberapa keunggulan antara lain: sifat produksi tinggi, tidak dibutuhkan banyak biaya dalam pemeliharaan, siklus hidup yang pendek, daya tahan yang lebih kuat

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

## **F. Infeksi**

Infeksi adalah penyakit yang disebabkan oleh mikroba patogen dan bersifat sangat dinamis. Mikroba sebagai makhluk hidup memiliki cara bertahan hidup dengan berkembang biak pada suatu reservoir yang cocok dan mampu mencari reservoir lainnya yang baru dengan cara menyebar atau berpindah (Darmadi 2008). Organisme penginfeksi menggunakan sarana yang dimiliki inang untuk dapat memperbanyak dirinya yang pada akhirnya merugikan inang. Respons inang terhadap infeksi disebut peradangan (Janeway *et al* 2001).

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

## **G. Antibakteri**

Antibakteri adalah obat pembasmi bakteri khususnya bakteri yang merugikan manusia. Berdasarkan sifat toksisitas selektif, ada bakteri yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri dan ada yang bersifat membunuh bakteri. Kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri masing-masing dikenal sebagai Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM). Antibakteri tertentu aktivitasnya dapat meningkat menjadi bakterisida bila kadar antibakterinya ditingkatkan melebihi KHM. Mekanisme kerja antibakteri adalah sebagai berikut :

### **1. Menghambat metabolisme sel bakteri**

Antibakteri termasuk dalam kelompok ini ialah sulfonamid, trimetropin, asam p-aminosalisilat (PAS) dan sulfon. Bakteri membutuhkan asam folat untuk kehidupannya dan harus mensintesis sendiri asam folat dari asam amino benzoat (PABA) untuk kebutuhan hidupnya, berbeda dengan mamalia yang mendapatkan



asam folat dari luar, kuman patogen harus mensintesis sendiri asam folat dari asam benzoat (PABA). Sulfonamid dan sulfon memang bersaing dengan PABA dalam pembentukan asam folat, membentuk analog asam folat yang nonfungsional, yang berakibat kehidupan mikroba akan terganggu (Akhyar 2010).

## **2. Menghambat sintesis dinding sel bakteri.**

Obat yang termasuk dalam kelompok ini ialah penisillin, sefalosporin, basitrasin, vankomisin, dan sikloserin. Dinding sel bakteri terdiri dari polipeptidoglikan yaitu suatu kompleks polimer mukopeptida (glikopeptida). Sikloserin menghambat reaksi yang paling dini dalam proses sintesis dinding; diikuti berturut-turut oleh basitrasin, vankomisin dan diakhiri oleh penisilin dan sefalosporin, yang menghambat reaksi terakhir (transpeptidase) dalam rangkaian reaksi tersebut. Tekanan osmotik dalam sel kuman lebih tinggi daripada di luar sel maka kerusakan dinding sel kuman akan menyebabkan terjadinya lisis, yang merupakan dasar efek bakterisidal pada kuman yang peka (Akhyar 2010).

## **3. Menghambat ketuhan membran sel bakteri.**

Obat yang termasuk dalam kelompok ini adalah polimiksin, golongan polien serta berbagai antibakteri kemoterapeutik, umpan antiseptik *surface active agents*. Polimiksin sebagai senyawa amonium-kuatener dapat merusak membran sel setelah bereaksi dengan fosfat pada fosfolipid membran sel mikroba. Polimiksin tidak efektif terhadap kuman Gram positif karena jumlah fosfor bakteri ini rendah. Antibiotik polien bereaksi dengan struktur sterol yang terdapat dalam membran sel fungus sehingga mempengaruhi permeabilitas selektif membran tersebut. Antiseptik yang mengubah tegangan permukaan (*surface active agents*) dapat merusak permeabilitas selektif dari membran sel menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel bakteri yaitu protein, asam nukleat, nukleotida dan lain-lain (Akhyar 2010).

## **4. Menghambat sintesis protein sel bakteri.**

Obat yang termasuk dalam kelompok ini adalah golongan aminoglikosida, makrolid, linkomisin, tetrasiklin, dan kloramfenikol. Sintesis protein berlangsung di ribosom, dengan bantuan mRNA dan tRNA, pada bakteri, ribosom terdiri atas dua sub unit, yang berdasarkan konstanta sedimentasi dinyatakan sebagai ribosom

30S dan 50S, berfungsi pada sintesis protein, kedua komponen ini akan bersatu pada pangkal rantai mRNA menjadi 70S. Linkomisin berikatan dengan komponen ribosom 50S dan menghambat sintesis protein. Tetrasiklin berikatan dengan ribosom 30S dan menghalangi masuknya kompleks tRNA asam amino pada lokasi asam amino. Penghambatan sintesis protein terjadi dengan berbagai cara streptomisin berikatan dengan komponen ribosom 30S dan menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca oleh tRNA pada waktu sintesis protein. Terbentuk protein yang abnormal dan nonfungsional pada sel bakteri kloramfenikol berikatan dengan ribosom 50S dan menghambat peningkatan asam amino baru pada rantai polipeptida oleh enzim peptidil transferase (Akhyar 2010).

#### **5. Menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri.**

Antibakteri yang termasuk dalam kelompok ini adalah rifampisin, dan golongan kuinolon. Obta digunakan sebagai antivirus rifampisin, salah satu derivat rifampisin, berikatan dengan enzim polimerase-RNA (pada su unit) sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA oleh enzim tersebut. Golongan kuinolon menghambat enzim DNA girase pada kuman yang fungsinya menata kromosom yang sangat panjang menjadi bentuk spiral sehingga muat dalam sel kuman yang kecil (Akhyar 2010).

### **H. 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 diresapi cairan. Suatu gel yang makro molekulnya disebarkan ke seluruh 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).

Berdasarkan basis yang digunakan sediaan gel dapat dibedakan menjadi 2 yaitu hidrogel dan lipogel. Hidrogel merupakan sediaan yang dapat dioleskan yang terbentuk melalui pembengkakan terbatas bahan makromolekul organik atau senyawa anorganik dan tergolong dalam kelompok besar heterogel kaya kandungan air (kandungan air 80-90%)(Voigt 1994). Sediaan gel dengan basis

hidrogel lebih dipilih karena lebih banyak keuntungannya daripada sediaan gel dengan basis lipogel. Mendispersikan bahan pembentuk gel sedemikian rupa sehingga tidak terjadi penggumpalan ketika ditambah air untuk memperoleh gel yang homogen. Beberapa teknik yang dapat dilakukan antara lain dengan penambahan 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).

Daya sebar merupakan karakteristik penting dalam formulasi gel karena daya sebar mempengaruhi kemudahan saat sediaan diaplikasikan pada kulit. Daya sebar suatu sediaan biasanya berbanding terbalik dengan nilai viskositas. Semakin tinggi nilai viskositas, daya sebar akan semakin rendah (Grag *et al* 2002).

### **I. Gel semprot (*Spray Gel*)**

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

Sediaan dalam bentuk semprot yang diketahui selama ini adalah aerosol. Kekurangan aerosol yang mengandung propelan adalah kurang maksimalnya penghantaran obat ke kulit serta terkadang terdapat zat aktif yang kurang larut dalam sediaan aerosol, serta penggunaan propelan yang dapat berpengaruh secara serius terhadap lapisan stratosphere ozon (Suyudi 2014). Gel semprot dapat mengatasi masalah aerosol dan larutan semprot karena mengandung bahan pengental yang dapat bertahan ketika di aplikasikan serta tidak mengandung propelan yang berbahaya (Kamishita 1992).

Teknik semprot merupakan salah satu sediaan baru yang memiliki keuntungan dimana dengan teknik semprot memungkinkan sediaan yang akan dihantarkan ke luka tanpa melalui kontak dengan kapas swab, sehingga dapat meminimalkan limbah, mengurangi kemungkinan kontaminasi atau infeksi dan

trauma pada pasien (Suyudi 2014). Sediaan topikal dengan teknik semprot lebih disukai dibandingkan salep atau gel, terutama untuk luka di kulit (Jauregui 2009).

Mekanisme gel semprot atau *spray gel* dijelaskan dalam Porzio (1998) yaitu keadaan stres, yang disebabkan oleh mekanisme penyemprotan mekanik akan menyebabkan penurunan viskositas dari formulasi. Menurut Kamishita *et al* (1992) gel semprot dapat diformulasikan dengan obat yang larut maupun tidak larut dalam air. Penggunaan obat tidak larut dalam air dilakukan dengan zat aktif terlebih dahulu dilarutkan atau didispersikan dalam pelarut organik atau pelarut yang dapat melarutkan zat aktif namun dapat larut dalam air. Contoh pelarut tersebut adalah surfaktan, alkohol dengan rumus molekul rendah (etanol, isopropanol), dan golongan glikon (propilen glikol, 1-2 butilen glikol, polietilen glikol dengan berat molekul 300-500) (Suyudi 2014).

## **J. Uji Mutu Fisik *Spray Gel***

### **1. Pemeriksaan Organoleptik**

Uji organoleptik dilakukan untuk melihat tampilan fisik dengan pengamatan warna, bau, dan konsistensi dari sediaan yang telah dibuat (Djajadisastra 2009)

### **2. Pemeriksaan Homogenitas**

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

### **3. Pengukuran Viskositas**

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

### **4. Pengukuran pH**

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

## 5. Pemeriksaan Pola Penyemprotan

Sediaan disemprotkan pada lembar plastik yang sudah diukur beratnya dan sudah diberi nomor dengan jarak 3 cm, 5 cm, 10 cm, 15 cm, dan 20 cm kemudian diukur waktu pengeringan menggunakan *stopwatch* dan ditimbang setelah disemprotkan. Pengujian setiap jarak dilakukan secara triplo, pada uji ini yang diamati adalah pola pembentukan semprotan, diameter dari pola semprot yang terbentuk, dan banyaknya sediaan yang keluar (gram) setiap semprotnya dengan jarak yang sama (Suyudi 2014)

## 6. Pengujian Daya Sebar Lekat

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

## K. Uji Stabilitas Gel

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

## L. Monografi Bahan

### 1. Carbopol 940 (*Polyacrylic acid*)

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

Carbopol bersifat stabil, higroskopik, penambahan temperatur berlebih dapat mengakibatkan kekentalan menurun sehingga mengurangi stabilitas. Carbopol 934 dan 940 mempunyai berat molekul berturut-turut  $3 \times 10^6$  dan  $4 \times 10^6$  yang biasa digunakan untuk industri farmasi. Keduanya baik digunakan untuk penggunaan secara topikal Carbopol 940 menunjukkan kejernihan yang lebih besar dibandingkan dengan Carbopol 934 (Allen 2002). Carbopol 940 digunakan untuk bahan pengemulsi pada konsentrasi 0,1-0,5 %, bahan pembentuk gel pada konsentrasi 0,5-2,0 %, bahan pensuspensi pada konsentrasi 0,5-1,0 % dan bahan perekat sediaan tablet pada konsentrasi 5-10% (Rowe *et al* 2006).

### 2. Propilen glikol

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

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

### 3. Triethanolamin

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

### 4. Metil paraben (Nipagin)

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

### 5. Propil paraben (Nipasol)

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

### 6. Air (Aqua Destillata)

Air suling memiliki rumus molekul  $H_2O$  dengan berat molekul 18,02. Air suling dibuat dengan penyulingan air yang dapat diminum. Pemerian cairan jernih, tidak berwarna, tidak bau dan tidak memiliki rasa (Ditjen POM 1979)

### 7. Gentamisin Sulfat

Gentamisin merupakan Serbuk putih sampai kekuning-kuningan, Larut dalam air, tidak larut dalam etanol, dalam kloroform, dalam eter dan dalam benzen. Disimpan dalam wadah tertutup rapat dan pH : 3,5 – 5,5. Stabil pada suhu 4°C dan 25°C (Martindale 2005)

### M. Landasan Teori

*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 adalah bakteri bersifat Gram positif, biasanya tersusun dalam rangkaian tidak beraturan seperti buah anggur. Beberapa diantaranya tergolong flora normal pada kulit dan selaput mukosa manusia, menyebabkan penanahan, abses, berbagai infeksi pirogen dan bahkan septikimia yang fatal (Radji 2011). *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 mengandung polisakarida dan protein yang berfungsi sebagai antigen dan merupakan substansi penting didalam struktur dinding sel, tidak membentuk spora, dan tidak membentuk flagel (Jawetz *et al.* 2005). Organisme penginfeksi menggunakan sarana yang dimiliki inang untuk dapat memperbanyak dirinya yang pada akhirnya merugikan inang. Setiap jaringan atau alat tubuh dapat diinfeksi oleh bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan menyebabkan timbulnya penyakit dengan tanda-tanda khas yaitu peradangan dan pembentukan abses (Jawetz *et al* 2001).

Antibakteri adalah suatu bahan yang dapat membasmi bakteri khususnya mikroba yang merugikan dan bersifat patogen bagi manusia. Salah satu tanaman yang memiliki aktivitas antibakteri adalah daun jeruk purut. Minyak atsiri merupakan zat yang memberikan aroma pada tumbuhan. Keadaan segar dan murni tanpa pencemaran, minyak atsiri umumnya tidak berwarna. Mencegah supaya tidak berubah warna, minyak atsiri harus terlindung dari cahaya, misalnya disimpan dalam bejana gas yang berwarna gelap (Gunawan dan Mulyani 2004). Minyak atsiri daun jeruk purut disebut *kaffir lime oil* yang banyak digunakan dalam industri makanan, minuman, farmasi, *flavor*, parfum, pewarna. Minyak atsiri daun jeruk purut mengandung sitronelal 81,49%, sitronelol 8,22%, linalol 3,69%, geraniol 0,31% (Munawaroh 2010). Hasil uji aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menunjukkan bahwa minyak atsiri daun jeruk purut mempunyai nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) berturut-turut sebesar 1 dan 2% (Yuliani R 2011). Hasil penelitian Putra RED (2017) menunjukkan kemampuan buah jeruk purut dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 karena



kandungan minyak atsiri yang terdapat didalam buah jeruk purut yang dapat merusak dinding sel sehingga bakteri terhambat.

Penelitian ini menguji aktivitas antibakteri sediaan *spray gel* dari minyak atsiri daun jeruk purut. Penggunaan minyak atsiri daun jeruk purut secara langsung pada kulit dianggap tidak praktis dan kurang efektif, sehingga untuk meningkatkan efektivitas penggunaan minyak atsiri daun jeruk purut dibuat sediaan topical seperti dibuat sediaan gel semprot atau *spray gel*. Teknik semprot merupakan salah satu sediaan baru yang memiliki keuntungan dimana dengan teknik semprot memungkinkan sediaan yang akan dihantarkan ke luka tanpa melalui kontak dengan kapas swab, sehingga dapat meminimalkan limbah, mengurangi kemungkinan kontaminasi atau infeksi dan trauma pada pasien.

Hasil penelitian Suyudi (2014), gel semprot dibuat dengan menyesuaikan *gelling agent* karbopol 940 dan Hidroksipropil Metil Selulosa (HPMC) untuk mendapatkan sediaan gel yang dapat disemprotkan langsung ke luka dengan pola semprot yang menyebar, organoleptik sediaan yang keruh dan terdapat gelembung udara. Formulasi gel semprot dari segi stabilitas dan pola penyemprotan formula dapat digunakan sebagai gel semprot. Uji kestabilan fisik sediaan gel dilakukan dengan melakukan pengamatan pada warna dan bau selama penyimpanan 4 minggu. Hasil pengamatan perubahan stabilitas fisik sediaan gel menunjukkan bahwa formula gel yang dibuat dengan penambahan minyak atsiri tidak mengalami perubahan warna dan bau selama pengamatan, sehingga dapat disimpulkan semua sediaan stabil secara fisik (Wijayanto 2012).

Uji aktivitas antibakteri sediaan *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut dalam penelitian ini dengan metode *in vivo* menggunakan hewan uji kelinci. Konsentrasi minyak atsiri daun jeruk purut dalam sediaan *spray gel* dengan konsentrasi yang berbeda-beda yaitu 1%, 2%, dan 4%. Menurut Jawetz *et al* (2001) bahwa suatu zat antimikroba menjadi efektif apabila dipengaruhi oleh konsentrasi zat tersebut. Semakin tinggi konsentrasi menyebabkan kandungan bahan aktif yang berfungsi sebagai bahan antimikroba semakin meningkat, sehingga kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan mikroba juga semakin besar.

## N. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori yang ada dapat disusun suatu hipotesis dalam penelitian ini adalah:

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

Kedua, sediaan *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diinfeksi pada kelinci.

Ketiga, konsentrasi penyembuhan paling optimal dari konsentrasi 1%, 2%, dan 4% pada sediaan *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut terhadap infeksi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada kelinci adalah konsentrasi 4%.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Populasi dan Sampel**

Populasi adalah semua obyek yang menjadi sasaran penelitian. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun jeruk purut yang diambil bulan Juli tahun 2017 dari desa Karangpandan, Karanganyar, Jawa Tengah.

Sampel adalah sebagian kecil dari populasi yang digunakan dalam melakukan penelitian. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun jeruk purut segar dan bebas dari hama yang diambil bulan Juli tahun 2017 dari desa Karangpandan, Karanganyar, Jawa Tengah.

#### **B. Variabel Penelitian**

##### **1. Identifikasi variabel utama**

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah minyak atsiri daun jeruk purut yang diperoleh dari destilasi uap air.

Variabel utama kedua dalam penelitian ini adalah sediaan *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut dengan konsentrasi 1%, 2%, dan 4%.

Variabel utama ketiga dalam penelitian ini adalah aktivitas antibakteri sediaan *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut dengan konsentrasi 1%, 2%, dan 4% terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

##### **2. Klasifikasi variabel utama**

Variabel utama dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai macam yaitu variabel bebas, variabel tergantung, dan variabel terkendali.

Variabel bebas adalah variabel yang sengaja direncanakan untuk diteliti pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah berbagai konsentrasi minyak atsiri daun jeruk purut dalam sediaan *spray gel*.

Variabel tergantung yaitu persoalan utama yang merupakan kriteria penelitian. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah adanya aktivitas

antibakteri pada kulit punggung kelinci dilihat dari kesembuhan luka dan jumlah bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dari nanah.

Variabel terkontrol adalah variabel yang dianggap berpengaruh selain variabel bebas, sehingga perlu ditetapkan klasifikasinya agar dapat diulang dalam penelitian lain secara tepat. Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah kemurnian minyak atsiri daun jeruk purut, bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, waktu inkubasi, pembuatan sediaan *spray gel*, pola penyemprotan, diameter dari pola semprot yang terbentuk, dosis semprot, jarak penyemprotan, pemilihan kelinci (berat badan, kesehatan, kebersihan), tempat tumbuhnya tanaman, penelitian dan laboratorium.

### **3. Definisi operasional variabel utama**

Pertama, daun jeruk purut adalah daun dari tanaman jeruk purut segar dan bebas hama yang diambil secara acak dari desa Karangpandan, Karanganyar, Jawa Tengah.

Kedua, minyak atsiri daun jeruk purut adalah minyak atsiri hasil destilasi daun jeruk purut dengan menggunakan metode destilasi uap air.

Ketiga, konsentrasi sediaan adalah konsentrasi minyak atsiri daun jeruk purut dalam sediaan *spray gel* dengan konsentrasi yang berbeda-beda yaitu 1%, 2%, dan 4%.

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

Kelima, kelinci percobaan adalah kelinci jantan putih (*New Zealand White*) berumur  $\pm$  3 bulan, bobot 2-3 Kg dan kulit punggung kelinci adalah pada bagian punggung kelinci yang telah dicukur.

Keenam, uji aktivitas antibakteri secara *in vivo* adalah daya penyembuhan terhadap pertumbuhan bakteri dengan cara menginfeksi secara subkutan, lalu ditutup dengan perban steril dibiarkan selama 48 jam sampai terjadi infeksi, kemudian di semprotkan *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut.

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

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

### C. Alat Dan Bahan

#### 1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi timbangan digital, seperangkat alat destilasi uap air, corong pisah, pipet volume, gelas ukur (5ml/50ml/100ml), batang pengaduk, erlenmeyer 250 ml, beaker glass 100 ml, cawan porselin, mortir, stamper, kertas saring, sudip, wadah *spray gel*, kapas lidi steril/ swab, lampu spiritus, jarum ose, tabung reaksi, rak tabung reaksi, sarung tangan, masker, viskometer, vortex mixer, water bath, seperangkat alat uji daya sebar, refraktometer, pH meter, dan corong kaca.

#### 2. Bahan

**2.1 Bahan kimia.** Bahan sampel yang digunakan adalah minyak atsiri dari daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) yang masih segar dan bebas hama.

**2.2 Bahan kimia.** Bahan kimia yang digunakan yaitu Karbopol, propilenglikol, Trietanolamin, Metil paraben, Akuades, gentamisin, *Brain Heart Infusion (BHI)*, *Vogel Johnson agar (VJA)*, kalium tellurit,  $\text{Na}_3\text{SO}_4$  eksikatus, alkohol, cat kristal violet, lugol iodine, etanol aseton, dan NaCl.

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

**2.4 Hewan Uji.** Hewan uji yang digunakan dalam penelitian adalah kelinci putih jantan (*New Zealand White*) berumur  $\pm$  3-5 bulan, berat kelinci 2-3 Kg.

### D. Jalannya Penelitian

#### 1. Determinasi tanaman

Determinasi tanaman dalam tahap penelitian ini adalah menetapkan kebenaran sampel tanaman jeruk purut dengan mencocokkan ciri-ciri morfologi

daun jeruk purut di Laboratorium Morfologi Sistematika Tumbuhan Universitas Setia Budi Surakarta.

## **2. Pengambilan bahan**

Daun jeruk purut yang diperoleh dari desa Karangpandan, Karanganyar, Jawa Tengah. Bagian tanaman yang digunakan untuk mendapatkan minyak atsiri adalah daun yang tidak terlalu tua dan juga tidak terlalu muda. Daun digunakan dalam keadaan segar tanpa pengeringan untuk menghasilkan minyak atsiri yang lebih maksimal karena dalam pengeringan dapat menyebabkan minyak atsiri dalam tanaman menguap.

## **3. Isolasi minyak atsiri dengan metode destilasi uap air**

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

Minyak yang diperoleh kemudian dilakukan pemisahan fase air dan minyak menggunakan corong pisah dengan penambahan  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  eksikator untuk memisahkan antara minyak dan air, sehingga didapat hasil sulingan daun jeruk purut murni. Minyak diperoleh kemudian disimpan dalam botol coklat dan ditempat yang sejuk, hal ini dilakukan untuk menghindari minyak atsiri yang didapat tidak rusak atau teroksidasi (Depkes 2003).

## **4. Analisa minyak atsiri**

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

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

**4.3 Penetapan indeks bias minyak atsiri.** Penetapan indeks bias dilakukan dengan alat refraktometer dan diulang sebanyak tiga kali. Refraktometer diatur sehingga garis dan skala tampak jelas, mencatat suhu ruang tempat bekerja kemudian meneteskan minyak atsiri daun jeruk purut yang diukur pada prisma dan menutupnya kembali. Pemutar sebelah kanan diatur sehingga batas gelap dan terang tepat pada garis dan dibaca skala dicatat indeks biasanya (Stahl 2008).

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

**4.5 Penetapan kelarutan dalam alkohol.** Uji kelarutan minyak atsiri dalam alkohol dilakukan dengan cara memipet minyak sebanyak 1 ml ke dalam gelas ukur 10 ml, ditambah 1 ml alkohol 70% dengan cara bertahap. Pada setiap penambahan alkohol kocok dan amati kejernihannya.

## **5. Sterilisasi**

Media dan alat-alat gelas seperti beker glass dan gelas ukur yang digunakan dalam penelitian ini disterilkan terlebih dahulu dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, sedangkan alat seperti jarum ose disterilkan dengan

pemanas api langsung dan inkas disterilkan dengan menggunakan formalin (Suriawiria 2005).

#### **6. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan media selektif**

Suspensi bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang telah siap diinokulasikan pada medium VJA yang sudah ditambahkan 3 tetes kalium tellurit 1% kemudian diinkubasi selama 48-72 jam dengan suhu 37°C. Hasil pengujian ditunjukkan dengan warna koloni hitam dan warna medium disekitar kuning (Hadioetomo 1985).

#### **7. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan pewarnaan Gram**

Pewarnaan Gram dilakukan dengan menggunakan Kristal Violet (Gram A) sebagai pewarna utama, diamkan kurang lebih 1 menit, dicuci aquadest mengalir dan ditetesi Lugols Iodine (Gram B sebagai mordant) diamkan kurang lebih 1menit, dicuci aquadest mengalir dan dikeringkan, kemudian tetesi Gram C dan didiamkan kurang lebih 45 detik, dicuci aquadest mengalir kemudian ditetesi Gram D (cat Safranin sebagai cat lawan atau penutup) dan didiamkan kurang lebih 1 menit, lalu cuci aquadest mengalir kemudin preparat dikeringkan di udara *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 positif bila bewarna ungu, bentuk bulat, dan bergerombol seperti anggur waktu diamati dibawah mikroskop (Volk & Wheller 1988).

#### **8. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan biokimia**

Identifikasi dengan uji biokimia ada dua cara yaitu dengan uji koagulase dan uji katalase. Uji koagulase dilakukan dengan cara plasma darah kelinci yang diberi sitrat, diencerkan (1:5) dicampur dengan biakan kaldu sama banyaknya dan dieramkan pada suhu 37°C. Suatu tabung plasma dicampur dengan dengan kaldu steril yang dieramkan sebagai control. Tabung-tabung sering diperiksa dengan melihat pembentukan massa 1-4 jam. Hasilnya positif kuat jika tabung test dibalik, gumpalan plasma tidak terlepas dan tetap melekat pada dinding tabung. Uji katalase menggunakan suspensi bakteri uji yang ditanam pada medium



nutrient cair dengan hydrogen peroksida 3% hasil dinyatakan positif bila terlihat pembentukan gelembung udara (Radji 2011).

### 9. Pembuatan suspensi bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Pembuatan suspensi 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.

### 10. Formula *Spray Gel*

Formulasi dirancang dengan variasi konsentrasi minyak atsiri daun jeruk purut pada tiap formula.

**Tabel 2. Formulasi *spray gel***

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

(Sumber: Suyudi 2014)

**Tabel 3. Rancangan Formula *Spray Gel* yang telah Dimodifikasi**

Bahan	Satuan	Konsentrasi				
		Negatif	Positif	1 %	2%	4%
Minyak atsiri daun jeruk purut	gram	-	-	1,00	2,00	4,00
Karbopol	gram	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
Gentamisin	gram	-	0,10	-	-	-
Propilenglikol	gram	15	15	15	15	15
Trietanolamin	gram	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Metil paraben	gram	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18
propil paraben	gram	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Akuades ad	mL	100	100	100	100	100

## 11. Pembuatan Sediaan *Spray Gel*

Cara pembuatan *spray gel* adalah: karbopol yang telah digerus tambahkan akuades panas, ditambahkan Trietanolamin (TEA) dibiarkan mengembang kemudian digerus. Di dalam wadah terpisah, metil paraben dilarutkan dalam akuades yang telah dipanaskan hingga larut kemudian dimasukkan ke dalam karbopol yang sudah dikembangkan. Minyak atsiri daun jeruk purut dilarutkan dengan propilen glikol kemudian ditambah propil paraben, kemudian dimasukkan ke dalam campuran sebelumnya pada suhu  $\pm 30^{\circ}\text{C}$ . Diaduk hingga terbentuk massa gel yang kental, jernih dan homogen, dimasukkan dalam wadah yang cocok dan tertutup rapat (Wijayanto 2012).

## 12. Pembuatan kontrol

**12.1 Kontrol negatif.** Kontrol negatif yang digunakan adalah gel yang tidak mengandung minyak atsiri daun jeruk purut.

**12.2 Kontrol positif.** Kontrol positif yang digunakan adalah gentamisin 0,1%.

**12.3 Kontrol normal.** Kontrol normal adalah kulit punggung kelinci tanpa pelakuan.

## 13. Pengujian sifat fisik sediaan *spray gel*

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

**13.2 Pemeriksaan Homogenitas.** Sediaan gel diuji homogenitasnya dengan mengoleskannya pada sekeping kaca preparat (transparan). Dilihat dari partikel/ zat yang dapat tercampur secara homogen atau memisah (Sudjono 2012).

**13.3 Pengukuran pH.** Sediaan gel diukur pH nya menggunakan pH meter yang telah dikalibrasi (Sudjono 2012).

**13.4 Pengukuran Viskositas.** Viskositas merupakan faktor penting dalam peningkatan stabilitas gel dan membuat suatu bentuk sediaan mudah di aplikasikan. Seorang farmasis akan mempertimbangkan viskositas untuk meningkatkan stabilitas sediaan yang diformulakan (Allen 2002). Pengujian

viskositas dapat dilakukan dengan menggunakan berbagai jenis viskometer berdasarkan kebutuhan formulator (Garg *et al* 2002).

**13.5 Pemeriksaan Pola Penyemprotan.** Sediaan disemprotkan pada lembar plastik yang sudah diukur beratnya dan sudah diberi nomor dengan jarak 3 cm, 5 cm, 10 cm, dan 15 cm kemudian diamati pola pembentukan semprotan, diameter dari pola semprot yang terbentuk setiap semprotnya dengan jarak yang sama. Pengujian setiap jarak dilakukan secara triplo (Suyudi 2014).

**13.6 Uji daya sebar gel.** Pengujian daya sebar gel dilakukan dengan cara gel sebanyak 0,5 gram diletakkan ditengah alat (kaca bulat), kaca bulat bagian atas ditimbang terlebih dahulu dan diletakkan diatas massa gel, biarkan selama 1 menit, diukur diameter gel yang menyebar (ambil panjang rata-rata diameter di 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 catat diameter gel yang menyebar seperti sebelumnya. Pengujian dilakukan sebanyak tiga kali tiap formulanya. Pengujian pertama dilakukan dihari pertama gel dibuat, dan diuji kembali pada hari ke-1, dan ke-21 setelah pembuatan (Sharon *et al* 2013).

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

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

#### **14. Pengujian Efek Antibakteri**

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah kelinci sebanyak 5 ekor dengan umur  $\pm$  3 bulan dengan berat 2-3 Kg. Hewan uji kelinci yang sudah diaklimatisasikan selama 5 hari dicukur bulu pada punggung kelinci kemudian dipilih 5 lokasi penyuntikan dibagian kiri dengan jarak masing-masing lokasi  $\pm$  5 cm. Suspensi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 diinfeksi secara subkutan sebanyak 0,2 ml pada masing-masing lokasi pada kulit punggung kelinci yang telah disiapkan. *Spray gel* diberikan setelah 48 jam pada daerah yang diinfeksi. *Spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut dengan konsentrasi 1%, 2% dan 4% disemprotkan pada 3 lokasi dibagian kiri punggung kelinci, 2 lokasi dibagian kanan sebagai kontrol negatif disemprotkan dengan basis *spray gel*, kontrol positif dioleskan dengan *spray gel* gentamisin, kontrol normal tanpa perlakuan. Penyemprotan *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut dilakukan 2 kali sehari, pengamatan waktu penyembuhan infeksi berdasarkan hilangnya eritema, nanah dan jumlah koloni bakteri yang berkurang (Naibabo *et al* 2013).

#### **15. Pengamatan pengujian efek antibakteri**

Efek antibakteri dapat dilihat secara makroskopis dengan mengamati lamanya waktu penyembuhan infeksi dalam beberapa hari yang ditandai dengan hilangnya eritema dan nanah pada punggung kelinci yang diinfeksi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 setelah pemberian *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut (Naibabo *et al* 2013).

#### **16. Perhitungan jumlah bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dari nanah**

Pengamatan secara makroskopis. Perhitungan jumlah koloni secara makroskopis dilakukan dengan cara menghitung jumlah pertumbuhan bakteri menggunakan metode *Plate count*. Tahap pengenceran dimulai dengan membuat larutan sampel dari  $10^{-1}$  sampai  $10^{-3}$ . Tabung reaksi pertama berisi NaCl 0,9% sebanyak 1 ml kemudian ditambahkan nanah yang diambil dari punggung kelinci dengan menggunakan kapas lidi steril sehingga didapat pengenceran  $10^{-1}$  dari tabung pertama diambil 1 ml dimasukkan pada tabung yang berisi 9 ml NaCl 0,9% maka didapatkan pengenceran  $10^{-2}$ , dilanjutkan sampai mendapat

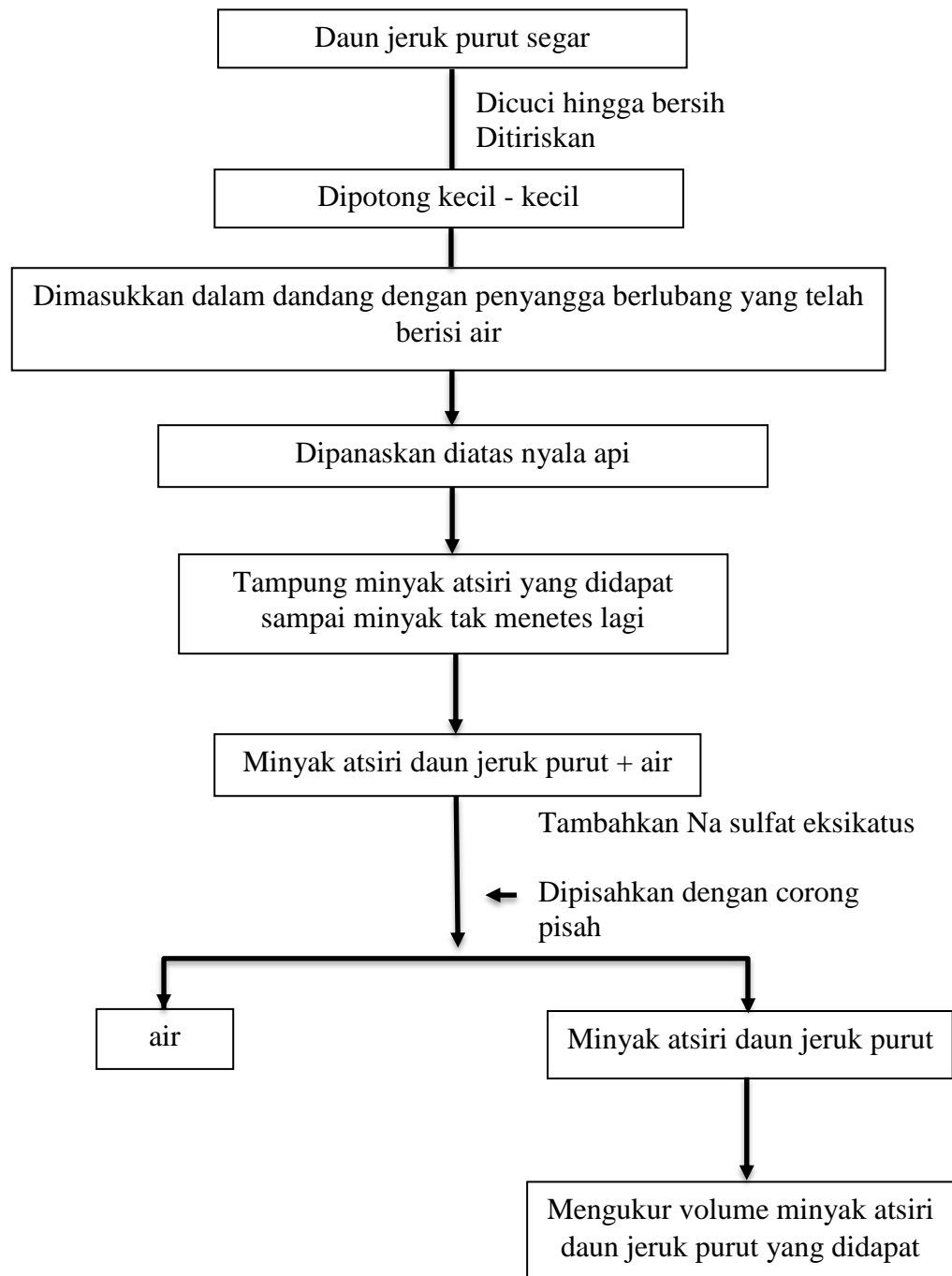
pengenceran  $10^{-3}$ . Pengenceran terakhir  $10^{-3}$  diambil 1 ml kemudian dimasukkan secara aseptis ke cawan petri yang telah disterilkan, setelah itu pada cawan petri ditambah kalium tellurit 1% dan media *vogel johnson media* (VJA) kemudian diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 48-72 jam. Setelah diinkubasi jumlah koloni yang tumbuh dihitung dan merupakan perkiraan atau dugaan dari jumlah bakteri dalam suspensi tersebut.

### **E. Analisis Data**

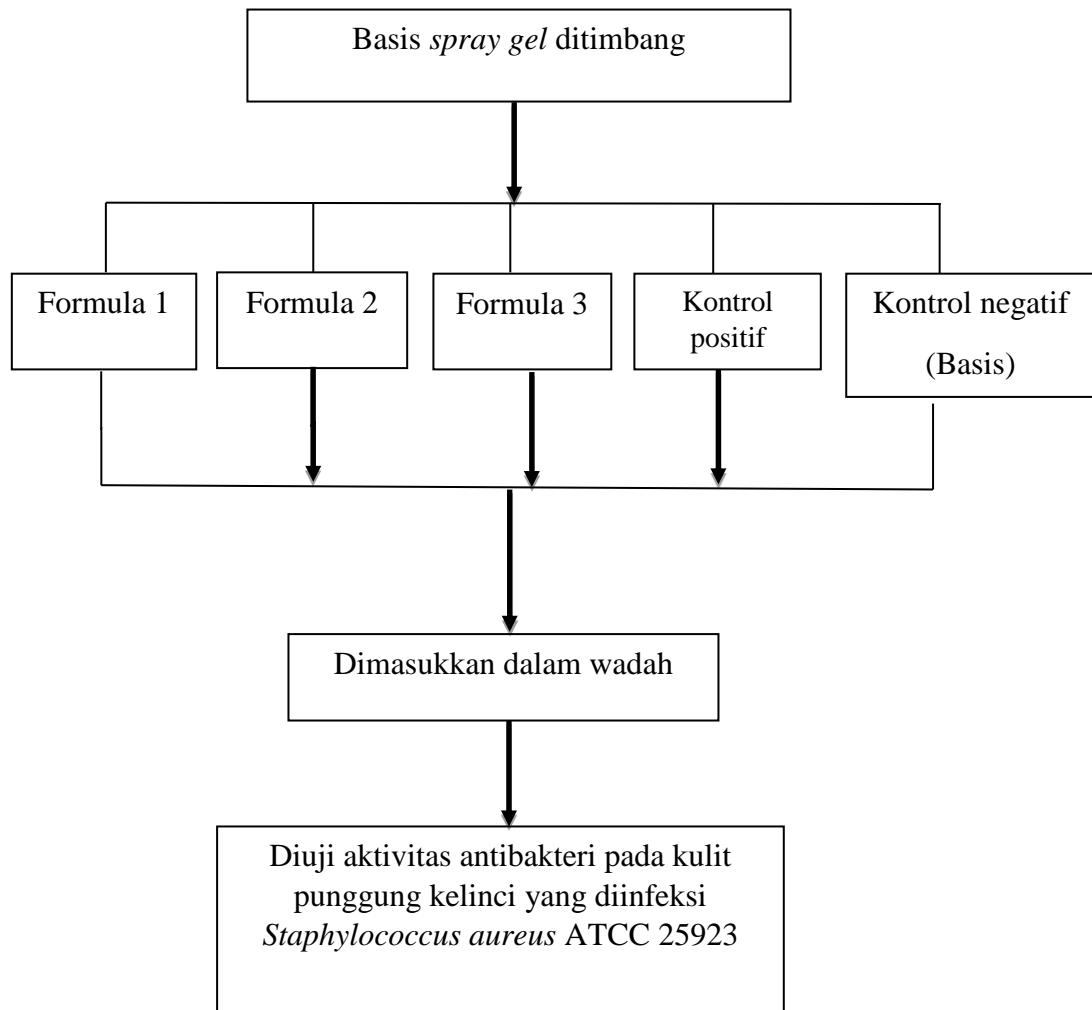
Data hasil pengujian efek sediaan *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut dengan konsentrasi 1%, 2%, dan 4% dengan lamanya waktu penyembuhan dianalisis secara statistik menggunakan Metode Kolmogorv-Smirnov. Hasil yang diperoleh jika terdistribusi normal ( $p > 0,05$ ) dilanjutkan dengan metode analysis of varian (ANOVA) dua jalan dengan taraf kepercayaan 95%. Lanjutkan dengan uji Tukey untuk mengetahui konsentrasi mana yang memiliki pengaruh sama atau berbeda antara satu dengan yang lainnya. Hasilnya jika tidak terdistribusi normal ( $p < 0,05$ ) maka dilanjutkan uji Kruskal-Wallis dan dilanjutkan uji Mann-Wiitney untuk mengetahui konsentrasi mana yang memiliki pengaruh sama atau berbeda antara satu dengan yang lainnya.

Data uji daya sebar, daya lekat, dan daya viskositas dianalisis secara statistik menggunakan uji Kolmogrov-Smirnov, jika terdistribusi normal ( $p > 0,05$ ) dilanjutkan dengan uji ANOVA dua jalan dengan taraf kepercayaan 95%. Hasilnya jika tidak terdistribusi normal ( $p < 0,05$ ) maka dilanjutkan uji Kruskal-Wallis dan dilanjutkan uji Mann-Whitney  $H_0$  ditolak atau ( $p > 0,05$ ) (Puspitasari 2014).

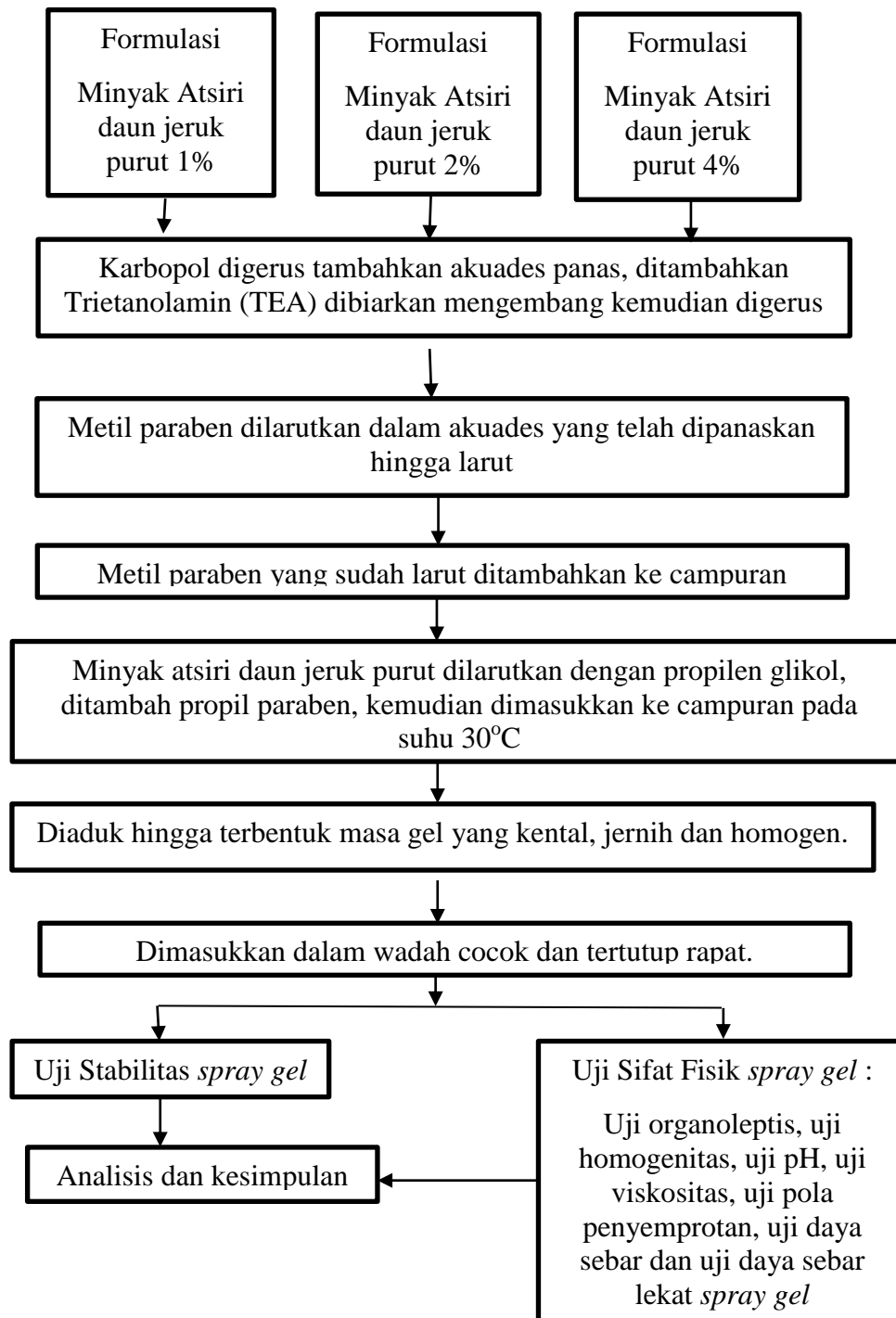
### F. Skema Penelitian



Gambar 2. Skema isolasi minyak atsiri daun jeruk purut

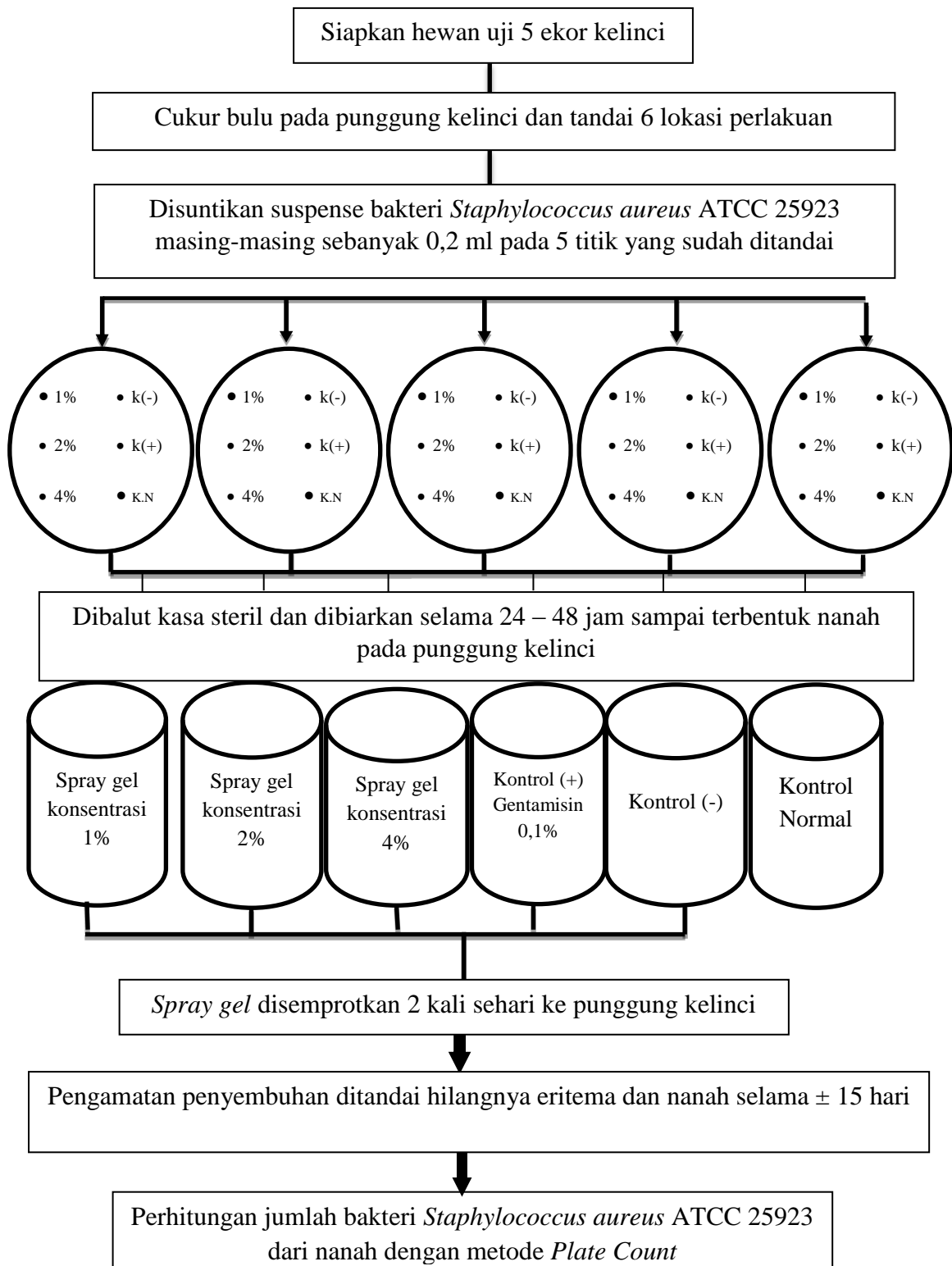


**Gambar 3.** Skema kerja pembuatan formulasi *spray gel*



Gambar 4. Skema pembuatan *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut





Gambar 5. Skema pengujian *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut.

## BAB IV

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

#### A. Hasil Penelitian

##### 1. Determinasi tanaman

Determinasi tanaman pada penelitian ini dilakukan di Laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta. Determinasi tanaman bertujuan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang diambil, menghindari terjadinya kesalahan dalam pengambilan bahan sampel dan menghindari tercampurnya bahan sampel dengan bahan tanaman lain serta mencocokkan ciri morfologi yang ada pada tanaman yang diteliti dengan pustaka. Berdasarkan hasil determinasi dapat dipastikan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.). Hasil determinasi dapat dilihat pada Lampiran 1.

##### 2. Pengambilan Bahan

Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun jeruk purut yang diperoleh dari desa Karangpandan, Karanganyar, Jawa Tengah, pada bulan Juli tahun 2017. Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.

##### 3. Isolasi minyak atsiri

Isolasi minyak atsiri daun jeruk purut menggunakan metode destilasi uap dan air. Hasil destilasi dalam percobaan ini didapat rendemen minyak atsiri, rendemen dalam penelitian ini adalah jumlah minyak atsiri yang didapatkan dalam satu kali proses destilasi tiap tanaman. Rendemen minyak atsiri yang dihasilkan pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 4 dan data perhitungan % rendemen minyak atsiri dapat dilihat pada lampiran 14.

**Tabel 4. Rendemen minyak atsiri daun jeruk purut**

Bobot sampel basah (gram)	Volume minyak (ml)	Rendemen (%)
5000	41	0,82

Daun jeruk purut mengandung minyak atsiri yang terdiri sitronelal 81,49%, sitronelol 8,22%, linalool 3,69%, geraniol 0,31%, serta komponen lainnya 6,29% (Munawaroh 2010). Bahan yang akan disuling sebaiknya pada waktu masih segar atau baru dipetik karena akan memberikan nilai rendemen yang tinggi (Lutony dan Rahmayati 2002). Rendemen minyak atsiri daun jeruk purut menurut pustaka sebesar 0,608%-0,964% (Imron 2008). Kadar minyak atsiri daun jeruk purut dalam praktek sudah sesuai dengan pustaka dengan hasil rendemen adalah 0,82%. Menurut Guenther *et al* (2010) untuk mendapatkan rendemen yang paling tinggi dan mutu minyak atsiri yang baik maka perlu diperhatikan beberapa hal seperti musim pada saat melakukan pemungutan bahan baku, peralatan penyulingan yang dipakai, metode penyulingan, suhu penyulingan dan lama waktu penyulingan.

#### 4. Pengamatan organoleptik minyak atsiri

Hasil pengamatan organoleptik diamati dengan menggunakan panca indera meliputi mata, hidung, dan lidah. Hasil pengamatan organoleptik pada minyak atsiri daun jeruk purut dapat dilihat pada Tabel 5.

**Tabel 5. Hasil pemeriksaan organoleptik minyak atsiri daun jeruk purut**

No.	Jenis pemeriksaan	Hasil	Pustaka
1.	Warna	Kuning muda	Kuning muda (Sait S 1991)
2.	Bau	Khas jeruk purut	Khas jeruk purut (Sait S 1991)
3.	Bentuk	Cairan	Cairan (Sait S 1991)
4.	Rasa	Khas jeruk purut	Khas jeruk namun lebih kuat dan segar (Sait S 1991)

Warna minyak atsiri hasil destilasi sampel diambil pada volume yang sama dan ditempatkan dalam sebuah tempat kaca yang bersih dan jernih, kemudian dibandingkan dengan pustaka dari aspek bentuk, warna, aroma, dan rasa. Hasil pengamatan organoleptik minyak atsiri jeruk purut sudah sesuai dengan pustaka.

#### 5. Identifikasi minyak atsiri

Minyak atsiri daun jeruk purut diidentifikasi dengan meneteskan minyak atsiri pada permukaan air dan meneteskan minyak atsiri pada kertas saring. Hasil identifikasi minyak atsiri daun jeruk purut dapat dilihat pada Tabel 6.

**Tabel 6. Identifikasi minyak atsiri daun jeruk purut**

<b>Zat aktif</b>	<b>Pemeriksaan</b>	<b>Hasil</b>	<b>Pustaka</b>
Minyak atsiri daun jeruk purut	1 tetes minyak atsiri ditetaskan pada kertas saring	Minyak atsiri menguap dan tidak meninggalkan noda	Minyak atsiri tidak meninggalkan noda bila ditetaskan pada kertas saring (Gunawan dan Mulyani 2004)
	1 tetes minyak atsiri ditetaskan pada permukaan air	Minyak atsiri menyebar dan permukaan air tidak keruh	Minyak atsiri menyebar diatas permukaan air dan tidak keruh (Depkes 1979)

Hasil identifikasi minyak atsiri daun jeruk purut menunjukkan bahwa hasil penelitian sesuai pustaka, apabila 1 tetes minyak atsiri ditetaskan pada permukaan air, maka minyak akan terlihat menyebar dipermukaan air dan air tidak keruh, jika ditetaskan pada kertas saring, minyak tidak meninggalkan noda. Hasil gambar dapat dilihat pada Lampiran 5.

## **6. Penetapan indeks bias minyak atsiri daun jeruk purut**

Hasil pemeriksaan indeks bias dapat dilihat pada Tabel 7 dan Lampiran 4.

**Tabel 7. Indeks bias minyak atsiri daun jeruk purut**

<b>Minyak atsiri</b>	<b>Hasil indeks bias</b>	<b>Pustaka</b>
Daun jeruk purut	1,454	1,448-1,460 (Sait S 1991)

Hasil pemeriksaan indeks bias minyak atsiri daun jeruk purut yaitu sebesar 1,454 menunjukkan hasil indeks bias yang diteliti sesuai dengan pustaka. Indeks bias pada minyak atsiri daun jeruk purut adalah 1,448-1,460 bilangan angka tersebut menunjukkan perbandingan antara sinus sudut datang dengan sinus sudut bias cahaya yang diukur dengan alat refraktometer, putaran optik menunjukkan besar sudut pemutaran bidang polarisasi yang terjadi jika sinar terpolarisasi dilewatkan melalui cairan pada suhu (-5°C) sampai dengan 0°C. Indeks bias minyak atsiri berhubungan erat dengan komponen-komponen yang tersusun dalam minyak atsiri yang dihasilkan. Komponen penyusun minyak atsiri dapat mempengaruhi nilai indeks biasnya. Semakin banyak komponen berantai panjang seperti sesquiterpen atau komponen bergugus oksigen tersuling, maka kerapatan medium minyak atsiri akan bertambah sehingga cahaya yang datang akan lebih

sukar untuk dibiaskan. Hal ini yang menyebabkan indeks bias minyak lebih besar (Wiyono *et al* 2000).

### 7. Penetapan bobot jenis minyak atsiri daun jeruk purut

Hasil pemeriksaan bobot jenis minyak atsiri daun jeruk purut pada penelitian dapat dilihat pada Tabel 8 dan perhitungan bobot jenis dapat dilihat pada Lampiran 15.

**Tabel 8. Hasil penetapan bobot jenis minyak atsiri daun jeruk purut**

Percobaan	Bobot jenis minyak	Pustaka
I	0,8283	Bobot jenis minyak atsiri
II	0,8283	Pada suhu 25°C = 0,696-1,1188
III	0,8384	Nugraheni (2012)
Rata-rata/SD	0,8317 ± 0,0058	

Hasil bobot jenis minyak atsiri daun jeruk purut menurut hasil penelitian adalah 0,8317. Berdasarkan pustaka bobot jenis minyak atsiri daun jeruk purut pada suhu 25°C adalah 0,696-1,1188. Bobot jenis minyak atsiri daun jeruk purut pada hasil penelitian sudah dikonversi suhu ruangnya yaitu pada suhu 31°C adalah 0,7002-1,123. Bobot jenis ialah salah satu kriteria yang penting dalam menentukan mutu dan kemurnian minyak atsiri. Semakin rendah nilai bobot jenis suatu minyak atsiri maka tingkat kemurniannya juga semakin rendah. Besarnya bobot jenis suatu minyak bisa dipengaruhi oleh jenis dan jumlah komponen kimia dalam minyak atsiri, maka semakin banyak komponen kimia dalam minyak atsiri dengan begitu semakin tinggi pula bobot jenisnya (Wiyono *et al* 2000). Perhitungan konversi lebih lengkap dapat dilihat pada Lampiran 15.

### 8. Penetapan kelarutan dalam alkohol

Uji kelarutan dalam alkohol memberi gambaran apakah suatu minyak mudah larut atau tidak. Kelarutan alkohol merupakan faktor penting dalam pengujian minyak atsiri karena dapat menentukan kualitas minyak atsiri. Semakin mudah larut minyak dalam alkohol maka semakin banyak kandungan senyawa polar dalam minyak tersebut. Menurut Guenther (1987) alkohol merupakan gugus hidroksil (OH), karena itu alkohol dapat larut dengan minyak atsiri, oleh sebab itu pada komposisi minyak atsiri yang dihasilkan tersebut terdapat komponen-

komponen terpena teroksigenasi. Kelarutan minyak dalam alkohol ditentukan oleh jenis komponen kimia yang terkandung dalam minyak. Pada umumnya minyak atsiri yang mengandung senyawa terpena teroksigenasi lebih mudah larut dalam alkohol daripada yang mengandung terpena tak teroksigenasi. Semakin tinggi kandungan terpena tak teroksigenasi maka semakin rendah daya larutnya atau makin sukar larut dalam alkohol (pelarut polar), karena senyawa terpena tak teroksigenasi merupakan senyawa nonpolar yang tidak mempunyai gugus fungsional. Hal ini dapat disimpulkan bahwa semakin besar kelarutan minyak atsiri pada alkohol maka kualitas minyak atsirinya semakin baik. Hasil menunjukkan minyak atsiri daun jeruk purut larut dalam alkohol 70% dengan perbandingan 1:1 (artinya 1 ml minyak atsiri dilarutkan dalam 1 ml alkohol 70%). Hasil gambar kelarutan minyak atsiri daun jeruk purut dalam alkohol 70% dapat dilihat pada Lampiran 5.

#### **9. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 berdasarkan koloni**

Identifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 berdasarkan koloni dilakukan dengan inokulasi suspensi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada media *Vogel Johnson Agar* (VJA) yang ditambahkan 3 tetes kalium tellurit 1% dalam cawan petri dan diinkubasi selama 48-72 jam pada suhu 37°C. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menghasilkan koloni dengan warna hitam, karena *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat mereduksi tellurit menjadi metalik warna medium dan disekitar koloni berwarna kuning karena fermentasi manitol yang dideteksi oleh perubahan warna indikator phenol red dari merah menjadi kuning (asam) (Jawetz *et al* 2012). Hasil identifikasi koloni dapat dilihat pada Lampiran 8.

#### **10. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan metode pewarnaan**

Identifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara morfologi. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat mempertahankan warna violet dari Gram A (kristal violet) pada pengecatan Gram *Staphylococcus aureus* ATCC

25923 karena memiliki peptidoglikan yang lebih tebal daripada Gram negatif. Hasil pengamatan dengan melakukan pewarnaan Gram pada mikroskop perbesaran kuat (1000x) akan tampak berwarna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol seperti buah anggur. Tujuan pewarnaan Gram ialah untuk melihat apakah bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 termasuk Gram positif atau Gram negatif. Perbedaan respon terhadap mekanisme pewarnaan Gram didasarkan pada struktur dan komposisi dinding sel bakteri. Bakteri Gram positif mengandung protein dalam prevalensi lebih rendah dan dinding selnya tebal. Pemberian kristal violet dan iodine, pemberian alkohol (etanol) pada pewarnaan Gram menyebabkan tidak terestrasinya lipid sehingga memperkecil permeabilitas dinding sel Gram positif. Dinding selnya terdehidrasi dengan perlakuan alkohol, pori-pori mengkerut, daya rembes dinding sel dan membran menurun sehingga pewarnaan safranin tidak dapat masuk sehingga sel berwarna ungu (Pelczar dan Chan 2007). Hasil identifikasi secara mikroskopis dapat dilihat pada Lampiran 8.

#### **11. Hasil Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara biokimia**

Identifikasi biokimia bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara biokimia dengan menggunakan uji katalase dan uji koagulase. Uji katalase menggunakan suspensi bakteri uji yang diinokulasi pada medium nutrisi cair dengan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%. Hasil positif ditandai dengan adanya gelembung udara sebab *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 mempunyai enzim katalase, dimana H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> yang dituang akan terurai menjadi H<sub>2</sub>O (air) dan O<sub>2</sub> (oksigen). Mekanisme enzim katalase memecah H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> yaitu saat melakukan respirasi, bakteri menghasilkan berbagai macam komponen salah satunya H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Bakteri yang memiliki kemampuan memecah H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dengan enzim katalase maka segera membentuk suatu sistem pertahanan dari toksik H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> yang dihasilkan sendiri. Bakteri katalase positif akan memecah H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> menjadi H<sub>2</sub>O dan O<sub>2</sub> dimana parameter yang menunjukkan adanya aktivitas katalase tersebut adalah adanya gelembung-gelembung oksigen seperti pada percobaan yang telah dilakukan (Waluyo 2004).

Hasil gambar identifikasi fisiologi berdasarkan katalase dapat dilihat pada Lampiran 8.

Tes koagulasi digunakan untuk membedakan antara bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*, karena *Staphylococcus epidermidis* tidak membentuk gumpalan-gumpalan putih. Uji koagulasi menggunakan plasma darah kelinci yang diberi asam sitrat, diencerkan (1:5) ditambah satu ose biakan bakteri, diinkubasi pada suhu 37°C. Uji koagulasi dinyatakan positif kuat, jika gumpalan plasma tidak lepas dan tetap melekat pada dinding tabung saat dimiringkan. Uji ini menunjukkan virulensi dari bakteri itu dimana bakteri dapat melindungi dirinya dari fagositosis dan menghalangi kerja dari sistem imunitas inang. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 mempunyai enzim koagulasi yang berfungsi untuk menggumpalkan plasma karena perubahan fibrinogen menjadi fibrin. Hasil identifikasi pada penelitian ini menunjukkan positif terjadi perubahan plasma darah kelinci yang terdenaturasi oleh *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 sehingga terjadi penggumpalan putih dalam waktu 1 jam (Jawetz *et al* 2001). Hasil gambar identifikasi secara koagulasi dapat dilihat pada Lampiran 8.

## **12. Pembuatan suspensi bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

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

## **13. Hasil pengujian sifat fisik *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut**

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

**13.1 Organoleptis.** Pemeriksaan organoleptis dilakukan untuk mendeskripsikan warna, bau dan konsistensi dari sediaan *spray gel*. Sediaan yang dihasilkan sebaiknya memiliki warna yang menarik, bau yang menyenangkan, dan konsistensi yang bagus agar nyaman dalam penggunaan. Sediaan *spray gel*



membentuk warna putih susu yang dikarenakan fase minyak bercampur dengan fase air yang disertai pengadukan yang keras saat pembuatan. Hasil yang diperoleh terhadap pemeriksaan organoleptis *spray gel* dapat dilihat pada tabel 11.

**Tabel 9. Hasil organoleptis formula *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut**

Pemeriksaan	Waktu	Formula I	Formula II	Formula III
Warna	Hari ke-0	PS	PS	PS
	Hari ke-1	PS	PS	PS
	Hari ke-21	PS	PS	PS
Bau	Hari ke-0	**	**	***
	Hari ke-1	**	**	***
	Hari ke-21	*	*	**
Konsistensi	Hari ke-0	+++	+++	++
	Hari ke-1	+++	+++	++
	Hari ke-21	++	++	+

**Keterangan:**

PS	: Putih susu
***	: menunjukkan bau aromatis daun jeruk purut yang lebih intensif
**	: menunjukkan bau aromatis daun jeruk purut yang intensif
*	: menunjukkan bau aromatis daun jeruk purut yang sudah berkurang
+	: menunjukkan konsistensi gel yang encer
++	: menunjukkan konsistensi gel yang agak encer
+++	: menunjukkan konsistensi gel yang agak kental
Formula I	: <i>spray gel</i> minyak atsiri daun jeruk purut 1%
Formula II	: <i>spray gel</i> minyak atsiri daun jeruk purut 2%
Formula III	: <i>spray gel</i> minyak atsiri daun jeruk purut 4%

Sediaan *spray gel* yang dihasilkan menunjukkan bahwa pada hari pertama setelah pembuatan minyak atsiri daun jeruk purut memiliki bau khas aromatis yang yang lebih intensif, bau minyak atsiri daun jeruk purut berkurang setelah penyimpanan selama 21 hari, hal ini kemungkinan disebabkan minyak atsiri daun jeruk purut yang digunakan tidak bisa bertahan lama dalam campuran basis yang jumlahnya lebih besar.

Konsistensi pada formulasi I dan II lebih kental daripada formulasi III hal ini disebabkan karena kandungan minyak atsiri dalam setiap formula berbeda-beda. Semakin besar kandungan minyak atsiri yang digunakan, menghasilkan gel dengan konsistensi semakin encer. Formulasi III mengandung paling banyak minyak atsiri daun jeruk purut yaitu, 4% atau 4 ml dalam 100 ml sediaan.

**13.2 Hasil uji homogenitas.** Tujuan uji homogenitas sediaan untuk mengetahui apakah minyak atsiri daun jeruk purut dalam sediaan sudah homogen atau belum, hal ini penting dilakukan karena homogenitas sangat pengaruh terhadap efektivitas terapi dari sediaan tersebut, jika sediaan telah homogen maka konsentrasi zat aktif diasumsikan pada saat pemakaian atau pengambilan akan

selalu sama atau seragam. Hasil pengamatan homogenitas *spray gel* dapat dilihat pada tabel 10.

**Tabel 10. Hasil homogenitas sediaan *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut dengan berbagai konsentrasi minyak atsiri.**

Formula	Hari ke-0	Hari ke-1	Hari ke-21
Formula I	Homogen	Homogen	Homogen
Formula II	Homogen	Homogen	Homogen
Formula III	Homogen	Homogen	Homogen

**Keterangan:**

Formula I : *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut 1%

Formula II : *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut 2%

Formula III : *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut 4%

Hasil pengamatan terhadap homogenitas *spray gel* yang dilakukan dengan cara dioleskan pada sekeping kaca atau objek glass menunjukkan bahwa ketiga formula *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut memiliki homogenitas yang baik dari hari pertama setelah pembuatan sampai hari ke-21, karena tidak terdapat partikel padat yang terdapat di dalam gel serta tidak terdapat pembentuk gel yang masih menggumpal atau tidak merata dalam sediaan.

**13.3 Hasil uji pH.** Uji ini dilakukan untuk mengetahui apakah kadar pH dalam sediaan gel memenuhi persyaratan untuk sediaan topikal. Hasil penentuan pH sediaan *spray gel* dengan menggunakan pH meter dapat dilihat pada Tabel 11 dan Lampiran 16.

**Tabel 11. Hasil pemeriksaan pH *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut dengan berbagai konsentrasi minyak atsiri**

Waktu pemeriksaan	Formula I	Formula II	Formula III
Hari ke-0	6,26 ± 0,015	6,16 ± 0,011	5,99 ± 0,030
Hari ke-1	6,26 ± 0,01	6,17 ± 0,026	6,00 ± 0,035
Hari ke-21	6,28 ± 0,011	6,13 ± 0,015	5,98 ± 0,038

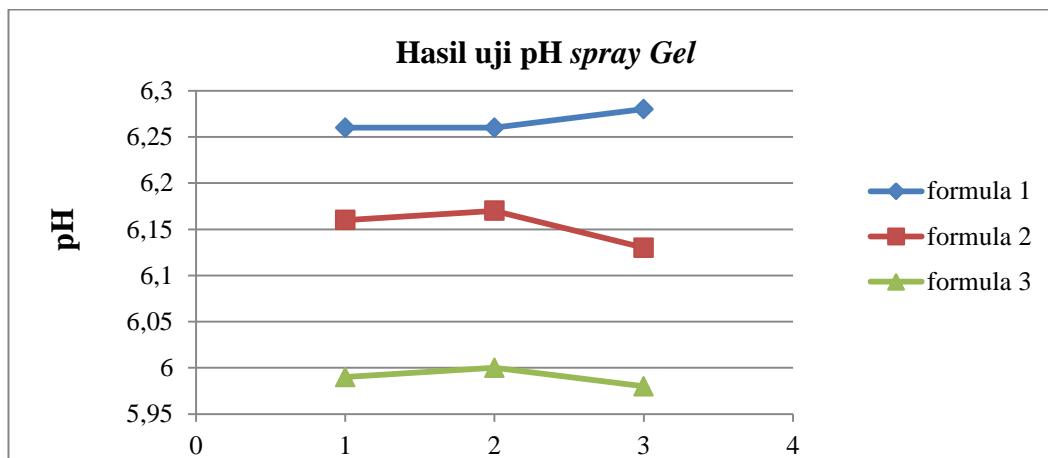
**Keterangan:**

Formula I : *Spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut 1%

Formula II : *Spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut 2%

Formula III : *Spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut 4%

Hasil pengamatan uji pH *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut pada tabel 11 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 pada penurunan dan kenaikan pH yang terjadi pada setiap formula tidak terlalu signifikan dan sehingga dapat dikatakan pH sediaan relatif stabil pada penyimpanan, dapat dilihat pada Gambar 6.



**Gambar 6. Diagram hasil uji pH spray gel minyak atsiri daun jeruk purut**

Berdasarkan hasil penelitian diketahui pH sediaan dalam rentang 5,98-6,28, pH tersebut memenuhi persyaratan pH sediaan topikal yaitu 5,0-6,8 (Ansari 2009). Kulit yang normal memiliki pH 5,0-6,8 sehingga sediaan topikal harus sesuai dengan keadaan fisiologis kulit. Kesesuaian pH kulit dengan pH sediaan topikal mempengaruhi penerimaan kulit terhadap sediaan (Barasa 2016). PH sediaan yang terlalu asam dapat menyebabkan kulit mengkerut dan menjadi rusak, bila pH sediaan terlalu basa maka dapat menyebabkan kulit mengelupas serta kering (Ansari 2009). Hasil menunjukkan bahwa *Spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut memiliki nilai pH yang masih berada pada kisaran pH normal kulit, sehingga dapat diterima oleh kulit dan tidak menimbulkan iritasi.

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan SPSS pada tes Kolmogorov Smirnov menyatakan sig 0,505 > 0,05 maka data terdistribusi normal, kemudian dilanjutkan dengan analisis anava dua jalan dengan membandingkan perubahan nilai pH tiap formula dan waktu hari ke-0, hari ke-1, dan hari ke-21. Hasil data statistik dapat dilihat pada Lampiran 17.

**13.4 Hasil uji viskositas.** Viskositas sangat berpengaruh terhadap efektivitas terapi yang diinginkan serta kenyamanan dan kemudahan dalam penggunaan sehingga tidak boleh terlalu kental dan terlalu encer. Viskositas pada sediaan menunjukkan mudah tidaknya *spray gel* tersebut dapat dihantarkan melalui aplikator semprot atau dituangkan dalam wadah. Viskositas *spray gel* yang terlalu encer akan menurunkan daya lekat gel pada kulit sehingga efektivitas penghantaran zat aktif menjadi rendah, sedangkan apabila viskositas sediaan

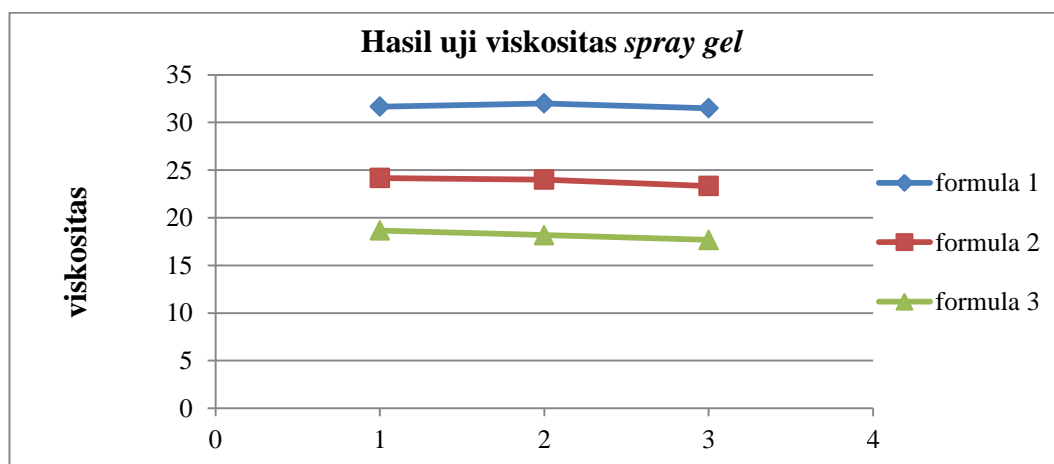
terlalu kental dapat memberikan ketidaknyamanan saat sediaan digunakan. Hasil pengamatan viskositas gel minyak atsiri dapat dilihat pada Tabel 12.

**Tabel 12. Hasil viskositas sediaan *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut dengan berbagai konsentrasi minyak atsiri**

Waktu pemeriksaan	Viskositas (d Pas)		
	Formula I	Formula II	Formula III
Hari ke-0	31,67 ± 0,29	24,17 ± 0,58	18,67 ± 0,29
Hari ke-1	32,00 ± 0,5	24,00 ± 0,5	18,17 ± 0,29
Hari ke-21	31,50 ± 0,5	23,33 ± 1,26	17,67 ± 0,76

**Keterangan:**

Formula I : *Spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut 1%  
 Formula II : *Spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut 2%  
 Formula III : *Spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut 4%



**Gambar 7. Diagram hasil uji viskositas *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut**

Data di atas menunjukkan bahwa formula 1 lebih kental diantara ketiga formula karena konsentrasi minyak atsiri yang paling kecil diantara ketiga formula. Konsentrasi minyak atsiri dengan konsentrasi 1% dan 2% menghasilkan gel dengan viskositas yang besar. Sedangkan gel minyak atsiri konsentrasi 4% menghasilkan viskositas yang lebih 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. Adanya kenaikan suhu akan memperbesar jarak antar atom sehingga gaya antar 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 *et al* 2011).

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan SPSS pada tes Kolmogorov Smirnov menyatakan sig 0,213 > 0,05 maka data terdistribusi normal, kemudian dilanjutkan dengan analisis anava dua jalan dengan membandingkan perubahan nilai viskositas tiap formula dan waktu hari ke-0, hari ke-1, dan hari ke-21. Hasil data statistik dapat dilihat pada Lampiran 19.

**13.5 Pemeriksaan Pola Penyemprotan.** Pengujian dilakukan untuk melihat ukuran dari setiap pola semprotan, sediaan disemprotkan pada lembar plastik yang sudah diukur beratnya dan sudah diberi nomor dengan jarak 3 cm, 5 cm, 10 cm, dan 15 cm. Pengujian setiap jarak dilakukan secara berulang, pada uji ini yang diamati adalah pola pembentukan semprotan, diameter dari pola semprot yang terbentuk setiap semprotnya dengan jarak yang sama.

**Tabel 13. Hasil pengukuran diameter semprot sediaan *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut dengan berbagai konsentrasi minyak atsiri**

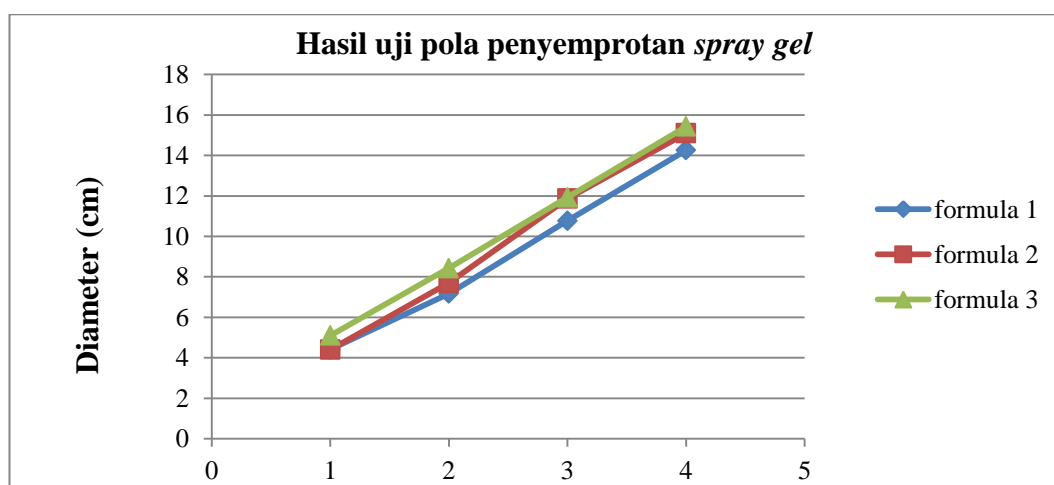
Jarak semprotan	Rata-rata diameter (cm)		
	Formula I	Formula II	Formula III
3	4,41 ± 0,1	4,4 ± 0,1	5,10 ± 0,1
5	7,17 ± 0,06	7,70 ± 0,36	8,43 ± 0,11
10	10,77 ± 0,06	11,87 ± 0,06	11,93 ± 0,35
15	14,26 ± 0,06	15,10 ± 0,1	15,43 ± 0,21

**Keterangan:**

Formula I : *Spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut 1%

Formula II : *Spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut 2%

Formula III : *Spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut 4%



**Gambar 8. Diagram hasil uji pola penyemprotan *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut**

Tabel 13 dan Gambar 8, menunjukkan pemeriksaan pola penyemprotan dari formula bervariasi, adanya variasi yang terbentuk dari sediaan *spray gel* dipengaruhi oleh jarak penyemprotan serta viskositas dari sediaan (Suyudi 2014). Jarak penyemprotan berbanding lurus terhadap besarnya diameter pola penyemprotan dari sediaan, semakin besar jarak penyemprotan maka semakin besar pula pola penyemprotan yang dihasilkan. Hasil dari pola penyemprotan yang terbentuk bulat menyebar seperti pola ketika air disemprotkan, tekanan yang dibutuhkan untuk menyemprotkan formula III paling sedikit karena viskositas yang tidak terlalu tinggi, sedangkan pada formulasi lain dikarenakan viskositas yang terlalu tinggi sediaan membutuhkan tekanan yang lebih besar.

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan SPSS pada tes Kolmogorov Smirnov terlihat  $\text{sig } 0,355 > 0,05$  maka data terdistribusi normal, kemudian dilanjutkan dengan analisis anava dua jalan dengan membandingkan perubahan diameter semprotan tiap formula dan waktu hari ke-0, hari ke-1, dan hari ke-21. Hasil data statistik dapat dilihat pada Lampiran 25.

**13.6 Hasil uji daya sebar.** Uji daya sebar dilakukan untuk mengetahui kemampuan basis menyebar pada permukaan kulit ketika diaplikasikan. Hasil uji daya sebar dapat dilihat pada Tabel 14.

**Tabel 14. Hasil pengukuran daya sebar *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut dengan berbagai konsentrasi minyak atsiri**

Formula	Beban (g)	Diameter penyebaran (cm± SD)		
		Hari ke-0	Hari ke-1	Hari ke-21
Formula I	63,023	3,06 ± 0,06	3,13 ± 0,05	3,2 ± 0,10
	113,023	3,43 ± 0,15	3,47 ± 0,05	3,5 ± 0,26
	163,023	3,90 ± 0,10	4,00 ± 0,10	3,9 ± 0,26
	213,023	4,13 ± 0,15	4,17 ± 0,06	4,27 ± 0,15
	263,023	4,53 ± 0,15	4,46 ± 0,20	4,67 ± 0,15
Formula II	63,023	3,24 ± 0,05	3,30 ± 0,1	3,37 ± 0,05
	113,023	3,70 ± 0,10	3,70 ± 0,1	3,86 ± 0,15
	163,023	4,17 ± 0,25	4,13 ± 0,25	4,23 ± 0,05
	213,023	4,47 ± 0,15	4,53 ± 0,15	4,4 ± 0,1
	263,023	5,00 ± 0,26	4,97 ± 0,37	5,00 ± 0,1
Formula III	63,023	3,47 ± 0,11	3,5 ± 0,10	3,56 ± 0,15
	113,023	4,00 ± 0,10	4,03 ± 0,11	4,06 ± 0,06
	163,023	4,43 ± 0,15	4,36 ± 0,21	4,53 ± 0,25
	213,023	4,77 ± 0,05	4,77 ± 0,15	4,97 ± 0,06
	263,023	5,20 ± 0,10	5,27 ± 0,20	5,43 ± 0,21

**Keterangan:**Formula I : *Spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut 1%Formula II : *Spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut 2%Formula III : *Spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut 4%

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. Tabel 14, menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi minyak atsiri, maka semakin besar daya sebar, karena besarnya konsentrasi minyak atsiri didalam gel menyebabkan konsistensi gel menjadi semakin encer, sehingga lebih mudah menyebar dan menyebabkan daya sebar yang semakin besar. Daya sebar yang baik menyebabkan kontak antara obat dengan kulit menjadi luas, sehingga absorpsi obat ke kulit berlangsung cepat.

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan SPSS pada tes Kolmogorov Smirnov menyatakan data terdistribusi normal sig 0,505 > 0,05 kemudian dilanjutkan dengan analisis anava dua jalan dengan membandingkan perubahan nilai viskositas tiap formula dan waktu hari ke-0, hari ke-1, dan hari ke-21. Hasil data statistik dapat dilihat pada Lampiran 27.

**13.7 Hasil uji daya sebar lekat.** Uji daya sebar lekat dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kemampuan sediaan menyebar dan melekat pada permukaan kulit ketika diaplikasikan. Hasil pengukuran waktu daya sebar lekat dapat dilihat pada tabel 15.

**Tabel 15. Hasil pengukuran daya sebar lekat *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut dengan berbagai konsentrasi minyak atsiri**

Formula	Waktu (Detik) ± SD
Formula I	7,67 ± 0,58
Formula II	8,67 ± 0,58
Formula III	9,33 ± 0,58

**Keterangan:**Formula I : *Spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut 1%Formula II : *Spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut 2%Formula III : *Spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut 4%

Sediaan dapat melekat setelah disemprotkan dikulit lengan bagian atas selama 7-9 detik dan membentuk lapisan yang kuat menempel pada kulit. Semakin besar konsentrasi minyak atsiri maka semakin besar daya sebar, karena besarnya konsentrasi minyak atsiri di dalam gel menyebabkan konsistensi gel menjadi semakin encer, sehingga lebih mudah menyebar dan menyebabkan

daya sebar yang semakin besar. Tabel 15, menunjukkan bahwa formulasi III yang mengandung minyak atsiri daun jeruk purut lebih banyak menempel kuat pada kulit karena daya sebar merata dan kontak antara obat dengan kulit menjadi luas, sehingga tidak mudah mengalir dan absorpsi obat ke kulit lebih optimal dibanding formulasi I dan II.

#### 14. Hasil pengujian stabilitas *spray gel*

Pengujian stabilitas sediaan gel ini dilakukan untuk mengetahui stabil tidaknya gel yang dibuat berdasarkan penyimpanan pada suhu yang berbeda. Pengujian dilakukan dengan metode *freeze thaw* yaitu dengan menyimpan sediaan pada suhu 4°C selama 48 jam kemudian dipindahkan ke suhu 40°C selama 48 jam (1 siklus). Setelah itu dilanjutkan sampai lima siklus. Parameter yang digunakan dalam penentuan stabilitas gel yaitu organoleptis, pH dan viskositas gel.

**14.1 Hasil uji organoleptis.** Pemeriksaan organoleptis dilakukan secara visual (pengamatan) dengan melihat ada tidaknya perubahan yang terjadi pada gel minyak atsiri daun jeruk purut setelah diuji dengan metode *freeze thaw*. Hasil uji organoleptis stabilitas gel dengan metode *freeze thaw* dapat dilihat pada Tabel 16.

**Tabel 16. Hasil uji organoleptis stabilitas *spray gel* minyak atsiri daaun jeruk purut dengan berbagai konsentrasi minyak atsiri dengan menggunakan metode *freeze thaw*.**

Siklus	Formula I	Formula II	Formula III
1	Stabil	Stabil	Stabil
2	Stabil	Stabil	Stabil
3	Stabil	Stabil	Stabil
4	Stabil	Stabil	Stabil
5	Stabil	Stabil	Tidak stabil

**Keterangan:**

Formula I : *Spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut 1%

Formula II : *Spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut 2%

Formula III : *Spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut 4%

Dari hasil pengamatan secara visual uji stabilitas pada tabel 14 menunjukkan bahwa penyimpanan pada suhu yang berbeda selama lima siklus, hanya gel formula III yang mengalami perubahan fase/terpisah pada siklus ke-lima. Hal ini dikarenakan minyak atsiri keluar dari basis gel dan berkumpul di permukaan sehingga pada pengamatan visual terbentuk lapisan cairan di permukaan gel yang mengindikasikan tidak stabilnya sediaan gel.

**14.2 Hasil uji pH.** Indikator lain yang diamati yaitu pH. Pada perlakuan sebelum dan setelah proses uji stabilitas gel dengan metode *freeze thaw* terlihat



bahwa terjadi penurunan pH pada semua formula. Hasil pengujian pH sebelum dan setelah uji kestabilan dengan metode *freeze thaw* dapat dilihat pada Tabel 17.

**Tabel 17. Hasil pengukuran pH *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut sebelum dan setelah uji kestabilan dengan metode *freeze thaw*.**

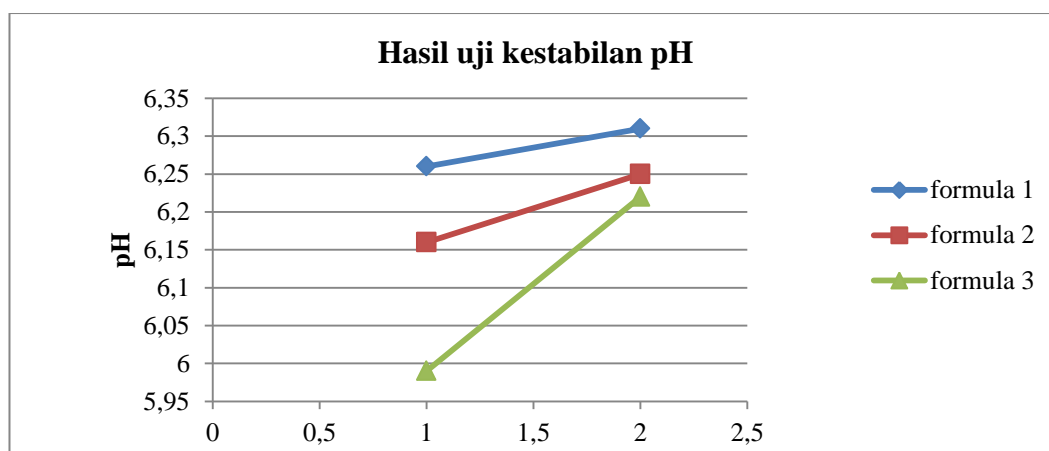
Waktu pemeriksaan	Formula I	Formula II	Formula III
Hari ke-0	6,26 ± 0,015	6,16 ± 0,011	5,99 ± 0,0305
Hari ke-20	6,31 ± 0,015	6,25 ± 0,02	6,22 ± 0,035

**Keterangan:**

Formula I : *Spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut 1%

Formula II : *Spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut 2%

Formula III : *Spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut 4%



**Gambar 9. Diagram hasil uji kestabilan pH *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut**

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

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan SPSS pada tes Kolmogorov Smirnov menyatakan data terdistribusi normal sig 0,584 > 0,05, kemudian dilanjutkan dengan analisis anava dua jalan dengan membandingkan perubahan pH formula dan waktu hari ke-0 dan hari ke-20. Hasil data statistik dapat dilihat pada Lampiran 21.

**14.3 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 kestabilan dengan metode *freeze thaw* dapat dilihat pada Tabel 18.

**Tabel 18. Hasil pengukuran viskositas *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut sebelum dan setelah uji kestabilan dengan metode *freeze thaw*.**

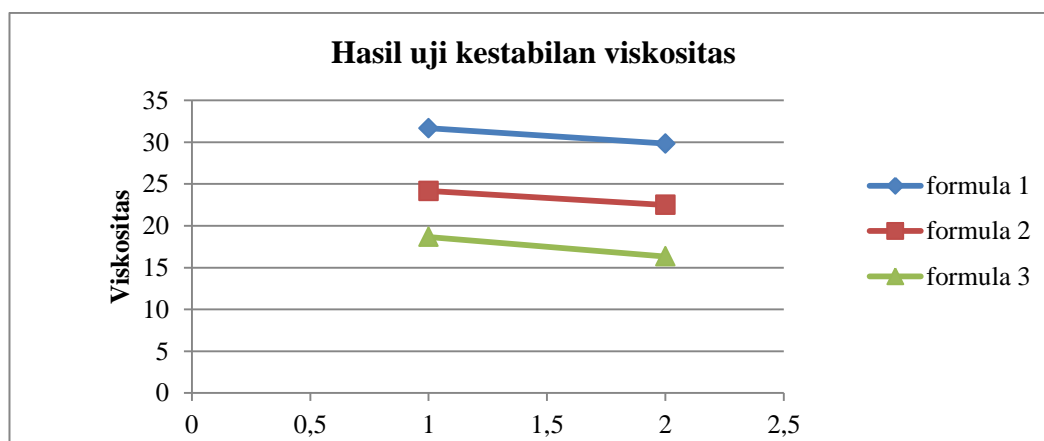
Waktu pemeriksaan	Viskositas (d Pas)		
	Formula I	Formula II	Formula III
Hari ke-0	31,67 ± 0,29	24,17 ± 0,58	18,67 ± 0,29
Hari ke-20	29,83 ± 0,57	22,5 ± 0,5	16,33 ± 0,29

**Keterangan:**

Formula I : *Spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut 1%

Formula II : *Spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut 2%

Formula III : *Spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut 4%



**Gambar 10. Diagram hasil uji kestabilan viskositas *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut**

Hasil pengamatan terhadap viskositas gel menunjukkan bahwa viskositas ketiga formula sebelum dan setelah dilakukan pengujian dengan metode *freeze thaw* cenderung menurun pada siklus ke-5. Penurunan viskositas tersebut dapat disebabkan karena pengaruh suhu selama penyimpanan. Adanya kenaikan suhu akan memperbesar jarak antar atom sehingga gaya antar atom akan berkurang, jarak menjadi renggang mengakibatkan viskositas gel menjadi turun. Penyebab lain yaitu terjadinya proses sineresis di dalam sediaan gel. Sineresis terjadi akibat adanya kontraksi di dalam massa gel. Adanya perubahan pada gel akan mengakibatkan jarak matriks berubah, sehingga cairan yang terperangkap keluar dan berada di atas permukaan gel.

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan SPSS pada tes Kolmogorov Smirnov menyatakan data terdistribusi normal sig 0,637 > 0,05,

kemudian dilanjutkan dengan analisis anava dua jalan dengan membandingkan perubahan viskositas formula dan waktu hari ke-0 dan hari ke-20. Hasil data statistik dapat dilihat pada Lampiran 23.

### **15. Hasil pengujian aktivitas antibakteri secara *in vivo***

Hewan uji kelinci jantan sebanyak 5 ekor dengan umur  $\pm$  3 bulan yang diaklimatisasi selama 1 minggu, dicukur bulu sampai licin didaerah punggung kemudian ditandai 3 lokasi (a, b, c) sebelah kiri dan 3 lokasi (d, e, f) sebelah kanan dengan jarak masing-masing  $\pm$  5 cm. Suspensi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 diinfeksi secara subkutan sebanyak 0,2 ml di 5 lokasi pada kulit punggung kelinci selama 24-48 jam ditutup dengan perban steril untuk mencegah kontaminasi. Setelah punggung kelinci terbentuk nanah, pada lokasi sebelah kiri yaitu lokasi a disemprotkan dengan formulasi gel semprot kontrol positif (gentamisin), lokasi b disemprot kontrol negatif (basis sediaan gel semprot), dan lokasi c yaitu kontrol normal kulit punggung kelinci tanpa perlakuan sebagai pembanding kesembuhan yang dapat dilihat dengan jumlah koloni bakteri pada lokasi a, b, d, e, f yang mendekati jumlah koloni bakteri pada lokasi c. Lokasi sebelah kanan diberi sediaan yaitu lokasi d disemprotkan dengan formulasi gel semprot minyak atsiri daun jeruk purut dengan konsentrasi 1%, lokasi e disemprotkan dengan formulasi gel semprot minyak atsiri daun jeruk purut dengan konsentrasi 2%, lokasi f disemprotkan dengan formulasi gel semprot minyak atsiri daun jeruk purut dengan konsentrasi 4%. Penyemprotan spray gel dilakukan selama 2 kali sehari (pagi dan sore) selama 19 hari.

Efek antibakteri dapat diamati secara makroskopis dengan melihat kesembuhan infeksi yang dilihat dengan hilangnya nanah dan luka yang mengering pada semua lokasi punggung kelinci yang telah ditandai, pengamatan ini dilakukan dari hari ke-0 sampai hari ke-19. Hasil pengamatan dapat dilihat pada Tabel 19.

**Tabel 19. Pengamatan gejala klinis pada kulit punggung kelinci yang diinfeksi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

Formula	Kelinci	Pengamatan kulit punggung kelinci setelah pemberian <i>spray gel</i> (Hari)										
		1	3	5	7	9	11	13	15	17	19	21
Formula I	1	N	NH	K	K	K	K	S	S	S	S	S
	2	N	NH	K	K	K	K	S	S	S	S	S
	3	N	NH	K	K	K	K	S	S	S	S	S
	4	N	N	NH	K	K	K	K	S	S	S	S
	5	N	N	NH	K	K	K	K	S	S	S	S
Kontrol (N)		S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Formula II	1	N	NH	K	K	K	S	S	S	S	S	S
	2	N	N	NH	K	K	K	S	S	S	S	S
	3	N	NH	K	K	K	S	S	S	S	S	S
	4	N	NH	K	K	K	S	S	S	S	S	S
	5	N	NH	K	K	K	S	S	S	S	S	S
Kontrol (N)		S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Formula III	1	N	NH	K	K	K	K	S	S	S	S	S
	2	N	NH	K	K	K	K	S	S	S	S	S
	3	N	NH	K	K	K	K	K	S	S	S	S
	4	N	NH	K	K	K	K	S	S	S	S	S
	5	N	N	NH	K	K	K	K	S	S	S	S
Kontrol (N)		S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Kontrol positif	1	N	NH	K	K	K	K	S	S	S	S	S
	2	N	NH	K	K	K	K	S	S	S	S	S
	3	N	N	NH	K	K	K	K	S	S	S	S
	4	N	NH	K	K	K	K	K	S	S	S	S
	5	N	N	NH	K	K	K	K	S	S	S	S
Kontrol (N)		S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Kontrol Negatif	1	N	N	NH	K	K	K	K	K	S	S	S
	2	N	N	NH	K	K	K	K	K	S	S	S
	3	N	N	N	NH	K	K	K	K	K	S	S
	4	N	N	N	NH	K	K	K	K	S	S	S
	5	N	N	NH	K	K	K	K	K	K	S	S
Kontrol (N)		S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

**Keterangan:**

N : Nanah

NH : Nanah Hilang

K : Kering

S : Sembuh

Formula I : *Spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut 1%

Formula II : *Spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut 2%

Formula III : *Spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut 4%

Kontrol positif : *Spray gel* gentamisin

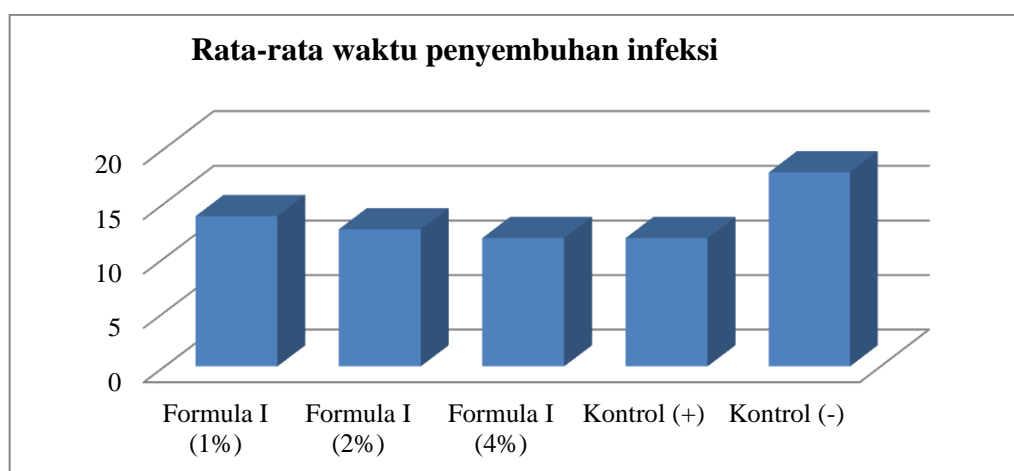
Kontrol negatif : Basis *Spray gel*

Hasil pengamatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang dilakukan setiap 2 hari sekali menunjukkan pengurangan jumlah koloni bakteri yang signifikan dari hari pertama hingga luka sembuh. Kontrol negatif dari 5 kelinci yang hanya disemprot basis tanpa zat berkhasiat belum sembuh dihari ke-15, sehingga dilanjutkan pengamatan terhadap kontrol negatif

saja hingga sembuh. Waktu penyembuhan infeksi pada punggung kelinci dapat dilihat pada tabel 20.

**Tabel 20. Waktu penyembuhan infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada kulit punggung kelinci**

Kelinci	Waktu penyembuhan infeksi pada punggung kelinci				
	Formula I (1%)	Formula I (2%)	Formula I (4%)	Kontrol (+)	Kontrol (-)
1	13	13	11	11	17
2	13	11	11	11	17
3	13	13	13	13	19
4	15	13	11	11	17
5	15	13	13	13	19
<b>Rata-rata</b>	<b>13,8</b>	<b>12,6</b>	<b>11,8</b>	<b>11,8</b>	<b>17,8</b>



**Gambar 11. Diagram hasil uji aktivitas antibakteri *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut**

Diagram pada gambar, menunjukkan uji aktivitas antibakteri *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut dengan konsentrasi 1%, 2%, dan 4% dilakukan untuk mengetahui konsentrasi mana yang paling efektif sebagai antibakteri. Ketiga konsentrasi sediaan *spray gel* mampu menyembuhkan infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada kulit punggung kelinci menunjukkan hasil penyembuhan tercepat pada konsentrasi 4% dibandingkan dengan konsentrasi 1% dan 2%. Konsentrasi 4% memiliki aktivitas antibakteri yang sama seperti gentamicin. Penyembuhan ditandai dengan hilangnya nanah, keringnya luka infeksi pada punggung kelinci dalam hitungan hari.

Pengamatan kesembuhan infeksi lebih terlihat jelas dengan melakukan pengambilan nanah pada luka punggung kelinci untuk diinokulasi pada media VJA. Perhitungan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menggunakan

*plate count*, setelah penyemprotan *spray gel* jumlah koloni dihitung. Luka sembuh bila jumlah koloni bakteri mendekati kontrol normal yaitu selisih antara lokasi a, b, d, e, f dengan kontrol normal <10 koloni bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Hasil perhitungan jumlah koloni bakteri yang telah dikurang dengan flora normal kulit punggung kelinci, dapat dilihat pada tabel 21.

**Tabel 21.**Perhitungan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada media VJA

Kelinci	Hari	Jumlah Koloni					
		N	Formula I	Formula II	Formula III	Kontrol Positif	Kontrol Negatif
<b>1</b>	1	32	110	117	121	119	118
	3	36	93	98	98	95	108
	5	31	74	79	75	76	97
	7	22	57	58	51	54	85
	9	32	39	39	27	31	72
	11	34	23	20	7	9	59
	13	32	9	7	4	5	43
	15	24	5	0	1	3	24
<b>2</b>	1	34	102	98	96	98	90
	3	17	85	79	72	76	81
	5	31	68	60	47	53	70
	7	21	52	41	22	32	62
	9	27	35	23	14	15	49
	11	26	17	9	4	6	40
	13	23	8	4	2	3	28
	15	19	2	2	3	2	21
<b>3</b>	1	27	108	106	110	105	102
	3	25	91	87	89	84	92
	5	28	74	68	67	62	81
	7	30	57	49	47	41	69
	9	31	39	31	24	20	58
	11	23	21	14	11	11	46
	13	28	8	5	4	3	33
	15	24	2	3	1	3	25
<b>4</b>	1	23	103	106	104	102	96
	3	25	86	89	79	81	88
	5	29	69	71	55	59	78
	7	24	52	52	31	38	67
	9	23	39	35	14	16	54
	11	25	24	18	8	9	43
	13	26	11	7	2	3	30
	15	21	6	3	3	3	23
<b>5</b>	1	28	104	110	112	107	114
	3	30	90	96	87	86	105
	5	21	77	78	63	64	96
	7	31	63	61	39	42	84
	9	33	37	34	7	12	62
	11	29	34	27	12	14	61
	13	28	18	11	4	6	32
	15	24	4	7	3	1	34

**Keterangan:**

Formula I	: <i>Spray gel</i> minyak atsiri daun jeruk purut 1%
Formula II	: <i>Spray gel</i> minyak atsiri daun jeruk purut 2%
Formula III	: <i>Spray gel</i> minyak atsiri daun jeruk purut 4%
Kontrol positif	: <i>Spray gel</i> gentamisin
Kontrol negatif	: Basis <i>Spray gel</i>
N	: Kontrol Normal

Tabel 21 merupakan hasil perhitungan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang telah dikurang dengan flora normal pada kulit punggung kelinci untuk memudahkan pengamatan penurunan koloni, data koloni bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 awal dapat dilihat pada Lampiran 13. Tabel 21, menunjukkan penurunan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 tiap kelinci berbeda, hal ini disebabkan sistem imun tiap kelinci berbeda-beda. Penurunan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 tiap perlakuan pun berbeda-beda, lokasi yang disemprot kontrol positif dan minyak atsiri daun jeruk purut dengan konsentrasi 4% lebih cepat mengalami penurunan jumlah koloni dibandingkan dengan minyak atsiri dengan konsentrasi 1% dan 2%. Penurunan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 paling lama yaitu lokasi yang disemprot dengan kontrol negatif. Kontrol negatif berupa basis *spray gel* yang tidak ada komponen zat aktifnya sehingga penyembuhannya lebih lama, serta basis *spray gel* hanya dapat memberikan efek melembabkan bagian atas kulit dan sedikit memberikan efek antibakteri dengan bantuan pengawet nipagin dan nipasol. Infeksi pada koloni negatif hanya diobati dengan basis *spray gel* tetapi infeksi juga dapat sembuh, ditandai dengan menurunnya jumlah koloni, hilangnya nanah, mengeringnya luka pada kulit punggung kelinci karena bantuan dari pengawet pada basis *spray gel* serta tubuh yang sehat memiliki kemampuan alami untuk selalu melindungi dan memulihkan dirinya dari pengaruh luar. Data analisis stasistik dapat dilihat pada Lampiran 27.

*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat memfermentasi mannitol pada saat suasana asam, sehingga koloni yang terbentuk yaitu bulat, halus, timbul, dan mengkilat dengan membentuk pigmen berwarna kuning emas (Jawetz *et al* 2012). Media tertentu pada penelitian ini, tidak mengalami perubahan warna pada media

VJA kemungkinan ini disebabkan oleh lama waktu inkubasi yang tidak seragam serta pembuatan media VJA tidak dilakukan pengukuran pH terlebih dahulu sebelum media digunakan, dimana media yang terlalu basa menyebabkan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 tidak dapat memfermentasi mannitol sehingga tidak terbentuk pigmen berwarna kuning emas.

Hasil dari penurunan jumlah koloni bakteri pada tiap titik dianalisis menggunakan SPSS pada tes Kolmogorov Smirnov terlihat sig 0,159 > 0,05 maka data terdistribusi normal, kemudian dilanjutkan dengan analisis anava dua jalan.

**Tabel 22. Homogeneous subsets hasil uji aktivitas antibakteri *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut**

		JUMLAH KOLONI			
Formula		N	Subset		
			1	2	3
Tukey HSD <sup>a,b</sup>	MINYAK ATSIRI 4%	35	46,37		
	POSITIF	35	47,09		
	MINYAK ATSIRI 2%	35		54,23	
	MINYAK ATSIRI 1%	35		56,80	
	NEGATIF	35			71,91
	Sig.			,995	,629

Hasil homogenous subsets pada Tabel 22 menunjukkan *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut dengan konsentrasi 4% dan kontrol positif berada pada 1 kolom yang sama yang berarti tidak ada perbedaan yang signifikan antara konsentrasi 4% dan kontrol positif. Kolom berikutnya *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut konsentrasi 1% dan konsentrasi 2% tidak berbeda secara signifikan. Hasil data statistik dapat dilihat pada Lampiran 29.

Aktivitas antibakteri minyak atsiri daun jeruk purut bekerja dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 karena kandungan minyak atsiri yaitu sitronelal yang terdapat pada buah jeruk purut yang dapat merusak dinding sel sehingga pertumbuhan bakteri terhambat (Putra 2017). Hal ini juga memperkuat penelitian yang sebelumnya dilakukan Yuliani R (2011) yang menyatakan bahwa minyak atsiri daun jeruk purut dengan konsentrasi 2% dapat membunuh bakteri *Staphylococcus aureus*.



*Spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut konsentrasi 4% memiliki kandungan zat aktif yang lebih besar dibanding dengan *spray gel* Gentamisin dengan kandungan 0,1%. Hasil pengamatan menunjukkan gejala klinis, lamanya waktu penyembuhan dan penurunan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang paling optimal adalah konsentrasi 4%, karena pada konsentrasi tersebut memiliki kandungan senyawa yang paling besar. Kontrol positif yang dibuat dalam bentuk sediaan *spray gel* Gentamisin memiliki daya aktivitas antibakteri yang tidak berbeda nyata dengan *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut konsentrasi 4%. Gentamisin merupakan antibiotik golongan aminoglikosida yang mekanisme kerjanya mengikat secara ireversibel sub unit ribosom 30s dari kuman, yaitu dengan menghambat sintesis protein dan menyebabkan kesalahan translokasi kode genetik gentamisin bersifat bakterisidal selain gentamisin juga efektif terhadap gram positif dan gram negatif. *Spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut konsentrasi 4% dapat digunakan sebagai pengganti gentamisin.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

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

Pertama, minyak atsiri daun jeruk purut dengan konsentrasi 1%, 2%, dan 4% dapat dibuat dalam bentuk sediaan *spray gel* dengan mutu fisik yang baik dan stabilitas yang baik pada *spray gel* konsentrasi 1% dan 2%.

Kedua, sediaan *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diinfeksi pada kelinci.

Ketiga, konsentrasi penyembuhan paling optimal dari konsentrasi 1%, 2%, dan 4% pada sediaan *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut terhadap infeksi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada kelinci adalah konsentrasi 4%.

#### **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 atau kombinasi karbopol dan HPMC untuk mendapatkan konsentrasi basis yang lebih optimal dalam membantu aktivitas antibakteri.
2. Perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut menggunakan jenis bakteri patogen yang berbeda.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agusta A. 2000. *Minyak Atsiri Tumbuhan Tropika Indonesia*. Bandung: ITB.
- Akhyar. 2010. Uji daya hambat dan analisis klt bioautografi ekstrak akar dan buah bakau (*Rhizophora stylosa griff.*) Terhadap *Vibrio harveyii* [Skripsi]. Makassar: Program studi Farmasi Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin Makassar.
- Allen LV. 2002. The Art Science and Technology of Pharmaceutical compounding, edisi 2, USA. *American Pharmaceutical Association*, pp. 13-16,34,35.
- Ansari SA. (2009). *Skin pH and Skin Flora*. In Handbook of Cosmetics Science and Technology. Edisi Ketiga. New York: Informa Healthcare USA. Hal. 222-223.
- Ansel HC. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi Edisi IV*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Ansel HC. 2006. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi. Edisi IV*. Farida Ibrahim. Penerjemah; Jakarta: Universitas Indonesia Press. Hlm 605-608. Terjemahan dari: *Introduction Forms Pharmaceutical Preparations*.
- Ba HK.2009. *Handbook of Stability Testing in Pharmaceutical Developmen.*, Springer Science. USA, p.34.
- Badan Standarisasi Nasional. 2001. *Sistem Manajemen Mutu – Persyaratan*, Jakarta : BSN; (SNI 19-9001-2001)
- Banker GS, Anderson NR. 1986. Semisolid in Lachman, L, Lieberman, H.A., Kanig, J.L., *The Theory and Practice of Industrial Pharmacy, 3rd Ed*, Lea and Febiger, Philadepia
- Barasa LS. 2016. Formulasi gel antioksidan ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia Mangostana* l.) dalam berbagai variasi konsentrasi CMC-NA dan gliserin [Skripsi]. Yogyakarta: Fakultas farmasi, universitas Sanata Dharma
- Darmadi. 2008. *Infeksi Nosokomial, Problematika dan Pengendaliannya*. Jakarta: Salemba Medika.
- [Depkes] RI. 1985. Cara Pembuatan Simplisia, Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, hlm I.
- [Depkes] RI. 1979. *Farmakope Indonesia*. Edisi III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

- [Depkes] RI. 2003. Pedoman Pelayanan Gizi Rumah Sakit. Jakarta : Direktorat Rumah Sakit. Khusus dan Swasta, Dit. Jen. Yanmedik.
- [Depkes] RI. 2008. *Pengelolaan Pasca Panen Tanaman Obat*. Balai Penelitian Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- [Ditjen POM]. 1979. Farmakope Indonesia. Edisi III. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Hal. 96, 534, 612
- Djajadisastra J, Abdul Mun'im, Dessy NP, 2009. Formulasi Gel Topikal Dari ekstrak Nerii Folium Dalam Sediaan Anti Jerawat. *Jurnal Farmasi Indonesia.*, Vol. 4 (5) Juli 2009: 210-216
- Dyah S, Mamik PR., Rini P. 2009. *Efek Penolak Serangga dan Larvasida Ekstrak Daun Jeruk Purut Terhadap Aedes aegypti*. Fakultas Farmasi. Universitas Setia Budi. Surakarta.
- Putra RED, Herriyannis H, Vonny N.S Wowor. Uji Daya Hambat Perasan Buah Jeruk Purut *Citrus hytrix* Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Jurnal Ilmiah Farmasi-UNSRAT*. 2017 : 2302-2493.
- FKUI. 2002. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran Edisi Revisi*. Binarupa Aksara. Jakarta
- Garg A, Aggarwal D, Garg S, and Sigla AK. 2002. Spreading of Semisolid Formulation: An Update. *Pharmaceutical Tecnology*. Hlm 84- 102.
- Gibson M. 2008. *Pharmaceutical Preformulation and Formulation Second edition*. Leicestershire: Informa Kesehatan. Hlm 476.
- Ginanjari EF *et al.* 2010. *Handy Gel Carrota Hasil Fermentasi Daun Wortel Sebagai Antibakteri Penyebab Penyakit Kulit*, Seminar Nasional Biologi, Fakultas Biologi: Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 1169.
- Gunawan D, Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*. Jilid 1. Jakarta: Penebar Swadaya
- Guenther E. 2010. *Minyak Atsiri*. RS Ketaren. Penerjemah; Jakarta: Universitas Indonesia Press. Terjemahan dari: Essential Oils.
- Harbone. 2007. *Metode Fitokimia, Penentuan Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Padmawinata K, Soediro I, Penerjemah; Bandung: Penerbit ITB. Terjemahan dari: Phytochemical Methods.

- Harnum M. 2012. *Metode Distilasi Vakum Untuk Pembuatan Minyak Jeruk Purut Dengan Menggunakan Air Sebagai Pelarut* [Skripsi]. Semarang: Fakultas Teknik, Universitas Diponegoro.
- Hasan AI. 2010. Performa induk kelinci peranakan New Zealand White dengan pemberian pellet dan silase ransum komplit berbasis pakan lokal [Skripsi]. Bogor : Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor.
- Hidayat FK. 1999. *Ekstraksi Minyak Atsiri Dari Daun Jeruk Purut (Citrus hystrix DC) pada Skala Pilot-Plant* [Skripsi]. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor..
- Hustamin R. 2006. *Panduan Pemeliharaan Kelinci Hias*. Jakarta (ID): Agromedia Pustaka.
- Holland T, Hassan C, Bruktawit A, Stephen G, Andrian H, dan Vimala F, 2002. *Spray Hydrogel Wound Dressing*. United State Patent Application Publication.
- Imron M. 2008. Pengaruh ukuran perajangan bahan baku daun jeruk purut (*Citrus Hystrix DC*) terhadap rendemen minyak Atsiri pada proses pemisahan dengan water and steam distilator [Tesis]. Yogyakarta: S2 Sistem Teknik, Universitas Gadjah Mada.
- Indan E. 2010. *Ilmu Kesehatan Masyarakat*. Bandung: Penerbit Alumni.
- Irianto K. 2014. *Bakteriologi, Mikologi, dan Virologi: Panduan Medis & Klinis*. Bandung: Alfabeta.
- Iskamto B. 2009. *Bakteriologi kesehatan*, cetakan ke-1. Surakarta: Universitas Negri Sebelas Maret Press. Hlm 11, 12, 14.
- Janeway CA, P Travers, Walport, Mark, M. Schlomchik, 2001. *The Immune System in Health and Disease, Immunobiology 5th Edition*. Garland Science.
- Jauregui KM, Gregorio, Juan Carlos Cano Cabrera, Elda Patricia Segura Cenicerros, Jose Luis Martinez Hernandez, dan Anna Iliyina, 2009. *A New Formolated Stable Papin-pectin Aerosol Spray Skin Woundhealding. Biotechnology and Bioprocess Engineering*, Vol.14 : 450-456.
- Jawetz *et al.* 2001. *Mikrobiologi Kedokteran : Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universtas Airlangga*. Surabaya: Penebar Swadaya.

- Jawetz *et al.* 2002. *Mikrobiologi kedokteran*. Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Surabaya: salemba Medika. Hlm 205-209.
- Jawetz *et al.* 2005. *Medical Microbiology*. 23<sup>th</sup>. Ed. Elferia Nr. Penerjemah; Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Jawetz *et al.* 2012. *Medical Microbiology*. 26<sup>th</sup>. Ed. Elferia Nr. Penerjemah; Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Joko S. *Bertani Jeruk Purut*. Yogyakarta:Pustaka baru press ;2010, hal 1-17.
- Kamishitta *et al.* 1992. *Spray Gel Base and Spray Gel Preparation Using Thereof. United State Patent Application Publication*. America.
- Kartadisastra HR. 1997. *Penyediaan dan Pengolahan Pakan Ternak Ruminansia*. Kanisius. Yogyakarta.
- Koensomardiyah S. 2010. *A to Z Minyak Atsiri Untuk Industri Makanan, Kosmetik dan Aroma terapi*. Yogyakarta: Penerbit ANDI
- Koswara S. 2009. Menyuling dan Menepungkan Minyak atsiri Daun Jeruk Purut. *Indonesian Scientific Journal*. 2(2): 78-81.
- Lawless J. 2002. *Encyclopedia of Essential Oils*. London: Thorson.
- Khasanah LU *et al.* 2015. *Pengaruh Perlakuan Pendahuluan Terhadap Karakteristik Mutu Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut (Citrus hystrix DC)*. Surakarta: Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret
- Loh FS, Awang RM., Omar D, dan Rahmani D. 2011. Insecticidal properties of *Citrus hystrix* DC leaves essential oil against *Spodoptera litura* fabricius, *Journal of Medicinal Plants Research*, 5 (16), 3739-3744.
- Lutony TL, Rahmayati Y. 2002. *Produksi dan Perdagangan Minyak Atsiri*. Penerbit Penebar Swadaya, Cetakan IV. Jakarta.
- Ma'mun, Sintha suhirman. 2012. Karakteristik Minyak Atsiri Potensial, Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik, Bogor [Http://balittro.litbang.deptan.go.id/ind/images/stories/edsis/vol20n02/5mamun.pdf](http://balittro.litbang.deptan.go.id/ind/images/stories/edsis/vol20n02/5mamun.pdf) [7April 2017]
- Martindale: The Complete Drug Reference, 34th ed., 2005, Pharmaceutical Press, London, 1157.

- Maulidaniar R, Rahima SR., Rita M, Hamidah N. dan Yuda AW. 2011. *Gel Asam Salisilat*. Universitas Lambung Mangkurat Banjar Baru, dipublikasikan.
- Munawaroh S, Prima AH. Ekstraksi minyak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* d.c.) dengan pelarut etanol dan n-heksana. *Jurnal Kompetensi Teknik*. 2010; 2(1):73-8.
- Naibabo OH, Yamlean PVY, Wiyono W. 2013. Pengaruh Basis Salep terhadap Formulasi Sediaan Salep Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum Sanctum* L.) pada kulit punggung kelinci yang dibuat infeksi *Staphylococcus aureus*. Manado: Program Studi Farmasi, FMIPA UNSRAT.
- Nuraini N.2011. *Aneka Manfaat Biji-bijian*. Yogyakarta: Gava Media
- Pelczar M.J., Chan, E.C.S. 2007. *Dasar-dasar mikrobiologi*. Jilid ke-1. Hadioetomo, R. S. , Imas, T., Tjitrosomo, S. S., Angka, S. L., penerjemah. Jakarta: UI Press. Terjemahan dari: *Elements of Microbiology*.
- Porzio S *et al*, 1998. Efficacy Of A New Topical Gel-Spray Formulation Of Ketoprofen Lysine Salt In The Rat: Percutaneous Permeation *In Vitro* And *In Vivo* And Pharmacological Activity. *Pharmacological Research*, Vol.37 (1).
- Priani ES, Darusman Fitrianti, Humanisya Haniva, 2014. Formulasi Sediaan Emulgel Antioksidan Mengandung Ekstrak Etanol Kulit Batang Kayu Manis (*Cinnamomum burmani* Nees). Prosiding SnaPP2014 Sains, Teknologi, dan Kesehatan.
- Puspitasari L. 2014. kandungan Protein dan Sifat Organoleptic Mie Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas*) sebagai Bahan Baku dengan Penambahan Jamur Tiram (*Pleurotus ostratus*). Surakarta: Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Radji M. 2011. *Mikrobiologi*. Buku Kedokteran. EGC, Jakarta.
- Rahmi U, Yunazar M, Adlis S. *Profil fitokimia metabolik sekunder dan uji aktivitas antioksidan tanaman jeruk purut (Citrus histris DC) dan jeruk bali (Citrus maxima (Burm.f.) Merr)*. Jurnal Unand. 2013; 2(2): 2303-2311.
- Rismunandar. 1981. *Meningkatkan Konsumsi Protein dengan Beternak Kelinci*. Edisi ke-7. Penerbit CV. Sinar Baru. Bandung
- Rowe CR, Sheskey, J. P., and Weller, J. P., 2006, *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, 5th Edition, 18-19, 89- 91, 462-469, 629-631, American Pharmaceutical Association, London, Chicago.

- Sastroamidjojo H. 2004. *Kimia Minyak Atsiri*. Jogjakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Sait S, Lubis EH. 1991. Pengaruh cara isolasi minyak atsiri dari daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) terhadap sifat wangi dasar (*fragrant principle*) aslinya. Balai Penelitian Kemurgi dan Aneka Industri. Bogor.
- Sayuti I, A Martina, GE Sukma. Kepekaan Jamur Trichophyton terhadap Obat Salep Krim dan Obat Tingtur. Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Riau, *Jurnal Biogenesis* Vol.2, 2006:51.
- Shafira U, Amila Gadri, Fetri Lestari., 2015, Formulasi Sediaan Spray Gel Serbuk Getah Tanaman Jarak Cina (*Jatropha multifida* Linn.) dengan Variasi Jenis Polimer Pembentuk Film dan Jenis Plasticizer. Prosiding Penelitian SPeSIA Unisba, 2460-6472.
- Sharon N, Anam S, Yuliet. 2013. Formulasi Krim Antioksidan Ekstrak Etanol Bawang Hutan (*Eleutherine palmifolia* L. Merr). *Online Jurnal of Natural Science* 2(3):111-122.
- Soedarto. 2015. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Sagung Seto
- Sudjono TA, Mimin Honniasih, Yunita Ratna Pratimsari, 2012. Pengaruh Konsentrasi Gelling Agent Carbomer 934 dan HPMC pada Formulasi Gel Lender Bekicot (*Achatina fulica*) Terhadap Kecepatan Penyembuhan Luka Bakar pada Punggung Kelinci. *PHARMACON : Jurnal Farmasi Indonesia*, Vol. 13 (1).
- Sugiyarto ES. 2009. Pengaruh Basis Gel Poloxamer dan Karbopol terhadap Efek Penyembuhan Luka Bakar Gel Ekstrak Etanol Kulit Buah Pisang (*Musa paradisiaca* L.) pada kulit punggung kelinci. *Skripsi*. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah, Surakarta.
- Suyudi S Dwi Yudrisa. 2014. Formulasi gel semprot menggunakan kombinasi karbopol 940 dan hidroksi propil metil selulosa (HPMC) sebagai pembentuk gel. [Skripsi]. Jakarta: Fakultas kedokteran dan ilmu kesehatan, UIN Syarif Hidayatullah.
- Syahrurachman A. dkk. 1994. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran* Edisi Revisi. Jakarta : Bina Rupa Aksara.
- The US Department of Agriculture. 2015. *USDA National Nutrient Database*.
- Vimol S, Chanwit T, Veena N, Nuntavan B, Kulkanya C, Siwimol P, Sirirat C, Somporn S. 2012. *Antibacterial activity of essential oils from Citrus hystrix (makrut lime) against respiratory tract pathogens*. Department of Food



Chemistry, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, Phayathai Road, Bangkok 10400 Thailand

- Voigt R. 1994. Buku Pelajaran Teknologi Farmasi. Edisi ke – 5. Diterjemahkan oleh Soewandhi, S.N. dan Widiyanto, M.B. Edisi V. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. Hlm 311-370, 560-567.
- Waluyo L. 2004. *Mikrobiologi Umum*. Penerbit Universitas Muhamadiyah Press, Malang
- Wijayanto A, Kurniawan W, Sobri I. 2012. *Formulasi dan Efektivitas Gel Antiseptik Tangan Minyak Atsiri Lengkuas*. JURNAL ILMU KEFARMASIAN INDONESIA, hal 103.
- Wiyono B, Hartoyo dan Poedji Hastoeti. 2000. Sifat-sifat dasar minyak atsiridan kemungkinan penerapan baku mutunya. *Buletin Penelitian Hasil Hutan* (2). Pusat penelitian Hasil Hutan. Bogor: hal 130-135.
- Yuliani R, Peni I, Septi S.R. 2011. Aktivitas antibakteri minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Pharmacon.*; 12(2): 50-4.

L

A

M

P

I

R

A

N

## Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman jeruk purut



No : 192/DET/UPT-LAB/27/VII/2017  
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :

Nama : Widiyasanti  
NIM : 20144191 A  
Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : **Jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.)**

Hasil determinasi berdasarkan : **Baker: Flora of Java**

1b – 2b – 3b – 4b – 12b – 13b – 14b – 17b – 18b – 19b – 20b – 21b – 22b – 23b – 24b – 25b  
– 26b – 27a – 28b – 29b – 30b – 31a – 32b – 74a – 75b – 76a – 77b – 104b – 106b – 107b –  
186b – 287b – 288b – 289b – 298b – 302a – 303a. familia 133. Rutaceae. 1b – 2a – 3a. 23.  
Citrus. 1a – 2a. *Citrus hystrix* DC.

Deskripsi :

Habitus : Perdu, tinggi 2 – 12 meter.

Akar : Tunggang.

Batang : Percabangan monopodial, bulat, berduri, hijau, yang sudah tua berwarna coklat.

**Daun : Majemuk menyirip beranak daun satu. Anak daun bulat telur sampai lonjong, pangkal membulat atau tumpul, ujung tumpul sampai runcing, tepi beringgit, panjang 3,5 – 6 cm, lebar 2,7 – 4,1 cm, permukaan atas hijau tua dan mengkilap, permukaan bawah hijau muda, bila diremas berbau harus spesifik.**

Bunga : Majemuk, tandan, di terminal atau aksilar, kelopak bentuk bintang, petala 4 – 5, putih kekuningan, stamen 24 – 30, tangkai putik panjang, silindris.

Pustaka : Backer C.A. & Brink R.C.B. (1965): *Flora of Java* (Spermatophytes only). N.V.P. Noordhoff – Groningen – The Netherlands.

Surakarta, 27 Juli 2017

Tim determinasi

Dra. Kartinah Wiryosoendjojo, SU.

## Lampiran 2. Surat Keterangan Hewan Uji

### “ABIMANYU FARM”

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

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

---

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Sigit Pramono

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

Nama : Widiyasanti

Nim : 20144191 A

Institusi : Universitas Setia Budi Surakarta

Merupakan hewan uji dengan spesifikasi sebagai berikut:

Jenis hewan : Kelinci New Zealand

Umur : 2-3 bulan

Jumlah : 5 ekor

Jenis kelamin : Jantan

Keterangan : Sehat

Asal-usul : Unit Pengembangan Hewan Boyolali

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

Surakarta, 16 Oktober 2017

Hormat kami



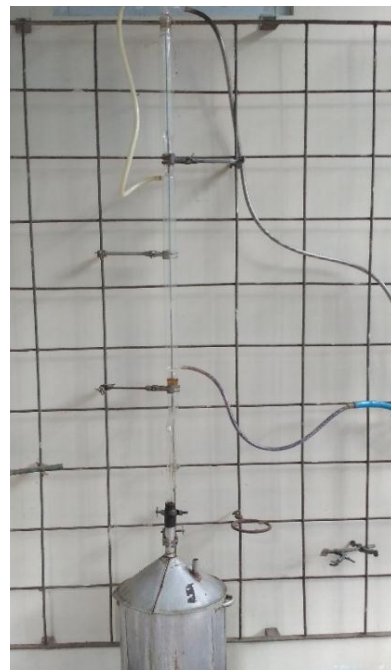
Sigit Pramono

“ABIMANYU FARM”

### Lampiran 3. Daun jeruk purut dan destilasi



Pemisahan minyak dan air



Rangkaian alat destilasi uap dan air

#### Lampiran 4. Identifikasi Indeks Bias Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut

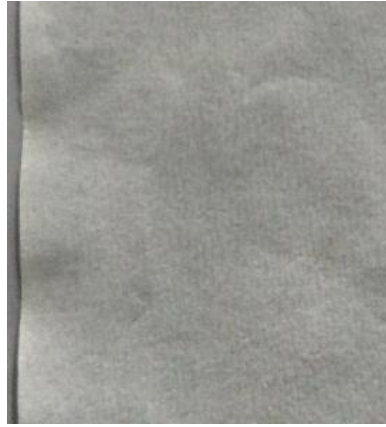


Refraktometer



Hasil uji indeks bias

**Lampiran 5. Identifikasi minyak atsiri dan kelarutan dalam alkohol**



Minyak atsiri daun jeruk purut



Minyak atsiri daun jeruk purut kelarutan dalam alkohol

**Lampiran 6. Gambar alat****Alat uji pH****Alat uji viskositas****Vortex mixer****Mikroskop****Alat uji daya sebar**



**Lampiran 7. Alat sterilisasi**



**Inkubator**

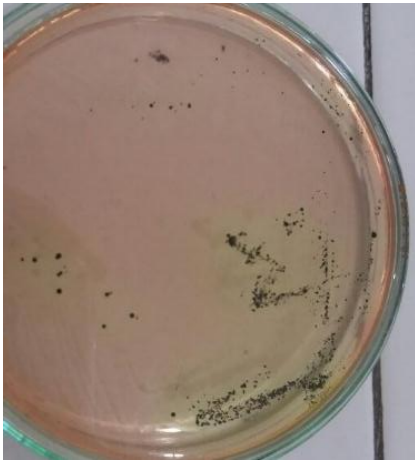


**Oven**

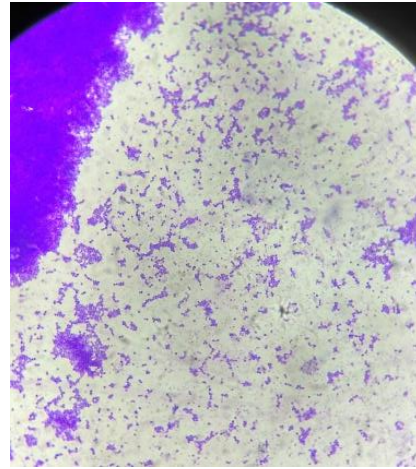


**Autoclav**

**Lampiran 8. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**



Uji makroskopik koloni



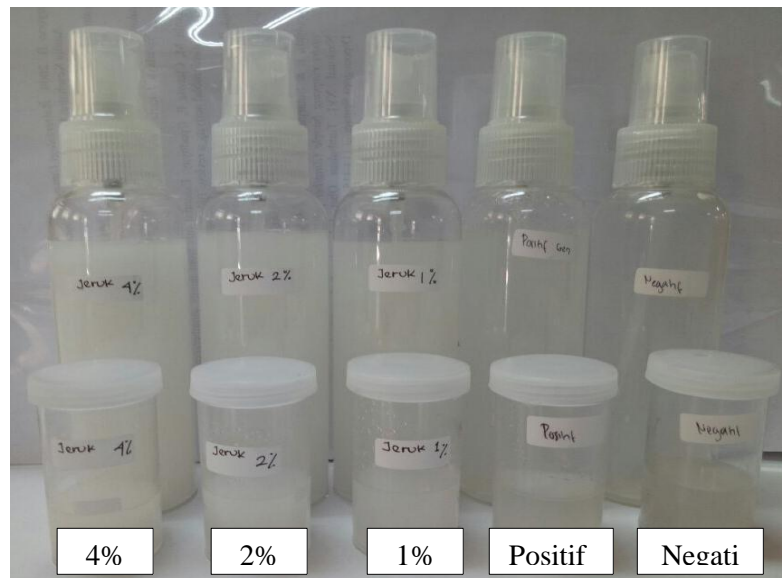
Uji pewarnaan Gram



Uji katalase



Uji koagulase

**Lampiran 9. Bahan uji antibakteri**

*Spray gel Minyak atsiri daun jeruk purut*



Bakteri murni



media BHI



Suspensi bakteri

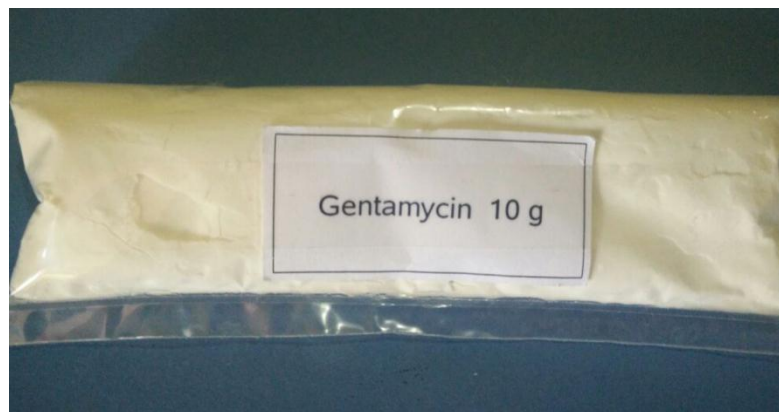
**Lampiran 10. Bahan pewarnaan bakteri *Staphylococcus aureus***



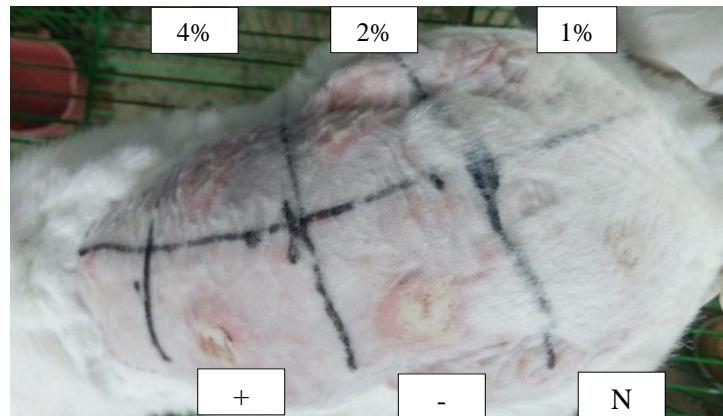
Indikator pewarnaan



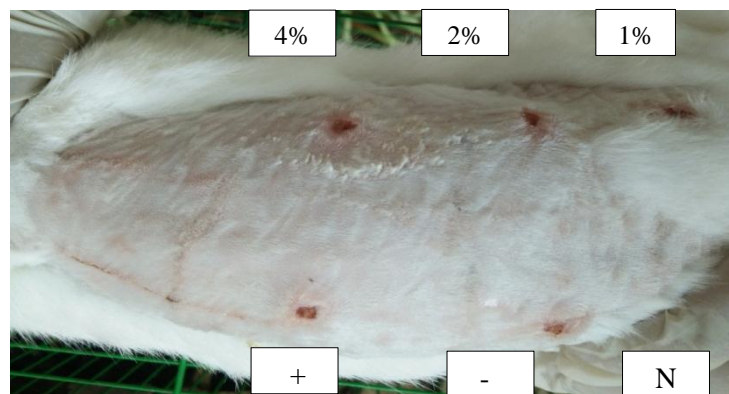
Minyak imersi

**Lampiran 11. Bahan pembuatan *Spray gel*****Basis *spray gel*****Kontrol positif**

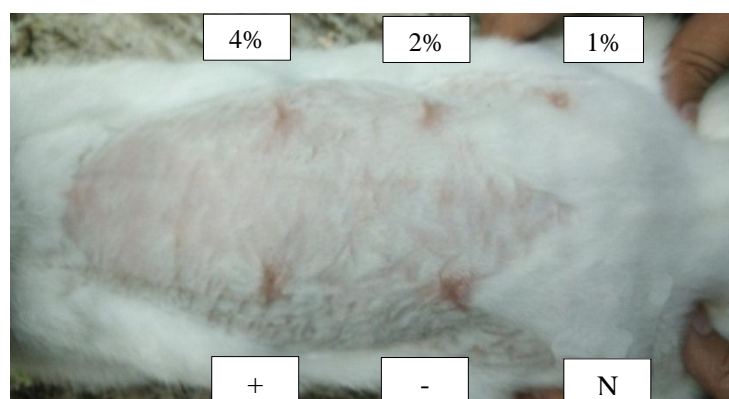
**Lampiran 12. Punggung kelinci yang diinfeksi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**



Punggung kelinci hari ke-1

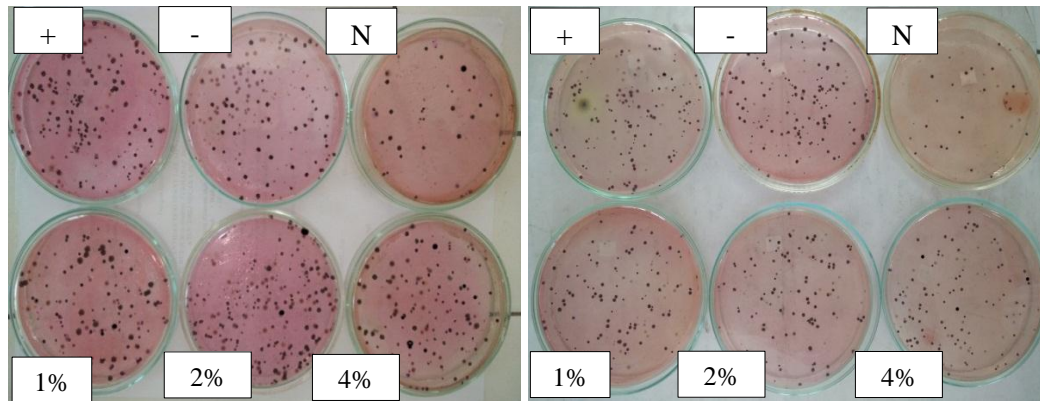


Punggung kelinci hari ke-7



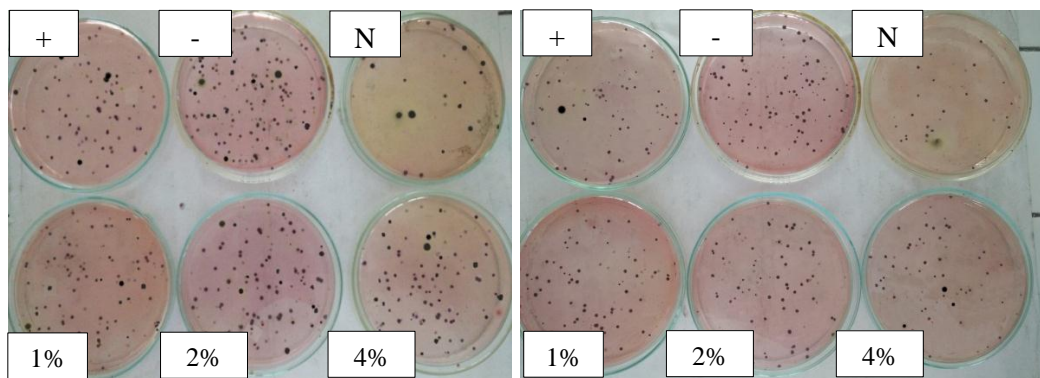
Punggung kelinci hari ke-15

**Lampiran 13. Pengamatan pengurangan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 punggung kelinci**



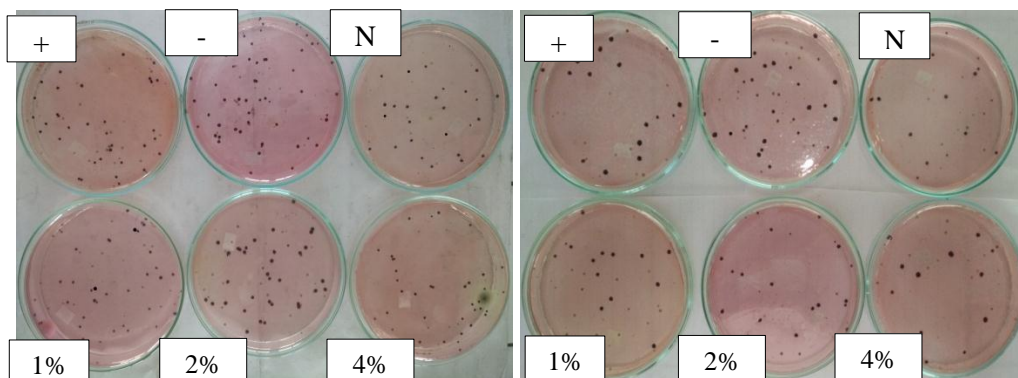
Punggung kelinci hari ke-1

Punggung kelinci hari ke-3



Punggung kelinci hari ke-7

Punggung kelinci hari ke-11



Punggung kelinci hari ke-13

Punggung kelinci hari ke-15

**Lampiran 14. Perhitungan kadar minyak atsiri daun jeruk purut**

<b>Bobot basah (gram)</b>	<b>Volume minyak atsiri (ml)</b>	<b>Rendemen (% v/b)</b>
5000	41	0,82 %

Perhitungan % Rendemen :

$$\% \text{ Rendemen daun jeruk purut} = \frac{\text{volume minyak}}{\text{bobot sampel}} \times 100 \%$$

$$\frac{42 \text{ ml}}{5000 \text{ gram}} \times 100 \% = 0,82 \%$$

Jadi, kadar minyak atsiri daun jeruk purut adalah 0,82 %



**Lampiran 15. Perhitungan bobot jenis minyak atsiri daun jeruk purut**

Bobot timbang kosong (g)	Bobot timbang + air (g)	Bobot timbang + minyak (g) Daun jeruk purut	Bobot minyak (g) Daun jeruk purut
37,71	38,70	38,53	0,82
37,71	38,70	38,53	0,82
37,71	38,70	38,54	0,83
<b>Rata –Rata</b>			<b>0,82</b>

**Perhitungan bobot jenis :**

**I. Bobot jenis daun jeruk purut :**

$$\begin{aligned}
 \text{Bobot timbang + air} &= 38,70 \\
 \text{Bobot timbang kosong} &= \underline{37,71} - \\
 \text{Bobot air} &= 0,99 \\
 \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{berat minyak}}{\text{bobot air}} \\
 &= \frac{0,82}{0,99} = 0,8283 \\
 \\
 \text{Bobot timbang + air} &= 38,70 \\
 \text{Bobot timbang kosong} &= \underline{37,71} - \\
 \text{Bobot air} &= 0,99 \\
 \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{berat minyak}}{\text{bobot air}} \\
 &= \frac{0,82}{0,99} = 0,8283 \\
 \\
 \text{Bobot timbang + air} &= 38,78 \\
 \text{Bobot timbang kosong} &= \underline{37,71} - \\
 \text{Bobot air} &= 0,99 \\
 \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{berat minyak}}{\text{bobot air}} \\
 &= \frac{0,83}{0,99} = 0,8384
 \end{aligned}$$

Perhitungan konversi suhu ruang dalam percobaan bobot jenis :

Faktor konversi pada suhu setiap kenaikan 1°C = 0,0007

Berat jenis minyak daun jeruk purut teoritis 25°C = 0,696-1,1188

Suhu ruang praktek = 31°C

Perhitungan :

$$(31-25) \times 0,0007 = 0,0042$$

$$\begin{aligned} \text{Bobot teoritis pada suhu } 31^{\circ}\text{C} &= (0,696 + 0,0042) - (1,1188 + 0,0042) \\ &= 0,7002 - 1,123 \text{ g/mL} \end{aligned}$$

Rata-rata bobot jenis minyak atsiri daun jeruk purut

$$= \frac{0,8283 + 0,8283 + 0,8384}{3} = 0,8317$$

3

Jadi, bobot jenis minyak atsiri daun jeruk purut praktek yaitu 0,8317 sesuai dengan bobot jenis menurut pustaka pada kisaran 0,7002-1,123 g/mL.

**Lampiran 16. Hasil uji pH *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut**

FORMULA		pH formulasi		
		HARI KE 0	HARI KE-1	HARI KE-21
Konsentrasi 1%		6,26	6,25	6,27
		6,25	6,27	6,29
		6,28	6,26	6,29
	Rata-rata/SD	6,26 ±0,015	6,26±0,01	6,28±0,012
Konsentrasi 2%		6,17	6,18	6,14
		6,17	6,14	6,12
		6,15	6,19	6,15
	Rata-rata/SD	6,16±0,0115	6,17±0,026	6,14±0,015
Konsentrasi 4%		5,98	5,97	5,96
		6,02	6,04	6,02
		5,96	6,01	5,95
	Rata-rata/SD	5,98±0,0305	6,01±0,035	5,97±0,038

**Lampiran 17. Uji statistik Kolmogorov-Smirnov, analisis two way anova pH  
spray gel minyak atsiri daun jeruk purut**

**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
pH	27	6,1385	,11912	5,95	6,29

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

			pH
N			27
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean		6,1385
	Std. Deviation		,11912
Most Extreme Differences	Absolute		,159
	Positive		,136
	Negative		-,159
Kolmogorov-Smirnov Z			,824
Asymp. Sig. (2-tailed)			,505

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

**Univariate Analysis of Variance**

**Between-Subjects Factors**

		Value Label	N
Formulasi	1	MINYAK ATSIRI 1%	9
	2	MINYAK ATSIRI 2%	9
	3	MINYAK ATSIRI 4%	9
Waktu	1	hari ke-0	9
	2	hari ke-1	9
	3	hari ke-21	9

### Descriptive Statistics

Dependent Variable:pH

Formulasi	Waktu	Mean	Std. Deviation	N
MINYAK ATSIRI 1%	hari ke-0	6,2633	,01528	3
	hari ke-1	6,2600	,01000	3
	hari ke-21	6,2833	,01155	3
	Total	6,2689	,01537	9
MINYAK ATSIRI 2%	hari ke-0	6,1633	,01155	3
	hari ke-1	6,1700	,02646	3
	hari ke-21	6,1367	,01528	3
	Total	6,1567	,02236	9
MINYAK ATSIRI 4%	hari ke-0	5,9867	,03055	3
	hari ke-1	6,0067	,03512	3
	hari ke-21	5,9767	,03786	3
	Total	5,9900	,03279	9
Total	hari ke-0	6,1378	,12266	9
	hari ke-1	6,1456	,11348	9
	hari ke-21	6,1322	,13452	9
	Total	6,1385	,11912	27

### Levene's Test of Equality of Error Variances<sup>a</sup>

Dependent Variable:pH

F	df1	df2	Sig.
1,836	8	18	,135

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

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

### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:pH

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	,359 <sup>a</sup>	8	,045	78,606	,000	,972
Intercept	1017,398	1	1017,398	1783749,844	,000	1,000
Formulasi	,354	2	,177	310,721	,000	,972
Waktu	,001	2	,000	,708	,506	,073
Formulasi * Waktu	,003	4	,001	1,497	,245	,250
Error	,010	18	,001			
Total	1017,767	27				
Corrected Total	,369	26				

a. R Squared = ,972 (Adjusted R Squared = ,960)

## Post Hoc Tests

### Homogeneous Subsets

pH

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

Formulasi	N	Subset		
		1	2	3
MINYAK ATSIRI 4%	9	5,9900		
MINYAK ATSIRI 2%	9		6,1567	
MINYAK ATSIRI 1%	9			6,2689
Sig.		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

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

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9,000.

b. Alpha = ,05.

### Homogeneous Subsets

pH

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

Waktu	N	Subset
		1
hari ke-21	9	6,1322
hari ke-0	9	6,1378
hari ke-1	9	6,1456
Sig.		,477

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

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

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9,000.

b. Alpha = ,05.

**Lampiran 18. Hasil uji viskositas *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut**

FORMULA		Viskositas formulasi		
		HARI KE 0	HARI KE-1	HARI KE-21
Konsentrasi 1%		31,5	31,5	32
		32	32	31,5
		31,5	32,5	31
	Rata-rata/SD	31,67 ± 0,29	24,17 ± 0,58	18,67 ± 0,29
Konsentrasi 2%		24,5	24,5	23,5
		24,5	23,5	24,5
		23,5	24	22
	Rata-rata/SD	32,00 ± 0,5	24,00 ± 0,5	18,17 ± 0,29
Konsentrasi 4%		19	18	17,5
		18,5	18	17
		18,5	18,5	18,5
	Rata-rata/SD	31,50 ± 0,5	23,33 ± 1,26	17,67 ± 0,76

**Lampiran 19. Uji statistik Kolmogorov-Smirnov, analisis two way anova viskositas *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut**

**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Viskositas	27	24,574	5,6987	17,0	32,5

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		Viskositas
N		27
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	24,574
	Std. Deviation	5,6987
Most Extreme Differences	Absolute	,204
	Positive	,172
	Negative	-,204
Kolmogorov-Smirnov Z		1,058
Asymp. Sig. (2-tailed)		,213

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

**Univariate Analysis of Variance**

**Between-Subjects Factors**

		Value Label	N
Formulasi	1	MINYAK ATSIRI 1%	9
	2	MINYAK ATSIRI 2%	9
	3	MINYAK ATSIRI 4%	9
Waktu	1	hari ke-0	9
	2	hari ke-1	9
	3	hari ke-21	9

**Descriptive Statistics**

Dependent Variable: Viskositas

Formulasi	Waktu	Mean	Std. Deviation	N
MINYAK ATSIRI 1%	hari ke-0	31,667	,2887	3
	hari ke-1	32,000	,5000	3
	hari ke-21	31,500	,5000	3
	Total	31,722	,4410	9
MINYAK ATSIRI 2%	hari ke-0	24,167	,5774	3
	hari ke-1	24,000	,5000	3
	hari ke-21	23,333	1,2583	3
	Total	23,833	,8292	9
MINYAK ATSIRI 4%	hari ke-0	18,667	,2887	3
	hari ke-1	18,167	,2887	3
	hari ke-21	17,667	,7638	3
	Total	18,167	,6124	9
Total	hari ke-0	24,833	5,6624	9
	hari ke-1	24,722	6,0266	9
	hari ke-21	24,167	6,0725	9
	Total	24,574	5,6987	27



**Levene's Test of Equality of Error Variances<sup>a</sup>**

Dependent Variable: Viskositas

F	df1	df2	Sig.
1,511	8	18	,222

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

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

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: Viskositas

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	837,352 <sup>a</sup>	8	104,669	269,149	,000	,992
Intercept	16304,898	1	16304,898	41926,881	,000	1,000
Formulasi	834,296	2	417,148	1072,667	,000	,992
Waktu	2,296	2	1,148	2,952	,078	,247
Formulasi * Waktu	,759	4	,190	,488	,744	,098
Error	7,000	18	,389			
Total	17149,250	27				
Corrected Total	844,352	26				

a. R Squared = ,992 (Adjusted R Squared = ,988)

**Post Hoc Tests****Homogeneous Subsets****Viskositas**Tukey HSD<sup>a,b</sup>

Formulasi	N	Subset		
		1	2	3
MINYAK ATSIRI 4%	9	18,167		
MINYAK ATSIRI 2%	9		23,833	
MINYAK ATSIRI 1%	9			31,722
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) = ,389.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9,000.

b. Alpha = ,05.

**Viskositas**Tukey HSD<sup>a,b</sup>

Waktu	N	Subset
		1
hari ke-21	9	24,167
hari ke-1	9	24,722
hari ke-0	9	24,833
Sig.		,087

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,389.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9,000.

b. Alpha = ,05.

**Lampiran 20. Hasil uji pH stabilitas *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut**

FORMULA		pH formulasi	
		HARI KE 0	HARI KE-20
Konsentrasi 1%		6,26	6,3
		6,25	6,33
		6,28	6,31
	Rata-rata/SD	6,26 ±0,015	6,31 ± 0,015
Konsentrasi 2%		6,17	6,25
		6,17	6,28
		6,15	6,24
	Rata-rata/SD	6,16±0,0115	6,25±0,02
Konsentrasi 4%		5,98	6,19
		6,02	6,26
		5,96	6,23
	Rata-rata/SD	5,98±0,0305	6,22±0,035

**Lampiran 21. Uji statistik Kolmogorov-Smirnov, analisis two way anova pH stabilitas *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut**

**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
pH	18	6,1928	,11060	5,96	6,33

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

			pH
N			18
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean		6,1928
	Std. Deviation		,11060
	Most Extreme Differences	Absolute	,183
	Positive	,108	
	Negative	-,183	
Kolmogorov-Smirnov Z			,776
Asymp. Sig. (2-tailed)			,584

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

**Univariate Analysis of Variance**

**Between-Subjects Factors**

		Value Label	N
Formulasi	1	MINYAK ATSIRI 1%	6
	2	MINYAK ATSIRI 2%	6
	3	MINYAK ATSIRI 4%	6
Waktu	1	hari ke-0	9
	2	hari ke-20	9

**Descriptive Statistics**

Dependent Variable:pH

Formulasi	Waktu	Mean	Std. Deviation	N
MINYAK ATSIRI 1%	hari ke-0	6,2633	,01528	3
	hari ke-20	6,3133	,01528	3
	Total	6,2883	,03061	6
MINYAK ATSIRI 2%	hari ke-0	6,1633	,01155	3
	hari ke-20	6,2567	,02082	3
	Total	6,2100	,05329	6
MINYAK ATSIRI 4%	hari ke-0	5,9867	,03055	3
	hari ke-20	6,1733	,03215	3
	Total	6,0800	,10602	6
Total	hari ke-0	6,1378	,12266	9
	hari ke-20	6,2478	,06438	9
	Total	6,1928	,11060	18

### Levene's Test of Equality of Error Variances<sup>a</sup>

Dependent Variable:pH

F	df1	df2	Sig.
1,461	5	12	,273

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

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

### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:pH

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	,202 <sup>a</sup>	5	,040	80,784	,000	,971
Intercept	690,309	1	690,309	1380617,878	,000	1,000
Formulasi	,133	2	,066	132,878	,000	,957
Waktu	,054	1	,054	108,900	,000	,901
Formulasi * Waktu	,015	2	,007	14,633	,001	,709
Error	,006	12	,000			
Total	690,517	18				
Corrected Total	,208	17				

a. R Squared = ,971 (Adjusted R Squared = ,959)

## Post Hoc Tests

### Homogeneous Subsets

pH

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

Formulasi	N	Subset		
		1	2	3
MINYAK ATSIRI 4%	6	6,0800		
MINYAK ATSIRI 2%	6		6,2100	
MINYAK ATSIRI 1%	6			6,2883
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 22. Hasil uji viskositas stabilitas *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut**

FORMULA		Viskositas formulasi	
		HARI KE 0	HARI KE-20
Konsentrasi 1%		31,5	29,5
		32	30,5
		31,5	29
	Rata-rata/SD	31,67 ± 0,29	29,67 ± 0,76
Konsentrasi 2%		24,5	22,5
		24,5	21,5
		23,5	22
	Rata-rata/SD	32,00 ± 0,5	22 ± 0,5
Konsentrasi 4%		19	16,5
		18,5	16
		18,5	16,5
	Rata-rata/SD	31,50 ± 0,5	16,33 ± 0,29

**Lampiran 23. Uji statistik Kolmogorov-Smirnov, analisis two way anova viskositas stabilitas *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut**

**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Viskositas	18	23,778	5,7066	16,0	32,0

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		Viskositas
N		18
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	23,778
	Std. Deviation	5,7066
Most Extreme Differences	Absolute	,175
	Positive	,132
	Negative	-,175
Kolmogorov-Smirnov Z		,744
Asymp. Sig. (2-tailed)		,637

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

**Univariate Analysis of Variance**

**Between-Subjects Factors**

		Value Label	N
Formulasi	1	MINYAK ATSIRI 1%	6
	2	MINYAK ATSIRI 2%	6
	3	MINYAK ATSIRI 4%	6
Waktu	1	hari ke-0	9
	2	hari ke-20	9

**Descriptive Statistics**

Dependent Variable: Viskositas

Formulasi	Waktu	Mean	Std. Deviation	N
MINYAK ATSIRI 1%	hari ke-0	31,667	,2887	3
	hari ke-20	29,833	,5774	3
	Total	30,750	1,0840	6
MINYAK ATSIRI 2%	hari ke-0	24,167	,5774	3
	hari ke-20	22,000	,5000	3
	Total	23,083	1,2813	6
MINYAK ATSIRI 4%	hari ke-0	18,667	,2887	3
	hari ke-20	16,333	,2887	3
	Total	17,500	1,3038	6
Total	hari ke-0	24,833	5,6624	9
	hari ke-20	22,722	5,8849	9
	Total	23,778	5,7066	18

**Levene's Test of Equality of Error Variances<sup>a</sup>**

Dependent Variable:Viskositas

F	df1	df2	Sig.
1,160	5	12	,383

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

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

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable:Viskositas

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	551,278 <sup>a</sup>	5	110,256	567,029	,000	,996
Intercept	10176,889	1	10176,889	52338,286	,000	1,000
Formulasi	531,028	2	265,514	1365,500	,000	,996
Waktu	20,056	1	20,056	103,143	,000	,896
Formulasi * Waktu	,194	2	,097	,500	,619	,077
Error	2,333	12	,194			
Total	10730,500	18				
Corrected Total	553,611	17				

a. R Squared = ,996 (Adjusted R Squared = ,994)

**Post Hoc Tests****Homogeneous Subsets****Viskositas**Tukey HSD<sup>a,b</sup>

Formulasi	N	Subset		
		1	2	3
MINYAK ATSIRI 4%	6	17,500		
MINYAK ATSIRI 2%	6		23,083	
MINYAK ATSIRI 1%	6			30,750
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) = ,194.

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

b. Alpha = ,05.

**Lampiran 24. Data pola penyemprotan *spray gel***

FORMULASI		DIAMETER PENYEMPROTAN			
		3 CM	5 CM	10 CM	15 CM
Negatif		4,5	7,8	11	14,4
		4,5	8	11,2	14,5
		4,6	7,8	11,1	14,4
	Rata-rata / SD	4,53/0,058	7,87/0,115	11,1/0,1	14,43/0,058
Konsentrasi 1%		4	7,2	10,8	14,2
		4,2	7,1	10,7	14,3
		4,1	7,2	10,8	14,3
	Rata-rata / SD	4,1/0,1	7,16/0,058	10,77/0,058	14,27/0,058
Konsentrasi 2%		4,5	8	11,9	15
		4,3	7,3	11,9	15,2
		4,4	7,8	11,8	15,1
	Rata-rata / SD	4,4/0,1	7,7/0,36	11,87/0,058	15,1/0,1
Konsentrasi 4%		5	8,5	12	15,5
		5,2	8,3	12	15,2
		5,1	8,5	12,6	15,6
	Rata-rata / SD	5,1/0,1	8,43/0,115	12,2/0,347	15,43/0,208
Positif		5	9	13	16
		5,4	9	12,5	16,1
		5,4	9,1	13,1	16
	Rata-rata / SD	5,27/0,23	9,03/0,058	12,87/0,32	16,03/0,058



**Lampiran 25. Uji statistik kolmogorov-Smirnov, analisis twoway anova  
diameter semprot *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut**

**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
diameter	60	9,883	3,9827	4,0	16,1

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

			Diameter
N			60
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean		9,883
	Std. Deviation		3,9827
Most Extreme Differences	Absolute		,120
	Positive		,120
	Negative		-,111
Kolmogorov-Smirnov Z			,928
Asymp. Sig. (2-tailed)			,355

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

**Univariate Analysis of Variance  
Between-Subjects Factors**

		Value Label	N
Formula	1	NEGATIF	12
	2	MINYAK ATSIRI 1%	12
	3	MINYAK ATSIRI 2%	12
	4	MINYAK ATSIRI 4%	12
	5	POSITIF	12
jarak	1	3 cm	15
	2	5 cm	15
	3	10 cm	15
	4	15 cm	15

### Descriptive Statistics

Dependent Variable: diameter

Formula	jarak	Mean	Std. Deviation	N
NEGATIF	3 cm	4,533	,0577	3
	5 cm	7,867	,1155	3
	10 cm	11,100	,1000	3
	15 cm	14,433	,0577	3
	Total	9,483	3,8466	12
MINYAK ATSIRI 1%	3 cm	4,100	,1000	3
	5 cm	7,167	,0577	3
	10 cm	10,767	,0577	3
	15 cm	14,267	,0577	3
	Total	9,075	3,9848	12
MINYAK ATSIRI 2%	3 cm	4,400	,1000	3
	5 cm	7,700	,3606	3
	10 cm	11,867	,0577	3
	15 cm	15,100	,1000	3
	Total	9,767	4,2436	12
MINYAK ATSIRI 4%	3 cm	5,100	,1000	3
	5 cm	8,433	,1155	3
	10 cm	12,200	,3464	3
	15 cm	15,433	,2082	3
	Total	10,292	4,0657	12
POSITIF	3 cm	5,267	,2309	3
	5 cm	9,033	,0577	3
	10 cm	12,867	,3215	3
	15 cm	16,033	,0577	3
	Total	10,800	4,2268	12
Total	3 cm	4,680	,4663	15
	5 cm	8,040	,6801	15
	10 cm	11,760	,8034	15
	15 cm	15,053	,6791	15
	Total	9,883	3,9827	60

### Levene's Test of Equality of Error Variances<sup>a</sup>

Dependent Variable: diameter

F	df1	df2	Sig.
4,264	19	40	,000

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

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

### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: diameter

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	934,757 <sup>a</sup>	19	49,198	1778,231	,000	,999
Intercept	5860,817	1	5860,817	211836,747	,000	1,000
Formula	22,008	4	5,502	198,870	,000	,952
jarak	910,850	3	303,617	10974,096	,000	,999
Formula * jarak	1,898	12	,158	5,718	,000	,632
Error	1,107	40	,028			
Total	6796,680	60				
Corrected Total	935,863	59				

a. R Squared = ,999 (Adjusted R Squared = ,998)

## Post Hoc Tests

### Homogeneous Subsets

		Diameter					
Formula		N	Subset				
			1	2	3	4	5
Tukey HSD <sup>a,b</sup>	MINYAK ATSIRI 1%	12	9,075				
	NEGATIF	12		9,483			
	MINYAK ATSIRI 2%	12			9,767		
	MINYAK ATSIRI 4%	12				10,292	
	POSITIF	12					10,800
	Sig.			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) = ,028.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12,000.

b. Alpha = ,05.

## Jarak Penyemprotan

### Homogeneous Subsets

		Diameter				
jarak		N	Subset			
			1	2	3	4
Tukey HSD <sup>a,b</sup>	3 cm	15	4,680			
	5 cm	15		8,040		
	10 cm	15			11,760	
	15 cm	15				15,053
	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) = ,028.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15,000.

b. Alpha = ,05.

**Lampiran 26. Data pengukuran daya sebar sediaan *spray gel***

Formula	Beban (g)	Diameter penyebaran (cm± SD)		
		Hari ke-0	Hari ke-1	Hari ke-21
Formula I	63,023	3,06 ± 0,06	3,13 ± 0,05	3,2 ± 0,10
	113,023	3,43 ± 0,15	3,47 ± 0,05	3,5 ± 0,26
	163,023	3,90 ± 0,10	4,00 ± 0,10	3,9 ± 0,26
	213,023	4,13 ± 0,15	4,17 ± 0,06	4,27 ± 0,15
	263,023	4,53 ± 0,15	4,46 ± 0,20	4,67 ± 0,15
Formula II	63,023	3,24 ± 0,05	3,30 ± 0,1	3,37 ± 0,05
	113,023	3,70 ± 0,10	3,70 ± 0,1	3,86 ± 0,15
	163,023	4,17 ± 0,25	4,13 ± 0,25	4,23 ± 0,05
	213,023	4,47 ± 0,15	4,53 ± 0,15	4,4 ± 0,1
	263,023	5,00 ± 0,26	4,97 ± 0,37	5,00 ± 0,1
Formula III	63,023	3,47 ± 0,11	3,5 ± 0,10	3,56 ± 0,15
	113,023	4,00 ± 0,10	4,03 ± 0,11	4,06 ± 0,06
	163,023	4,43 ± 0,15	4,36 ± 0,21	4,53 ± 0,25
	213,023	4,77 ± 0,05	4,77 ± 0,15	4,97 ± 0,06
	263,023	5,20 ± 0,10	5,27 ± 0,20	5,43 ± 0,21

**Lampiran 27. Uji statistik kolmogorov-Smirnov, analisis twoway anova daya sebar *spray gel* minyak atsiri daun jeruk purut**

**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
DAYA SEBAR	135	4,142	,6360	3,0	5,6

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

			DAYA SEBAR
N			135
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean		4,142
	Std. Deviation		,6360
	Most Extreme Differences	Absolute	
Positive			,071
Negative			-,054
Kolmogorov-Smirnov Z			,825
Asymp. Sig. (2-tailed)			,505

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

**Univariate Analysis of Variance**

**Between-Subjects Factors**

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

## Descriptive Statistics

Dependent Variable:DAYA SEBAR

Formulasi	Beban	Mean	Std. Deviation	N
Minyak atsiri 1% Hari ke-0	Tanpa beban	3,067	,0577	3
	50 Kg	3,433	,1528	3
	100 Kg	3,900	,1000	3
	150 Kg	4,133	,1528	3
	200 Kg	4,533	,1528	3
	Total	3,813	,5449	15
Minyak atsiri 1% Hari ke-1	Tanpa beban	3,133	,0577	3
	50 Kg	3,467	,0577	3
	100 Kg	4,000	,1000	3
	150 Kg	4,167	,0577	3
	200 Kg	4,467	,2082	3
	Total	3,847	,5083	15
Minyak atsiri 1% Hari ke-21	Tanpa beban	3,200	,1000	3
	50 Kg	3,500	,2646	3
	100 Kg	3,900	,2646	3
	150 Kg	4,267	,1528	3
	200 Kg	4,667	,1528	3
	Total	3,907	,5675	15
Minyak atsiri 2% Hari ke-0	Tanpa beban	3,233	,0577	3
	50 Kg	3,700	,1000	3
	100 Kg	4,167	,2517	3
	150 Kg	4,467	,1528	3
	200 Kg	5,000	,2646	3
	Total	4,113	,6501	15
Minyak atsiri 2% Hari ke-1	Tanpa beban	3,300	,1000	3
	50 Kg	3,700	,1000	3
	100 Kg	4,133	,2517	3
	150 Kg	4,533	,1528	3
	200 Kg	4,967	,3786	3
	Total	4,127	,6386	15
Minyak atsiri 2% Hari ke-21	Tanpa beban	3,367	,0577	3
	50 Kg	3,867	,1528	3
	100 Kg	4,233	,0577	3
	150 Kg	4,500	,1000	3
	200 Kg	5,000	,1000	3
	Total	4,193	,5800	15
Minyak atsiri 4% Hari ke-0	Tanpa beban	3,467	,1155	3
	50 Kg	4,000	,1000	3
	100 Kg	4,400	,1000	3
	150 Kg	4,767	,0577	3
	200 Kg	5,133	,0577	3
	Total	4,353	,6069	15
Minyak atsiri 4% Hari ke-1	Tanpa beban	3,500	,1000	3
	50 Kg	4,033	,1155	3
	100 Kg	4,367	,2082	3
	150 Kg	4,767	,1528	3
	200 Kg	5,267	,2082	3
	Total	4,387	,6413	15
Minyak atsiri 2% Hari ke-21	Tanpa beban	3,567	,1528	3
	50 Kg	4,067	,0577	3
	100 Kg	4,633	,3055	3
	150 Kg	5,000	,1000	3
	200 Kg	5,433	,2082	3

	Total	4,540	,7029	15
Total	Tanpa beban	3,315	,1834	27
	50 Kg	3,752	,2666	27
	100 Kg	4,193	,2895	27
	150 Kg	4,511	,3017	27
	200 Kg	4,941	,3608	27
	Total	4,142	,6360	135

#### Levene's Test of Equality of Error Variances<sup>a</sup>

Dependent Variable:DAYA SEBAR

F	df1	df2	Sig.
2,077	44	90	,002

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

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

#### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:DAYA SEBAR

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	51,889 <sup>a</sup>	44	1,179	45,749	,000	,957
Intercept	2316,331	1	2316,331	89857,655	,000	,999
Formulasi	7,759	8	,970	37,623	,000	,770
Beban	43,557	4	10,889	422,432	,000	,949
Formulasi * Beban	,573	32	,018	,695	,877	,198
Error	2,320	90	,026			
Total	2370,540	135				
Corrected Total	54,209	134				

a. R Squared = ,957 (Adjusted R Squared = ,936)

## Post Hoc Tests

### Homogeneous Subsets

#### DAYA SEBAR

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

Formulasi	N	Subset				
		1	2	3	4	5
Minyak atsiri 1% Hari ke-0	15	3,813				
Minyak atsiri 1% Hari ke-1	15	3,847				
Minyak atsiri 1% Hari ke-21	15	3,907				
Minyak atsiri 2% Hari ke-0	15		4,113			
Minyak atsiri 2% Hari ke-1	15		4,127			
Minyak atsiri 2% Hari ke-21	15		4,193	4,193		
Minyak atsiri 4% Hari ke-0	15			4,353	4,353	
Minyak atsiri 4% Hari ke-1	15				4,387	4,387
Minyak atsiri 2% Hari ke-21	15					4,540
Sig.		,807	,908	,153	1,000	,195

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 = 15,000.

b. Alpha = ,05.

### Homogeneous Subsets

#### DAYA SEBAR

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

Beban	N	Subset				
		1	2	3	4	5
Tanpa beban	27	3,315				
50 Kg	27		3,752			
100 Kg	27			4,185		
150 Kg	27				4,496	
200 Kg	27					4,948
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

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

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 27,000.

b. Alpha = ,05.



**Lampiran 28. Data koloni bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada punggung kelinci**

Kelinci	Hari	Jumlah Koloni					
		N	(-)	Konsentrasi 1%	Konsentrasi 2%	Konsentrasi 4%	(+)
<b>1</b>	1	32	150	142	149	153	151
	3	36	144	129	134	134	131
	5	31	128	105	110	106	107
	7	22	107	79	80	73	76
	9	32	104	71	71	59	63
	11	34	93	57	54	41	43
	13	32	75	41	39	36	37
	15	24	48	29	22	25	27
	<b>2</b>	1	34	124	136	132	130
3		17	98	102	96	89	93
5		31	101	99	91	78	84
7		21	83	73	62	43	53
9		27	76	62	50	41	42
11		26	66	43	35	30	32
13		23	51	31	27	25	26
15		19	40	17	21	22	21
<b>3</b>	1	27	129	135	133	137	132
	3	25	117	116	112	114	109
	5	28	109	102	96	95	90
	7	30	99	87	79	77	71
	9	31	89	70	62	55	51
	11	23	69	44	37	34	34
	13	28	61	36	33	32	31
	15	24	49	26	27	25	27
<b>4</b>	1	23	119	126	129	127	125
	3	25	113	111	114	104	106
	5	29	107	98	100	84	88
	7	24	91	76	76	55	62
	9	23	77	62	58	37	39
	11	25	68	49	43	33	34
	13	26	56	37	33	28	29
	15	21	44	27	24	24	24
<b>5</b>	1	28	142	132	138	140	135
	3	30	135	120	126	117	116
	5	21	117	98	99	84	85
	7	31	115	94	92	70	73
	9	33	95	70	67	40	45
	11	29	90	63	56	41	43
	13	28	60	46	39	32	34
	15	24	58	28	31	27	25

**Lampiran 29. Uji statistik kolmogorov-Smirnov, analisis twoway anova jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
JUMLAH KOLONI	175	55,28	34,948	2	121

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		JUMLAH KOLONI
N		175
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	55,28
	Std. Deviation	34,948
Most Extreme Differences	Absolute	,085
	Positive	,085
	Negative	-,069
Kolmogorov-Smirnov Z		1,125
Asymp. Sig. (2-tailed)		,159

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

**Univariate Analysis of Variance**

**Between-Subjects Factors**

		Value Label	N
Formula	1	NEGATIF	35
	2	MINYAK ATSIRI 1%	35
	3	MINYAK ATSIRI 2%	35
	4	MINYAK ATSIRI 4%	35
	5	POSITIF	35
Waktu	1	H 1	25
	2	H 3	25
	3	H 5	25
	4	H 7	25
	5	H 9	25
	6	H 11	25
	7	H 13	25

### Descriptive Statistics

Dependent Variable:JUMLAH KOLONI

Formula	Waktu	Mean	Std. Deviation	N
NEGATIF	H 1	104,00	11,832	5
	H 3	94,80	11,432	5
	H 5	84,40	11,760	5
	H 7	73,40	10,455	5
	H 9	61,20	10,803	5
	H 11	49,80	9,576	5
	H 13	35,80	7,727	5
	Total	71,91	24,996	35
MINYAK ATSIRI 1%	H 1	105,40	3,435	5
	H 3	89,00	3,391	5
	H 5	72,40	3,782	5
	H 7	56,20	4,550	5
	H 9	40,00	4,796	5
	H 11	23,80	6,301	5
	H 13	10,80	4,207	5
	Total	56,80	32,631	35
MINYAK ATSIRI 2%	H 1	107,40	6,914	5
	H 3	89,80	7,596	5
	H 5	71,20	7,791	5
	H 7	52,20	7,855	5
	H 9	34,60	8,295	5
	H 11	17,60	6,731	5
	H 13	6,80	2,683	5
	Total	54,23	35,646	35
MINYAK ATSIRI 4%	H 1	108,60	9,317	5
	H 3	85,00	9,925	5
	H 5	61,40	10,807	5
	H 7	38,00	11,790	5
	H 9	19,80	6,340	5
	H 11	8,60	3,435	5
	H 13	3,20	1,095	5
	Total	46,37	38,449	35
POSITIF	H 1	106,20	7,918	5
	H 3	84,40	7,021	5
	H 5	62,80	8,468	5
	H 7	41,40	8,050	5
	H 9	21,00	6,442	5
	H 11	9,80	2,950	5
	H 13	4,00	1,414	5
	Total	47,09	37,049	35
Total	H 1	106,32	7,798	25
	H 3	88,60	8,524	25
	H 5	70,44	11,733	25
	H 7	52,24	15,139	25
	H 9	35,32	16,896	25
	H 11	21,92	16,340	25
	H 13	12,12	12,963	25
	Total	55,28	34,948	175

### Levene's Test of Equality of Error Variances<sup>a</sup>

Dependent Variable:JUMLAH KOLONI

F	df1	df2	Sig.
2,221	34	140	,001

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

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

### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:JUMLAH KOLONI

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	204234,080 <sup>a</sup>	34	6006,885	101,600	,000	,961
Intercept	534778,720	1	534778,720	9045,211	,000	,985
Formula	14931,851	4	3732,963	63,139	,000	,643
Waktu	183211,200	6	30535,200	516,470	,000	,957
Formula * Waktu	6091,029	24	253,793	4,293	,000	,424
Error	8277,200	140	59,123			
Total	747290,000	175				
Corrected Total	212511,280	174				

a. R Squared = ,961 (Adjusted R Squared = ,952)

## Estimated Marginal Means

### 1. Formula

Dependent Variable:JUMLAH KOLONI

Formula	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
NEGATIF	71,914	1,300	69,345	74,484
MINYAK ATSIRI 1%	56,800	1,300	54,230	59,370
MINYAK ATSIRI 2%	54,229	1,300	51,659	56,798
MINYAK ATSIRI 4%	46,371	1,300	43,802	48,941
POSITIF	47,086	1,300	44,516	49,655

### 2. Waktu

Dependent Variable:JUMLAH KOLONI

Waktu	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
H 1	106,320	1,538	103,280	109,360
H 3	88,600	1,538	85,560	91,640
H 5	70,440	1,538	67,400	73,480
H 7	52,240	1,538	49,200	55,280
H 9	35,320	1,538	32,280	38,360
H 11	21,920	1,538	18,880	24,960
H 13	12,120	1,538	9,080	15,160

## 3. Formula \* Waktu

Dependent Variable:JUMLAH KOLONI

Formula	Waktu	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
NEGATIF	H 1	104,000	3,439	97,202	110,798
	H 3	94,800	3,439	88,002	101,598
	H 5	84,400	3,439	77,602	91,198
	H 7	73,400	3,439	66,602	80,198
	H 9	61,200	3,439	54,402	67,998
	H 11	49,800	3,439	43,002	56,598
	H 13	35,800	3,439	29,002	42,598
MINYAK ATSIRI 1%	H 1	105,400	3,439	98,602	112,198
	H 3	89,000	3,439	82,202	95,798
	H 5	72,400	3,439	65,602	79,198
	H 7	56,200	3,439	49,402	62,998
	H 9	40,000	3,439	33,202	46,798
	H 11	23,800	3,439	17,002	30,598
	H 13	10,800	3,439	4,002	17,598
MINYAK ATSIRI 2%	H 1	107,400	3,439	100,602	114,198
	H 3	89,800	3,439	83,002	96,598
	H 5	71,200	3,439	64,402	77,998
	H 7	52,200	3,439	45,402	58,998
	H 9	34,600	3,439	27,802	41,398
	H 11	17,600	3,439	10,802	24,398
	H 13	6,800	3,439	,002	13,598
MINYAK ATSIRI 4%	H 1	108,600	3,439	101,802	115,398
	H 3	85,000	3,439	78,202	91,798
	H 5	61,400	3,439	54,602	68,198
	H 7	38,000	3,439	31,202	44,798
	H 9	19,800	3,439	13,002	26,598
	H 11	8,600	3,439	1,802	15,398
	H 13	3,200	3,439	-3,598	9,998
POSITIF	H 1	106,200	3,439	99,402	112,998
	H 3	84,400	3,439	77,602	91,198
	H 5	62,800	3,439	56,002	69,598
	H 7	41,400	3,439	34,602	48,198
	H 9	21,000	3,439	14,202	27,798
	H 11	9,800	3,439	3,002	16,598
	H 13	4,000	3,439	-2,798	10,798

## Post Hoc Test

### Homogeneous Subsets

#### JUMLAH KOLONI

Formula		N	Subset		
			1	2	3
Tukey HSD <sup>a,b</sup>	MINYAK ATSIRI 4%	35	46,37		
	POSITIF	35	47,09		
	MINYAK ATSIRI 2%	35		54,23	
	MINYAK ATSIRI 1%	35		56,80	
	NEGATIF	35			71,91
	Sig.			,995	,629

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 59,123.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 35,000.

b. Alpha = ,05.

### Homogeneous Subsets

#### JUMLAH KOLONI

	Waktu	N	Subset						
			1	2	3	4	5	6	7
Tukey HSD <sup>a,b</sup>	H 13	25	12,12						
	H 11	25		21,92					
	H 9	25			35,32				
	H 7	25				52,24			
	H 5	25					70,44		
	H 3	25						88,60	
	H 1	25							106,32
	Sig.			1,000	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) = 59,123.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 25,000.

b. Alpha = ,05.

### Lampiran 30. Komposisi media

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

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

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

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

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

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