

BAB IV
HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Determinasi tanaman rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. *rubrum* Theilade).

Determinasi merupakan langkah awal yang harus dilakukan sebelum bahan tanaman untuk penelitian. Determinasi tanaman dimaksudkan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang diambil, menyesuaikan morfologi tanaman dan bertujuan untuk menghindari kesalahan pengumpulan tanaman yang akan digunakan untuk penelitian. Determinasi dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Sebelas Maret Surakarta. Hasil kunci determinasi tanaman menurut C.A Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963 : 1968) sebagai berikut :

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-
27a-28b-29b-30b-31a-32a-33a-34a-35a-36d-37b-38b-39b-41b-42b-44b-
45b-46e-50b-51b-53b-54b-56b-57b-58b-59d-72b-73b-74a-75b-76b-333b-
334b-335b-336a-337b-338a-339b-340a_____ **207. Zingiberaceae**
1a-2b-6a_____ **1. *Zingiber***
1a-2b-6a-7a_____ ***Zingiber officinale* var. *rubrum***
Theilade

Hasil determinasi tanaman dapat dilihat pada Lampiran 1.

2. Pemilihan rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. *rubrum* Theilade).

Rimpang jahe merah yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari petani Tawangmangu, Karanganyar, Jawa tengah dalam keadaan masih segar. Pengambilan rimpang jahe merah pada 25 febuari 2019 sebanyak 60 kg. Rimpang jahe merah segar yang telah disortir dari batang sehingga didapat

rimpang, kemudian di cuci dari kotoran tanah dengan menggunakan air mengalir untuk menghilangkan kotoran dan zat lain yang tidak dibutuhkan. Bobot rimpang yang digunakan dalam penelitian ini 60 kg rimpang.

3. Isolasi minyak atsiri rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. *rubrum* Theilade).

Rimpang jahe merah disortir dan dicuci dengan menggunakan air mengalir agar kotoran yang menempel pada rimpang jahe merah menghilang. Kemudian rimpang jahe merah dipotong menjadi lebih kecil, dimasukkan kedalam alat penyulingan minyak dan air yang menyerupai dandang dengan penyangga berlubang yang telah berisi air. Penyulingan dilakukan diatas api sampai air mendidih. Uap air yang dihasilkan dialirkan pada pipa kebagian kondensor dan mengalami proses kondensasi, bersama dengan uap air tersebut minyak atsiri dari rimpang jahe merah terbawa. Penyulingan minyak atsiri jahe merah dilakukan selama 5-6 jam untuk setiap 1 sampel yang berisi 10 kg rimpang jahe merah. Pemanasan dilakukan dengan api sampai penyulingan dihentikan setelah tidak ada penambahan minyak atau tetesan minyak atsiri, kemudian tampung hasil destilat dan jumlah volume yang dihasilkan.

Minyak yang didapat kemudian dilakukan pemisahan antara fase air dan fase minyak menggunakan corong pisah dengan penambahan natrium sulfat anhidrat sampai jenuh kemudian dipisahkan dan hitung kadarnya. Minyak atsiri rimpang jahe merah yang sudah didapat disimpan dalam botol kaca coklat, tertutup rapat, dan di tempat yang sejuk dengan suhu berkisar antara 8-15°C. Hal ini dilakukan untuk menghindari minyak atsiri yang memiliki sifat mudah menguap, mudah rusak karena suhu dan teroksidasi. Hasil penyulingan minyak atsiri rimpang jahe merah dapat dilihat pada Tabel 3 dan perhitungan randemen pada Lampiran 8.

Tabel 1. Hasil penyulingan minyak atsiri rimpang jahe merah

Sampel	Berat sampel (g)	Volume minyak atsiri (ml)
Rimpang jahe merah	10.000 gram	7 ml
	10.000 gram	12 ml
	10.000 gram	9 ml
	10.000 gram	10,2 ml
	10.000 gram	8,4 ml
	10.000 gram	9 ml
Jumlah	60 kg	55,6 ml

Hasil penyulingan minyak atsiri yang didapatkan yaitu 55,6 ml dengan berat sampel 50 kg rimpang jahe merah mendapatkan rendemen 0,096%. Hasil penyulingan minyak atsiri rimpang jahe merah yang diperoleh banyak atau sedikitnya minyak atsiri tergantung dari umur tanaman jahe, semakin muda umur tanaman rimpang jahe maka menghasilkan jumlah minyak atsiri lebih sedikit.

4. Analisis minyak atsiri rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. *rubrum* Theilade).

4.1. Pengamatan organoleptis. Pemeriksaan organoleptis minyak atsiri rimpang jahe merah berupa pemeriksaan bentuk, warna, bau, dan rasa dari minyak atsiri rimpang jahe merah. Hasil pemeriksaan organoleptis minyak atsiri rimpang jahe merah dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 2. Pemeriksaan organoleptis minyak atsiri rimpang jahe merah

Jenis pemeriksaan	Hasil
Bentuk	Cair
Warna	Orange
Bau	Khas
Rasa	Pedas

4.2. Identifikasi minyak atsiri. Pemeriksaan identifikasi minyak atsiri rimpang jahe merah berupa pemeriksaan minyak atsiri yang ditetaskan pada permukaan air dan ditetaskan pada kertas saring. Hasil pemeriksaan identifikasi minyak atsiri rimpang jahe merah dapat dilihat pada Tabel 5 dan hasil uji identifikasi minyak atsiri pada Lampiran 4.

Tabel 3. Pemeriksaan identifikasi minyak atsiri rimpang jahe merah

Jenis pemeriksaan	Hasil	Pustaka (Gunawan & Mulyani 2004)
Diteteskan pada permukaan air	Menyebar dan tidak keruh	Menyebar dan tidak keruh
Diteteskan pada kertas saring	Menguap dan tidak meninggalkan noda lemak	Menguap dan tidak meninggalkan noda lemak

Hasil pengamatan identifikasi minyak atsiri untuk melihat kemurniaan minyak atsiri yang didapatkan, dilakukan dengan cara diteteskan pada permukaan air dan pada kertas saring. Penelitian ini didapatkan hasil dengan uji diteteskan pada permukaan air dan kertas saring memiliki hasil yang sama dengan penelitian menurut (Gunawan & Mulyani 2004). Hasil pengamatan identifikasi minyak atsiri dapat dilihat pada Lampiran 4.

4.3. Penetapan indeks bias minyak atsiri. Pemeriksaan penetapan indeks bias minyak atsiri rimpang jahe merah menggunakan alat refraktrometer dan diulangi sebanyak 3 kali. Refraktrometer diatur sehingga garis dan skala tampak jelas, dan batas gelap dan terang garis disesuaikan. Hasil penetapan indeks bias minyak atsiri rimpang jahe merah dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 4. Penetapan indeks bias minyak atsiri rimpang jahe merah

Sampel	Hasil	Persyaratan SNI
Minyak atsiri Jahe merah	1,485	1,4853 - 1,4920
	1,491	
	1,492	
Rata-rata	1,48933	Kesimpulan = masuk range (1,4853-1,4920)

Indeks bias dari hasil destilasi uap air menunjukkan bahwa indeks bias yang didapatkan adalah 1,48933. Menunjukkan bahwa minyak atsiri rimpang jahe merah yang diuji memiliki kualitas minyak atsiri yang murni. Karena nilai indeks bias yang disyaratkan dalam Standar Nasional Indonesia (SNI) berkisar 1,4853 – 1,4920. Hasil yang didapatkan sesuai dengan kriteria yang diperkenankan SNI. Indeks bias minyak atsiri berhubungan dengan komponen-komponen senyawa yang terbaca dari hasil GC-MS minyak atsiri yang dihasilkan, dimana komponen

senyawa penyusun minyak atsiri yang memiliki berat molekul yang tinggi dapat mempengaruhi nilai indek biasanya. Semakin banyak komponen senyawa berantai panjang seperti sesquiterpen atau komponen bergugus oksigen ikut tersuling, maka kerapatan medium minyak atsiri akan bertambah, sehingga cahaya yang datang akan lebih sukar untuk dibiaskan. Minyak atsiri dengan nilai indeks bias yang besar lebih bagus dibandingkan dengan nilai indeks bias yang kecil (Sastrohamidjojo 2004).

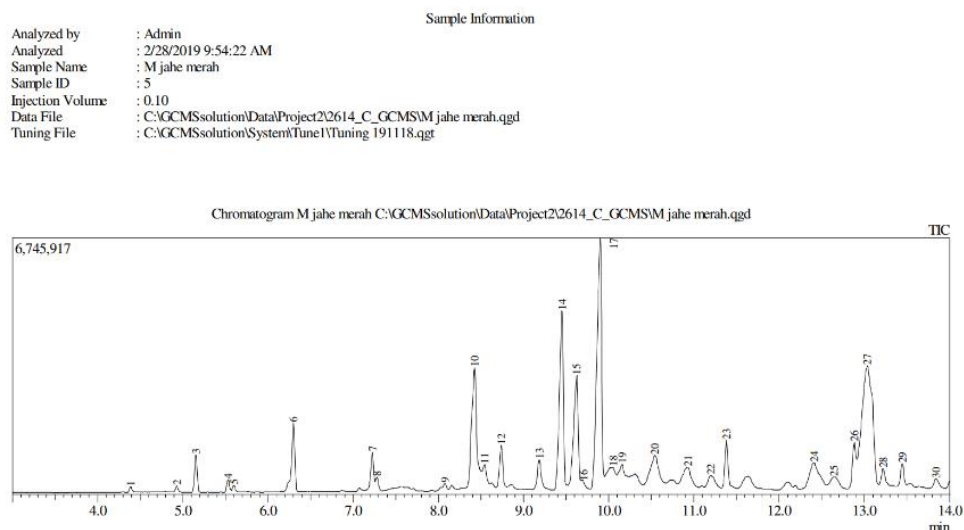
4.4. Penetapan bobot jenis minyak atsiri. Pemeriksaan penetapan bobot jenis minyak atsiri rimpang jahe merah menggunakan piknometer 5 ml. Kemudian piknometer dikeringkan dengan cara di oven dan ditimbang pikno kosong. Minyak atsiri rimpang jahe merah dituangkan kedalam piknometer lalu ditimbang dan catat hasil berat timbangan. Penimbangan diulangi sebanyak 3 kali, sehingga didapatkan hasil bobot jenis minyak atsiri rimpang jahe merah 0,874. Hasil bobot jenis minyak atsiri masuk dalam persyaratan Standar Nasional Indonesia (SNI) 0,872 – 0,889. Nilai bobot jenis minyak atsiri untuk menentukan kemurnian minyak atsiri dan didefinisikan sebagai perbandingan antara bobot minyak dengan bobot air pada volume air yang sama dengan volume minyak. Bobot jenis sering dihubungkan dengan fraksi berat komponen-komponen yang terkandung didalamnya. Semakin besar fraksi berat yang terkandung dalam minyak, maka semakin besar densitasnya (Sastrohamidjojo 2004). Hasil penetapan bobot jenis minyak atsiri rimpang jahe merah dapat dilihat pada Tabel 7 dan hasil perhitungan bobot jenis pada Lampiran 7.

Tabel 5. Penetapan bobot jenis minyak atsiri rimpang jahe merah

Sampel	Hasil Bobot Jenis	Persyaratan SNI
Minyak atsiri jahe merah	0,874	0,872 - 0,889

4.5. Hasil penetapan karakteristik komponen senyawa penyusun minyak atsiri dengan Gas Chromatography – Mass Spectrometry (GC-MS). Penetapan komponen senyawa minyak atsiri rimpang jahe merah menggunakan alat GC-MS tipe Shimadzu QP 2010 di kampus Universitas Islam Indonesia Yogyakarta. Gas Chromatography – Mass Spectrometry (GC-MS) merupakan alat yang digunakan untuk menganalisis senyawa berdasarkan pemisahan senyawa

volatil berdasarkan reaksi fragmentasinya, sehingga dapat digunakan jenis komponen – komponen dalam senyawa termasuk berat molekul, rumus molekul, dan golongan senyawa yang dimiliki. Sampel yang dapat diamati menggunakan alat GC-MS ini seperti sampel volatil, minyak atsiri, gas CO₂, dll. Dengan spesifikasi fase gerak yang digunakan adalah Helium, menggunakan detektor FID dan MS, kolom non polar Rtx-MS (5% diphenyl/95% dimethyl polysiloxane), kolom polar Carbowax (Polyethylene Glicol), dan menggunakan software *Library Wiley*. Hasil pengujian GC-MS minyak atsiri jahe merah dinyatakan dalam kromatogram GC Gambar 14, dan Lampiran 25. Kandungan macam-macam komponen senyawa minyak atsiri dari hasil MS dapat dilihat pada Tabel 8.



Gambar 1. Kromatogram minyak atsiri jahe merah

Tabel 6. Kandungan kimia senyawa minyak atsiri jahe merah

No. Peak	Rt (menit)	Area	Nama senyawa
1	4.387	268441	<i>2-Heptanol</i>
2	4.930	311321	<i>α-Pinene</i>
3	5.154	2061465	<i>Camphene</i>
4	5.532	727362	6-metil-5-hepten-2-one
5	5.599	357185	<i>β-myrcene</i>
6	6.299	4920022	1,8- <i>Cineol</i>
7	7.226	2361459	<i>Linalool</i>
8	7.280	727149	Trans-(+)- <i>Carveol</i>
9	8.078	262300	<i>Camphor</i>
10	8.425	12707223	<i>Borneol</i>
11	8.543	1515680	3- <i>Cyclohexen-1-ol</i>
12	8.738	2866816	3- <i>Cyclohexen-1-methanol</i>
13	9.183	2316142	<i>β-Citronellol</i>
14	9.452	15122262	2,6-octadienal
15	9.624	11320249	<i>Nerol</i>
16	9.705	548845	2- <i>Cyclohexen-1-ol</i>
17	9.900	24330583	<i>Citral</i>
18	10.049	2474650	<i>β-Guaiene</i>
19	10.156	1127544	<i>α-Fenchyl acetate</i>
20	10.540	4361351	<i>Patchhouli alcohol</i>
21	10.929	2544194	<i>Aristolenepoxide</i>
22	11.197	1621267	<i>Patchhouli alcohol</i>
23	11.382	3027233	<i>Neryl acetate</i>
24	12.413	4891414	<i>Allo-aromadendrene</i>
25	12.646	1839085	Androstan-17- <i>One</i>
26	12.884	3699743	<i>α-Curcumene</i>
27	13.035	27646737	<i>α-Copaene</i>
28	13.220	1429105	<i>β-Bisabolene</i>
29	13.445	1451593	<i>β-Sesquiphellandrene</i>
30	13.841	832158	Cyclohexane methanol

Hasil dari 30 senyawa komponen dari hasil MS pada tabel diatas, terdapat komponen senyawa kimia yang memiliki bobot molekul besar dalam kandungan minyak atsiri rimpang jahe merah adalah camphene, 1,8-cineol, borneol, 2,6-octadienal, nerol, citral, dan *α-Copaene* yang dilihat dari besarnya %area pada hasil GC. Hasil MS dapat dilihat pada Lampiran 26.

Komponen senyawa sebagai antibakteri pada minyak atsiri rimpang jahe merah adalah senyawa citral, senyawa camphene, nerol, borneol, dan α -zingeron. Senyawa terpenoid (α -Curcumene, dan β -Sesquiphellandrene) pada jahe berperan sebagai pemberi bau, karena memiliki bau yang spesifik sehingga dimanfaatkan sebagai pemberi aroma makan dan parfum. Golongan gugus fungsi hidroksil (OH) seperti nerol dan borneol yang bekerja sebagai antibakteri. Mekanisme minyak atsiri golongan alkohol menghambat pertumbuhan bakteri adalah dengan cara mendenaturasi protein. Diduga senyawa citral yang merupakan senyawa geraniol memiliki aktifitas antibakteri. Senyawa citral mampu mengganggu permeabilitas membran sel dan merusak serta mengacaukan permeabilitas dinding sel mikroba. Senyawa α -zingeron termasuk golongan fenol mampu mendenaturasi protein dimana senyawa ini berinteraksi dengan porin (protein transmembran) dan merusak membran sel yaitu rusaknya porin dengan cara melarutkan lemak yang terdapat di dinding sel karena senyawa ini mampu melakukan perpindahan dari fase cair ke fase lemak. Dengan rusaknya porin akan mengurangi permeabilitas dinding sel sehingga mengakibatkan kekurangan nutrisi dari pertumbuhan bakteri akan terhambat (Tita Rialita 2014)

5. Pengujian sifat fisik sediaan emulgel

5.1. Pemeriksaan Organoleptik. Pengujian organoleptis dilakukan dengan cara mendeskripsikan warna, bau dan konsentrasi dari sediaan emulgel. sediaan emulgel yang baik seharusnya memiliki warna yang menarik dan bau yang tidak mengganggu dan menyenangkan serta memiliki konsentrasi yang stabil sehingga dapat memberikan kenyamanan dalam penggunaan. Hasil uji organoleptis dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 7. Hasil uji organoleptis formula emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah

Pemeriksaan	Waktu	Kontrol (-)	Formula I	Formula II	Formula III
Warna	Hari ke-0	Putih	KO	KO	KO
	Hari ke-1	Putih	KO	KO	KO
	hari ke-20	Putih	KO	KO	O
Bau	Hari ke-0	Khas	Khas	Khas	Khas
	Hari ke-1	Khas	Khas	Khas	Khas
	hari ke-20	Khas	Khas	Khas	Khas
Konsistensi	Hari ke-0	++++	+++	+++	++
	Hari ke-1	++++	+++	+++	++
	hari ke-20	+++	++	++	+

Keterangan :

- KO : kuning orange
- O : orange
- Formula I : emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah 15%
- Formula II : emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah 20%
- Formula III : emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah 25%
- +
- ++ : konsistensi emulgel yang agak kental
- +++ : konsistensi emulgel yang kental
- ++++ : konsistensi emulgel yang lebih kental

Sediaan emulgel yang dihasilkan menunjukkan bahwa pada hari pertama setelah pembuatan minyak atsiri rimpang jahe merah memiliki bau khas rimpang jahe merah, bau minyak atsiri rimpang jahe merah bertahan sampai penyimpanan selama 20 hari. Bau yang khas pada rimpang jahe merah dikarenakan terdapat kandungan *zingiberen* dan *zingiberol*.

Perubahan warna pada sediaan emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah pada formulasi III, mengalami perubahan warna menjadi kuning gelap atau orange pada hari ke 20. Hal ini disebabkan karena minyak atsiri atau minyak eteris yang memiliki sifat yang tidak tahan terhadap cahaya matahari, sehingga pada senyawa oleoresin dari pembentuk warna kuning pada minyak atsiri jahe merah mengalami perubahan warna menjadi gelap atau orange, karena minyak atsiri dapat teroksidasi dan membentuk resin. Untuk mencegah terjadinya perubahan warna, maka disimpan pada kemasan yang gelap atau kemasan yang terlindung dari cahaya (Guenther 1990).

Konsistensi pada formulasi I dan II lebih kental dari pada formulasi III, hal ini disebabkan karena kandungan minyak atsiri rimpang jahe merah dalam setiap

formula berbeda-beda. Semakin besar kandungan minyak atsiri rimpang jahe merah yang digunakan, maka menghasilkan emulgel dengan konsistensi semakin encer. Formulasi III mengandung paling banyak minyak atsiri rimpang jahe merah yaitu 25 mg dalam 100 ml sediaan.

5.2. Uji Homogenitas. Sediaan emulgel diuji homogenitasnya dengan cara sejumlah tertentu sediaan dioleskan pada keping kaca preparat atau bahan transparan. Tujuan uji homogenitas sediaan untuk mengetahui apakah minyak atsiri rimpang jahe merah dibuat sediaan sudah homogen atau belum, hal ini penting dilakukan karena homogenitas pada sediaan sangat berpengaruh 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 uji homogenitas emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 8. Hasil uji homogenitas sediaan emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah dengan berbagai konsentrasi

Formula	Hari ke-0	Hari ke-1	hari ke-20
Kontrol (-)	Homogen	Homogen	Homogen
Formula I	Homogen	Homogen	Homogen
Formula II	Homogen	Homogen	Homogen
Formula III	Homogen	Homogen	Homogen

Keterangan :

Formula I : emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah 15%
 Formula II : emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah 20%
 Formula III : emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah 25%
 Kontrol (-) : basis gel tanpa zat aktif minyak atsiri

Hasil pengamatan terhadap homogenitas emulgel yang dilakukan dengan cara dioleskan pada sekeping kaca atau objek glass menunjukkan bahwa ketiga formula minyak atsiri rimpang jahe merah memiliki homogenitas yang baik dari hari pertama setelah pembuatan sampai hari ke-20 (*frreze thaw*), karena tidak ada partikel kecil yang terdapat di dalam sediaan serta tidak terdapat pembentukan sediaan emulgel yang masih mengumpal atau tidak merata dalam sediaan.

5.3. Pengujian tipe emulsi. Sediaan emulgel dilakukan pengujian tipe emulsi dengan cara sejumlah emulgel dimasukkan kedalam 30 mL air. Emulgel tipe m/a

akan terdistribusi secara merata pada medium air. Emulgel tipe a/m tidak akan terdistribusi merata pada permukaan air. Hasil pengamatan pengujian tipe emulsi dapat dilihat pada Tabel 11.

Tabel 9. Hasil pengujian tipe emulsi sediaan emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah dengan berbagai konsentrasi

Formula	Hari ke-0	Hari ke-1	hari ke-20
Kontrol (-)	M/A	M/A	M/A
Formula I	M/A	M/A	M/A
Formula II	M/A	M/A	M/A
Formula III	M/A	M/A	M/A

Keterangan :

Formula I : emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah 15%
Formula II : emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah 20%
Formula III : emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah 25%
Kontrol (-) : basis emulgel tanpa zat aktif minyak atsiri
M/A : minyak dalam air

Hasil pengamatan terhadap pengujian tipe emulsi sediaan emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah pada hari ke-0 sampai hari ke 20 (*freeze thaw*) memperlihatkan bahwa ketiga formula mempunyai tipe emulsi minyak dalam air. Hasil ini sesuai dengan tujuan formulasi awal yaitu memformulasi sediaan emulgel tipe minyak dalam air (M/A). Hal ini disebabkan karena jumlah fase terdispersi (minyak/lemak) yang digunakan dalam emulgel lebih kecil dari fase pendispersi (fase air), sehingga fase minyak akan terdispersi secara merata ke dalam fase air dan membentuk emulsi minyak dalam air dengan bantuan emulgator. Kelebihan sediaan emulsi tipe M/A pada saat penggunaan sediaan mudah dibersihkan atau dicuci dengan air.

5.4. Uji pH. Uji ini dilakukan untuk mengetahui keamanan sediaan ketika akan digunakan. Hal ini karena sediaan yang dibuat merupakan sediaan topikal yang akan digunakan di kulit, yaitu pH 5,0-6,8 (Ansari 2009). Kulit yang normal memiliki pH 5,0-6,8 sehingga sediaan topikal harus sesuai dengan keadaan fisiologis kulit. Hasil pengukuran pH sediaan emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah dengan menggunakan pH meter. Hasil pH meter sediaan emulgel dapat dilihat pada Tabel 12 dan Lampiran 9.

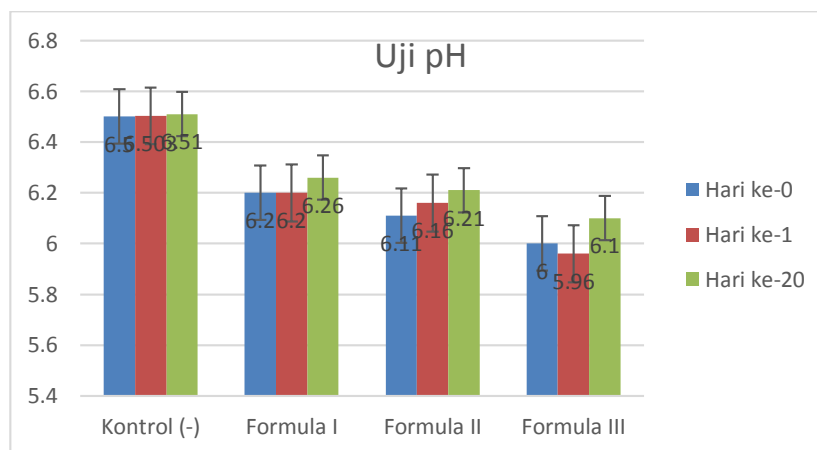
Tabel 10. Hasil pemeriksaan pH emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah dengan berbagai konsentrasi

Waktu pemeriksaan	Kontrol (-)	Formula I	Formula II	Formula III
Hari ke-0	6,5 ± 0,01	6,2 ± 0,017	6,11 ± 0,011	6 ± 0,2
Hari ke-1	6,503 ± 0,005	6,28 ± 0,01	6,16 ± 0,002	5,96 ± 0,035
Hari ke-20	6,51 ± 0,01	6,26 ± 0,015	6,21 ± 0,026	6,1 ± 0,14

Keterangan :

- Formula I : emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah 15%
- Formula II : emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah 20%
- Formula III : emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah 25%
- Kontrol (-) : basis emulgel tanpa zat aktif

Hasil pengamatan uji pH emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah pada tabel diatas menunjukkan bahwa pada penyimpanan selama 20 hari, sediaan gel mengalami penurunan dan kenaikan pH. Penurunan dan kenaikan pH disebabkan oleh pengaruh lingkungan seperti gas-gas di udara yang bersifat asam dan suhu selama penyimpanan yang masuk ke dalam gel. Penurunan pH kontrol (-) ke formula emulgel yang berisi zat aktif minyak atsiri mengalami penurunan pH yang disebabkan zat aktif minyak atsiri yang bersifat agak asam, karena minyak atsiri rimpang jahe merah mempunyai senyawa fenol (Riswiyanto 2008). Hasil dapat dilihat pada Gambar 15.



Gambar 2. Diagram hasil uji pH emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah

Berdasarkan hasil penelitian diketahui pH sediaan dalam rentang 5,96-6,28, pH tersebut memenuhi persyaratan pH sediaan topikal yaitu 5,0-6,8 (ansari 2009). PH sediaan yang terlalu asam akan mengakibatkan kulit mengkerut dan

rusak, apabila pH sediaan terlalu basa maka akan mengakibatkan kulit mengelupas dan kering. Hasil menunjukkan bahwa sediaan emulgel rimpang jahe merah memiliki nilai pH yang berubah dari hari ke 0 sampai hari ke 20. Pada formula 1 dan formula 3 hasil pH mengalami perbedaan pada hari ke 1, dimana formula 1 mengalami kenaikan pada hari ke 1. Sedangkan formula 3 mengalami penurunan pH pada hari ke 3. Hal ini karena disebabkan oleh beberapa faktor yang mempengaruhi perubahan pH yaitu penyimpanan sediaan pada pot salep tidak tertutup rapat yang berkemungkinan adanya udara masuk yang mengakibatkan terjadinya perubahan pH. Tempat penyimpanan sediaan di tempat terkena sinar matahari yang dapat mempengaruhi juga naik dan turunnya pH. Pada hasil penelitian yang diperoleh berada pada kisaran pH normal kulit, sehingga tidak menimbulkan iritasi pada kulit.

Data yang didapatkan, dianalisis menggunakan SPSS pada tes Kolmogrov Smirnov menyatakan $\text{sig } 0,396 > 0,05$ maka data terdistribusi normal, kemudian dilanjutkan dengan analisis anava dua arah dengan membandingkan perubahan pH tiap formula dari waktu hari ke-0, hari ke-1, dan hari ke-20. Data statistik menyatakan bahwa uji viskositas hari ke-0, hari ke-1, dan hari ke-20 berada disubsets 1 yang sama. Hasil dari statistik dapat dilihat pada Lampiran 10.

5.5. Pengukuran Viskositas. Viskositas sangat berpengaruh terhadap efektifitas terapi yang diinginkan serta kenyamanan dan kemudahan dalam pemakaian. Viskositas gel yang terlalu encer akan menurunkan daya lekat gel pada kulit sehingga efektifitas penghantaran zat aktif menjadi rendah, sedangkan apabila viskositas sediaan terlalu kental dapat memberikan ketidaknyamanan saat digunakan. Hasil pengamatan viskositas emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah dapat dilihat pada Tabel 13 dan Gambar 16.

Tabel 11. Hasil viskositas sediaan emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah dengan berbagai konsentrasi

Waktu pemeriksaan	Viskositas (d Pas)			
	Kontrol (-)	Formula I	Formula II	Formula III
Hari ke-0	239,6 ± 1,52	121,5 ± 0,5	103,83 ± 0,28	87,66 ± 0,76
Hari ke-1	240,3 ± 1,52	121,16 ± 1,04	102,83 ± 2,08	88,66 ± 0,28
Hari ke-20	241 ± 1	119,83 ± 2,75	99,33 ± 5,83	79,66 ± 4,93

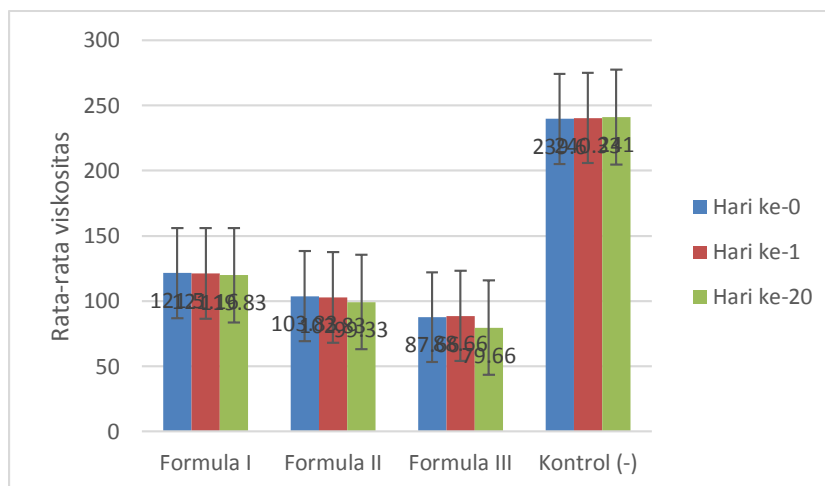
Keterangan :

Formula I : emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah 15%

Formula II : emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah 20%

Formula III : emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah 25%

Kontrol (-) : basis emulgel tanpa zat aktif minyak atsiri



Gambar 3. Diagram viskositas emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah

Data diatas menunjukkan bahwa formula 1 lebih kental diantara formula 2 dan formula 3. Karena pada formula 1 memiliki konsentrasi minyak atsiri rimpang jahe merah yang paling kecil diantara formula 2 dan formula 3. Konsentrasi minyak atsiri rimpang jahe merah dengan konsentrasi 15%, dan 20% menghasilkan gel dengan viskositas yang besar. Sedangkan emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah konsentrasi 25% menghasilkan viskositas yang kecil atau agak encer. Hasil pengamatan terhadap viskositas emulgel menunjukkan bahwa viskositas dari ketiga formula dari hari kehari cenderung menurun. Penurunan viskositas tersebut dapat disebabkan karena pengaruh suhu selama penyimpanan dan juga peningkatan jumlah konsentrasi minyak atsiri rimpang jahe merah yang dibuat dalam sediaan. Suatu sediaan apabila viskositasnya tinggi maka sediaan tersebut akan semakin stabil selama penyimpanan karena pergerakan partikel akan cenderung lebih sulit dengan semakin kentalnya sediaan (Permatasari 2014).

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan SPSS pada tes Kolmogrov Smirnov menyatakan sig 0,208 > 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-20. Data statistik menyatakan bahwa uji viskositas hari ke-0, hari ke-1, dan hari ke-20 berada disubsets 1 yang sama, membuktikan sediaan memiliki stabilitas yang stabil. Hasil data statistik dapat dilihat pada Lampiran 12.

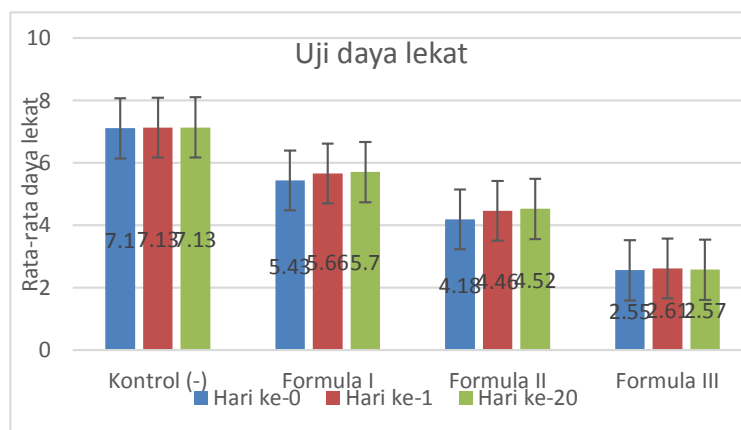
5.6. Uji Daya Lekat. Uji daya lekat dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kemampuan gel untuk melekat pada permukaan kulit ketika diaplikasikan. Semakin lama gel melekat, maka semakin lama kontak yang akan terjadi antara kulit dan gel sehingga penghantaran obat semakin efektif. Hasil pengukuran waktu daya lekat dapat dilihat pada pada Tabel 12, dan Lampiran 13. Diagram uji daya lekat sediaan pada Gambar 17.

Tabel 12. Hasil pengukuran uji daya lekat emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah

Waktu Uji	Waktu (Detik) ± SD			
	Kontrol (-)	Formula I	Formula II	Formula III
Hari ke-0	7,1 ± 0,13	5,43 ± 0,42	4,18 ± 0,53	2,55 ± 0,08
Hari ke-1	7,13 ± 0,07	5,66 ± 0,66	4,46 ± 0,23	2,61 ± 0,12
Hari ke -20	7,13 ± 0,12	5,7 ± 0,72	4,52 ± 0,39	2,57 ± 0,21

Keterangan :

- Formula I : emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah 15%
- Formula II : emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah 20%
- Formula III : emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah 25%
- Kontrol (-) : basis emulgel tanpa zat aktif



Gambar 4. Diagram uji daya lekat emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah

Data diatas menunjukkan bahwa uji daya lekat didapatkan hasil data yang menunjukkan hubungan antara viskositas dan daya lekat gel adalah berbanding searah, yaitu semakin besar viskositas maka daya lekat akan semakin meningkat. Sedangkan semakin kecil viskositas maka daya lekat akan semakin menurun.

Formula yang memiliki hasil uji daya lekat yang tinggi ada formula I dan formula II, sedangkan formula yang memiliki daya lekat yang rendah adalah formula III yang berisi konsentrasi minyak atsiri rimpang jahe merah 25%.

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan SPSS pada tes Kolmogrov Smirnov menyatakan $\text{sig } 0,311 > 0,05$ maka data terdistribusi normal, kemudian dilanjutkan dengan analisis anava dua jalan dengan membandingkan perubahan nilai daya lekat tiap formula dan waktu hari ke-0, hari ke-1, dan hari ke-20. Data statistik menyatakan uji daya lekat hari ke-0, ke-1, dan ke-20 tidak ada perbedaan yang signifikan karena berada dalam subsets yang sama. Hasil data statistik dapat dilihat pada Lampiran 14.

5.7. Uji Daya Sebar Emulgel. Uji daya sebar dilakukan untuk mengetahui kemampuan sediaan emulgel menyebar pada permukaan kulit ketika diaplikasikan. Gel yang baik adalah gel yang memiliki daya sebar yang paling luas, mudah dicuci dan diabsorpsi dengan baik oleh kulit sehingga kontak antara zat aktif dengan kulit semakin bagus. Syarat daya sebar sediaan gel yang bagus yaitu 5-7 cm menunjukkan konsistensi semisolid yang sangat nyaman dalam penggunaan (Husnul Warnida 2015) . Hasil uji daya sebar dapat dilihat pada Tabel 15 dan Lampiran 15.

Tabel 13. Hasil pengukuran diameter daya sebar emulgel rimpang jahe merah

Formula	Beban (g)	Diameter penyebaran (cm \pm SD)		
		Hari ke-0	hari ke-1	hari ke-20
Kontrol (-)	49,293	4 \pm 0,08	4,43 \pm 0,05	4,13 \pm 0,1
	99,293	5,45 \pm 0,18	5,27 \pm 0,1	4,97 \pm 0,15
	149,293	5,95 \pm 0,11	5,73 \pm 0,12	5,64 \pm 0,18
	199,293	6,25 \pm 0,2	6,18 \pm 0,1	6,46 \pm 0,08
Formula I	49,293	5,27 \pm 0,09	5,33 \pm 0,25	5,27 \pm 0,06
	99,293	6,44 \pm 0,08	6,42 \pm 0,09	6,03 \pm 0,16
	149,293	6,942 \pm 0,09	6,73 \pm 0,2	6,6 \pm 0,17
	199,293	7,3 \pm 0,08	7,26 \pm 0,21	7,02 \pm 0,13
Formula II	49,293	5,7 \pm 0,18	5,85 \pm 0,15	6,13 \pm 0,08
	99,293	6,47 \pm 0,09	6,4 \pm 0,1	6,7 \pm 0,11
	149,293	6,95 \pm 0,12	6,83 \pm 0,11	7,28 \pm 0,14
	199,293	7,35 \pm 0,05	7,36 \pm 0,15	7,68 \pm 0,16
Formula	49,293	6,23 \pm 0,18	6,34 \pm 0,25	6,53 \pm 0,05

III

99,293	6,65 ± 0,12	6,71 ± 0,1	7,09 ± 0,07
149,293	7 ± 0,09	7,2 ± 0,1	7,53 ± 0,104
199,293	7,45 ± 0,12	7,66 ± 0,05	7,92 ± 0,13

Keterangan :

- Formula I : emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah 15%
- Formula II : emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah 20%
- Formula III : emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah 25%
- Kontrol (-) : basis emulgel tanpa zat aktif minyak atsiri

Setelah dilakukan uji daya sebar maka didapatkan hasil data yang menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi minyak atsiri rimpang jahe merah, maka semakin besar daya sebar. Karena besarnya konsentrasi minyak atsiri rimpang jahe merah didalam gel menyebabkan konsistensi gel menjadi semakin encer, sehingga lebih mudah menyebar dan menyebabkan daya sebar semakin besar. Daya sebar yang semakin baik menyebabkan kontak antara zat aktif pada minyak atsiri rimpang jahe merah dengan kulit menjadi luas, sehingga absorpsi obat ke kulit berlangsung cepat.

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan SPSS pada tes Kolmogrov Smirnov menyatakan $\text{sig } 0,693 > 0,05$ maka data terdistribusi normal, kemudian dilanjutkan dengan analisis anava dua jalan dengan membandingkan perubahan nilai daya sebar tiap formula dan waktu hari ke-0, hari ke-1, dan hari ke-20. Data statistik menyatakan uji daya sebar formula 15% berbeda dengan formula 20% dan formula 25%, sedangkan formula 20% dan formula 25% sama karena berada dalam subsets yang sama. Hasil data statistik dapat dilihat pada Lampiran 16.

5.8. Uji stabilitas sediaan emulgel. Pengujian stabilitas emulgel ini dilakukan untuk mengetahui stabil tidaknya emulgel yang akan 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 emulgel.

5.8.1. Uji organoleptis. Pemeriksaan organoleptis dilakukan secara visual (pengamatan) dengan melihat ada tidaknya perubahan yang terjadi pada emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah setelah di uji dengan metode *freeze thaw*. Hasil uji organoleptis stabilitas dengan metode *freeze thaw* dapat dilihat pada Tabel 16.

Tabel 14. Uji organoleptis stabilitas emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah dengan berbagai konsentrasi minyak atsiri dengan metode freeze thaw.

Siklus	Kontrol (-)	Formula I	Formula II	Formula III
1	Stabil	Stabil	Stabil	Stabil
2	Stabil	Stabil	Stabil	Stabil
3	Stabil	Stabil	Stabil	Stabil
4	Stabil	Stabil	Stabil	Stabil
5	Stabil	Stabil	Stabil	Stabil

Keterangan :

- Formula I : emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah 15%
- Formula II : emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah 20%
- Formula III : emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah 25%
- Kontrol (-) : basis emulgel tanpa zat aktif

Hasil pengamatan secara visual uji stabilitas pada tabel 17 menunjukkan bahwa penyimpanan pada suhu yang berbeda secara terus menerus selama lima siklus yang menyatakan bahwa tidak mengalami pemisahan. Hal ini berarti dari segi organoleptis ketiga formula emulgel dinyatakan stabil.

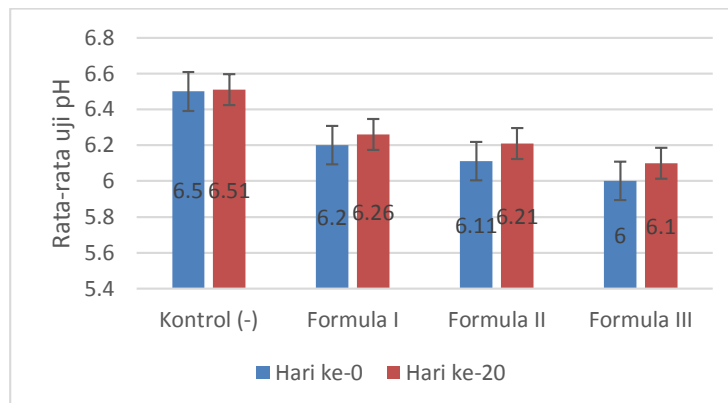
5.8.2. Hasil uji pH. Hasil uji pH ini dilakukan untuk mengetahui apakah ada perubahan pH pada sediaan emulgel sebelum dan sesudah diberlakukan dengan metode *freeze thaw*. Hasil uji stabilitas pH sediaan emulgel dapat dilihat pada Tabel 17, dan Lampiran 17. Diagram uji kestabilan pH pada Gambar 18.

Tabel 15. Hasil uji pH emulgel rimpang jahe merah sebelum dan setelah uji kestabilan dengan metode freeze thaw.

Waktu pemeriksaan	Kontrol (-)	Formula I	Formula II	Formula III
Hari ke-0	7,1 ± 0,13	6,2 ± 0,017	6,11 ± 0,011	6 ± 0,2
Hari ke-20	7,13 ± 0,12	6,26 ± 0,015	6,21 ± 0,026	6,1 ± 0,14

Keterangan :

- Formula I : Emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah 15%
- Formula II : Emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah 20%
- Formula III : Emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah 25%
- Kontrol (-) : Basis emulgel tanpa zat aktif



Gambar 5. Diagram hasil uji kestabilan pH emulgel minyak atsiri jahe merah

Setelah dilakukan uji pH maka didapatkan hasil pengamatan terhadap pH ketiga formula sebelum dan setelah uji kestabilan dengan metode *freeze thaw* terlihat adanya penurunan dan kenaikan pH. Penyebabnya karena pengaruh lingkungan seperti gas-gas diudara dan suhu selama penyimpanan yang masuk kedalam sediaan. Akan tetapi, pada penurunan dan kenaikan pH yang terjadi pada setiap formula tidak terlalu signifikan dan dapat dikatakan pH stabil dan masuk dalam interval pH kulit yaitu pH 4,5 – 7 (Lukman *et al.*, 2012). Penurunan pH kontrol negatif ke formula emulgel yang berisi zat aktif minyak atsiri mengalami penurunan pH yang disebabkan zat aktif minyak atsiri yang bersifat agak asam, karena minyak atsiri rimpang jahe merah mempunyai senyawa fenol (Riswiyanto 2008).

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan SPSS pada tes Kolmogrow Smirnow menyatakan bahwa data uji pH terdistribusi normal dengan sig 0,430 > 0,05, kemudian dilanjutkan dengan analisis anava dua jalan dengan membandingkan perubahan pH formula dan waktu dari hari ke-0 dan hari ke-10. Data statistik menyatakan pH uji stabilitas formula 15% tidak ada beda yang signifikan dengan formula 20% dan formula 20% tidak ada beda yang signifikan dengan formula 25% karena ada dalam 1 subsets yang sama. Hasil data statistik dapat dilihat pada Lampiran 18.

5.8.3. Uji viskositas. Pengukuran viskositas menunjukkan bahwa terjadi penurunan hampir di setiap formula setelah perlakuan kondisi pengujian *freeze*

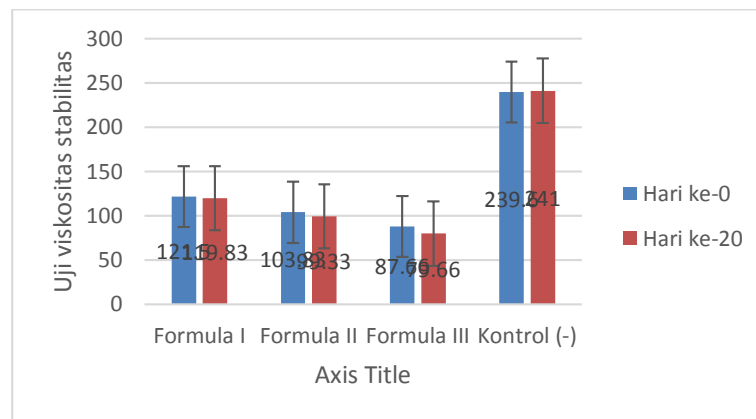
thaw. Hasil pengukuran viskositas emulgel sebelum dan setelah perlakuan uji kestabilan dengan metode *freeze thaw* dapat dilihat pada Tabel 18, dan Lampiran 19. Gambar diagram uji viskositas stabilitas pada Gambar 19 .

Tabel 16. Hasil pengukuran viskositas emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah sebelum dan setelah uji kestabilan dengan metode freeze thaw

Waktu pemeriksaan	Viskositas (d Pas)			
	Kontrol (-)	Formula I	Formula II	Formula III
Hari ke-0	239,6 ± 1,52	121,5 ± 0,5	103,83 ± 0,28	87,66 ± 0,76
Hari ke-20	241 ± 1	119,83 ± 2,75	99,33 ± 5,83	79,66 ± 4,93

Keterangan :

- Formula I : Emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah 15%
- Formula II : Emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah 20%
- Formula III : Emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah 25%
- Kontrol (-) : Basis emulgel tanpa zat aktif



Gambar 6. Diagram hasil uji kestabilan viskositas emulgel rimpang jahe merah

Hasil pengamatan terhadap uji viskositas sediaan emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah menunjukkan bahwa viskositas ketiga formula sebelum dan setelah dilakukan pengujian dengan metode *freeze thaw* cenderung menurun pada siklus ke-5. Penurunan uji viskositas ini dapat disebabkan karena adanya pengaruh suhu selama penyimpanan. Terjadinya kenaikan suhu akan memperbesar jarak antar atom sehingga gaya antar atom akan berkurang, jarak menjadi renggang mengakibatkan viskositas sediaan menjadi menurun. Penyebab lain yaitu terjadinya proses sineresis didalam sediaan gel. Sineresis terjadi akibat adanya kontraksi didalam massa gel. Perubahan pada gel akan mengakibatkan jarak matriks berubah, sehingga adanya cairan yang keluar dan berada diatas

permukaan sediaan. Sineresis adalah peristiwa keluarnya air dalam gel, dimana gel mengkerut sehingga cenderung memeras air keluar dari dalam gel (Iskandarsyah *et al* 2014).

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan SPSS pada tes Kolmogorov Smirnov menyatakan data terdistribusi normal sig 0,753 > 0,05, kemudian dilanjutkan dengan analisis anava dua jalan dengan membandingkan viskositas formula dan waktu hari ke-0 dan hari ke-20. Data statistik menyatakan viskositas stabilitas formula 15%, formula 20%, dan formula 25% berbeda karena berada pada subsets yang berbeda-beda. Hasil data statistik dapat dilihat pada Lampiran 20.

6. Identifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

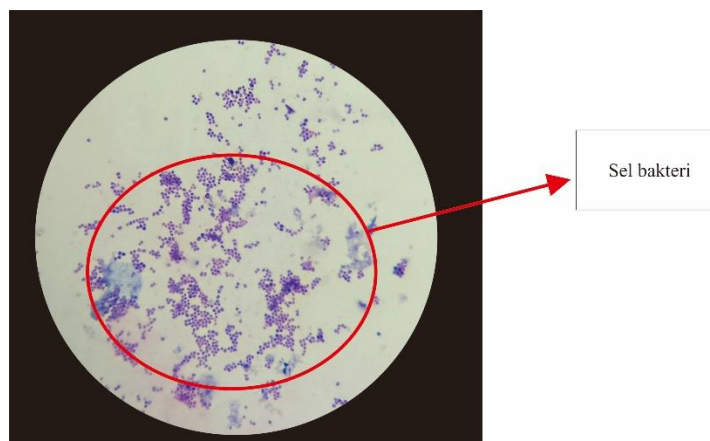
6.1. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan media selektif. Identifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 berdasarkan koloni dilakukan dengan inokulasi suspensi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada media *Vogel Johnson Agar* (VJA) yang ditambahkan 3 tetes kalium telurit 1% dalam cawan petri dan diinkubasi selama 24-48 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 telurit menjadi metalik warna medium dan disekitar koloni berwarna kuning karena fermentasi manitol yang dideteksi oleh perubahan warna indikator phenol red dari merah menjadi kuning (terjad perubahan asam) (Jawets *et al* 2012). Hasil identifikasi koloni dapat dilihat pada Gambar 20.



Gambar 7. Hasil uji medium diferensial VJA

6.2. Identifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara morfologi.

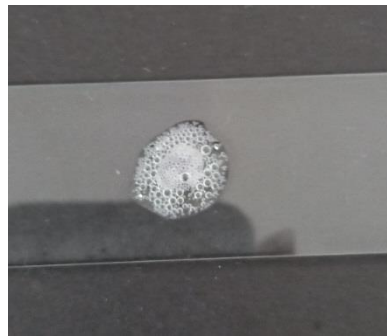
Staphylococcus aureus ATCC 25923 dapat mempertahankan warna violet dari Gram A (kristal violet) pada pengecatan Gram *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, karena memiliki peptidoglikan yang lebih tebal dari pada Gram negatif. Hasil pengamatan dengan melakukan perwarnaan Gram pada mikroskop perbesaran 100x akan tampak berwarna ungu, berbentuk bulat, bergerombol seperti anggur, dapat pula tersusun empat – empat (tetra), membentuk rantai, berpasangan, dan satu-satu. Tujuan perwarnaan Gram adalah untuk melihat apakah betul bakteri yang dipakai adalah bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, termasuk bakteri Gram positif atau Gram negatif. Bakteri Gram positif mengandung protein dalam prevalensi lebih rendah dan dinding selnya tebal. Pemberian kristal violet (Gram A), iodine (Gram B), dan pemberian etanol (Gram C) pada perwarnaan Gram menyebabkan tidak terekstraksinya lipid, sehingga memperkecil permeabilitas dinding sel Gram positif. Dinding sel yang terhidrasi dengan perlakuan alkohol atau etanol, terjadi mengkerut pori – pori, daya rembes dinding sel dan membran menurun sehingga perwarnaan safranin tidak dapat masuk. Sehingga sel menjadi warna ungu (Pelczar & Chan 2007). Hasil identifikasi secara mikroskopis menggunakan mikroskop dapat dilihat pada Gambar 21.



Gambar 8. Hasil perwarnaan Gram bakteri

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

6.3.1. Uji Katalase. Menggunakan suspensi bakteri uji yang telah diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C pada media *Vogel Johnson Agar* (VJA) kemudian ditambah H₂O₂ 3% sebanyak 3 tetes. Hasil positif ditandai dengan adanya gelembung udara sebab bakteri *Staphylococcus aureus* mempunyai enzim katalase, dimana H₂O₂ yang diteteskan pada objek glass akan terurai menjadi 2H₂ dan O₂ (oksigen), hal ini ditandai dengan adanya gelembung udara. H₂O₂ terbentuk sewaktu metabolisme aerob, sehingga mikroorganisme yang tumbuh dalam lingkungan aerob pasti menguraikan H₂O₂ selama masih memiliki enzim katalase. Hasil gambar identifikasi uji katalase dapat dilihat pada Gambar 22.



Gambar 9. Hasil identifikasi uji katalase

6.3.2. Uji Koagulase. Dilakukan dengan cara menginokulasi koloni bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ke dalam BHI 10 ml kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C . inokulum tersebut dipindahkan 0,2-0,3 ml ke dalam tabung reaksi yang sudah disterilkan kemudian ditambahkan 0,5 ml koagulase plasma, kemudian sentrifugasi dan diinkubasi pada suhu 37°C. Diamati tiap jam sampai empat jam pertama dan dilanjutkan sampai 24 jam. Hal ini dimaksudkan untuk melihat atau mengecek kogulan yang terbentuk. Koagulan yang terbentuk secara padat atau solid serta tidak jatuh apabila tabung dibalik atau dimiringkan, maka dinyatakan positif bahwa bakteri tersebut memang *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (Jawets *et al* 2001). Hasil identifikasi pada penelitian ini menunjukkan bahwa positif terjadi perubahan plasma darah yang terdenaturasi oleh *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, sehingga terjadi pengumpalan putih pada dasar tabung (perubahan fibrinogen menjadi fibrin). Tes koagulasi ini digunakan untuk membedakan antara bakteri *Staphylococcus aureus*

dan *Staphylococcus epidermidis*. Karena *Staphylococcus epidermidis* tidak membentuk gumpalan – gumpalan putih. Hasil gambar identifikasi secara koagulase dapat dilihat pada Gambar 23.



Gambar 10. Hasil identifikasi koagulase

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

Pembuatan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* bertujuan untuk jumlah bakteri yang digunakan selama penelitian selalu sama dan mengurangi kepadatan bakteri saat pengujian. Suspensi dibuat dengan cara tabung reaksi yang berisi *Brain Heart Infusion* (BHI) di berikan 2 – 3 ose bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 kemudian diinkubasi selama 24 jam. Setelah diinkubasi selama 24 jam, suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 2592 di standarkan dengan *MC Farland* dengan cara melihat kekeruhannya. Hasil gambar pembuatan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dilihat pada Gambar 24.



Gambar 11. Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* di standarkan dengan *MC Farland*.

Pada gambar diatas, untuk melihat kesamaan kekeruhan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang di standarkan dengan *MC Farland* dengan cara melihat kekeruhan standar *Mc Farland* 0,5 setara dengan jumlah 1,5

$\times 10^8$ cfu/mL. Tujuan disesuaikan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan standar *Mc Farland* yaitu agar jumlah bakteri yang digunakan sama selama penelitian dan mengurangi kepadatan bakteri saat pengujian.

8. Hasil pengujian aktivitas antibakteri secara *in vivo*

Hewan uji kelinci yang digunakan sebanyak 5 ekor dengan umur ± 3 bulan yang diaklimatinasi selama 1 minggu, dicukur bulu sampai botak didaerah punggung. Punggung diberi tanda 3 lokasi (I, II, III) sebelah kanan dan 3 lokasi (IV, V, VI) sebelah kiri dengan jarak masing-masing ± 5 cm. Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 diinfeksi secara subkutan sebanyak 0,2 ml di 5 lokasi pada kulit punggung kelinci, kemudian ditutup perban steril untuk mencegah kontaminasi dan ditunggu selama 24-48 jam. Setelah punggung kelinci terbentuk nanah, pada lokasi sebelah kanan yaitu lokasi I kontrol normal kulit punggung kelinci tanpa perlakuan sebagai pembandingan kesembuhan yang dapat dilihat dengan jumlah koloni bakteri pada lokasi II, III, IV, V, VI yang mendekati jumlah koloni pada lokasi I, lokasi II yaitu dioleskan secukupnya dan secara merata emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah dengan konsentrasi 15%, lokasi III yaitu dioleskan emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah dengan konsentrasi 20%, lokasi IV yaitu kontrol negatif (basis sediaan emulgel), lokasi V yaitu dioleskan emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah dengan konsentrasi 25%, dan lokasi VI yaitu kontrol normal dari sediaan yang ada di apotek (gel klindamisin). Pengolesan emulgel dilakukan 3 kali sehari (pagi, siang, dan sore) sampai memberikan efek kesembuhan pada punggung kelinci.

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 ditandai, pengamatan ini dilakukan dari hari ke-0 sampai hari ke-10. Hasil pengamatan dapat dilihat pada Tabel 19.

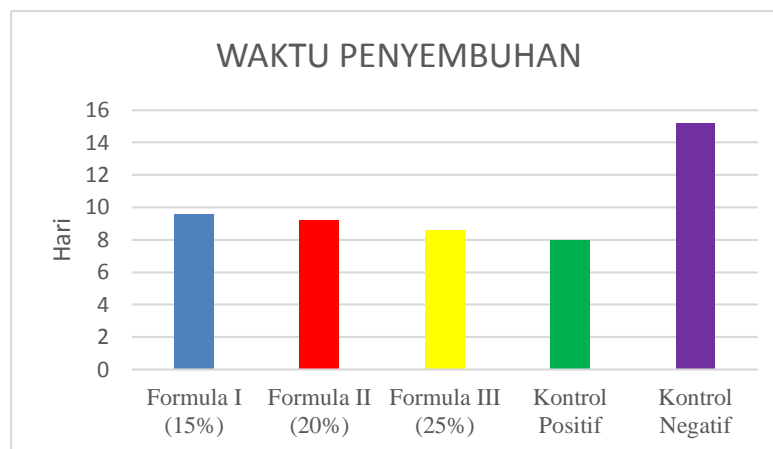
Keterangan :

N	: Nanah
NH	: Nanah Hilang
K	: Kering
S	: Sembuh
Formula I	: Emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah 15%
Formula II	: Emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah 20%
Formula III	: Emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah 25%
Kontrol positif	: Gel klindamisin
Kontrol negatif	: Basis Emulgel
TAP	: Tidak Ada Perubahan

Hasil pengamatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang dilakukan setiap hari sekali untuk menunjukkan adanya penurunan jumlah koloni yang signifikan dari hari pertama hingga luka sembuh. Kontrol negatif 5 kelinci yang hanya dioleskan basis tanpa zat yang berkhasiat belum sembuh dihari ke-10, sehingga dilanjutkan pengamatan terhadap kontrol negatif saja hingga sembuh. Waktu penyembuhan infeksi pada punggung kelinci dilihat pada Tabel 20.

Tabel 18. Waktu penyembuhan infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada kulit punggung kelinci

Kelinci	Waktu penyembuhan infeksi pada punggung kelinci (Hari)				
	Formula I (15%)	Formula II (20%)	Formula III (25%)	Kontrol Positif	Kontrol Negatif
1	10	10	8	8	14
2	9	10	9	9	13
3	10	9	9	8	16
4	9	9	9	7	15
5	10	8	8	8	18
Rata-rata	9,6	9,2	8,6	8	15,2



Gambar 12. Diagram batang hasil uji aktivitas antibakteri emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah pada kulit punggung kelinci

Diagram pada gambar diatas, menunjukkan hasil uji aktivitas antibakteri emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah dengan konsentrasi 15%, 20%, dan 25%. Dilakukan untuk mengetahui konsentrasi mana yang paling efektif sebagai antibakteri. Ketiga konsentrasi sediaan emulgel mampu memberikan penyembuhan infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada kulit punggung kelinci dengan hasil penyembuhan tercepat pada konsentrasi 25% dibandingkan dengan konsentrasi 15% dan 20%. Konsentrasi 25% memiliki aktivitas antibakteri yang sama seperti gel klindamisin (kontrol positif). Penyembuhan ditandai dengan hilangnya nanah pada kulit punggung kelinci, keringnya luka infeksi serta sembuh pada kulit punggung kelinci dalam hitungan hari.

Pengamatan kesembuhan infeksi lebih terlihat jelas dengan menghitung jumlah koloni yang tumbuh pada media VJA atau metode *plate count*, dengan cara pengambilan nanah memakai kapas lidi pada luka punggung kelinci untuk diinokulasi ke tabung reaksi yang berisi NaCl 1 ml (10^{-1}), kemudian memakai alat fortex (bakteri tercampur) dan diinokulasi ke tabung reaksi yang berisi NaCl 9 ml (10^{-2}). Ambil 1 ml diinokulasi lagi ke tabung reaksi yang berisi NaCl 9 ml kemudian di fortex agar tercampur dan diambil 1 ml dan dituangkan pada media VJA. Perhitungan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menggunakan

metode *plate count*, dimana jumlah koloni dikali dengan 1/faktor pengenceran. Nanah diambil pada punggung kelinci setelah pengolesan sediaan emulgel dan jumlah koloni dihitung. Luka sembuh bila jumlah koloni bakteri mendekati jumlah koloni kontrol normal atau selisih 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 19. Perhitungan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada media VJA

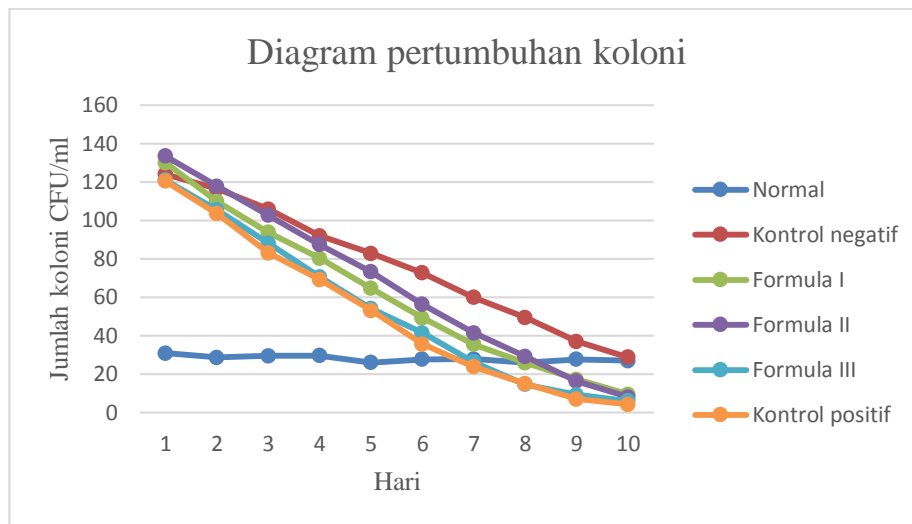
Hari	N	Rata-rata jumlah koloni				
		Kontrol negatif	Formula I	Formula II	Formula III	Kontrol positif
1	30,8	124	130	133,4	121	120,4
2	28,6	116,4	109,8	117,8	105,4	103,4
3	29,4	105,8	93,8	102,6	88	83
4	29,6	92	80,2	87,4	70,6	69,2
5	26	82,8	64,6	73,2	54	53
6	27,6	72,6	49,2	56,2	41,4	35,6
7	27,8	59,8	35,4	41,4	26,2	23,8
8	26	49,4	25,8	29,2	14,6	15
9	27,6	37	17,2	16,2	9,2	7
10	27	28,8	9,4	8	6	4,2

Keterangan :

- Formula I : Emulgel minyak atsiri jahae merah 15%
- Formula II : Emulgel minyak atsiri jahae merah 20%
- Formula III : Emulgel minyak atsiri jahae merah 25%
- Kontrol positif : Gel klindamisin
- Kontrol negatif : Basis emulgel
- N : Kontrol normal

Tabel 21 merupakan hasil perhitungan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang telah dikalikan dengan 1/faktor pengenceran (perhitungan *plate count*) untuk memudahkan pengamatan penurunan koloni, data koloni bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 awal dapat dilihat pada Lampiran 21. Tabel 21, menunjukkan adanya penurunan jumlah koloni bakteri pada tiap kelinci berbeda-beda. Penurunan jumlah koloni bakteri

Staphylococcus aureus ATCC 25923 tiap perlakuan pun berbeda-beda, lokasi yang dioleskan kontrol positif dan sediaan emulgel konsentrasi 25% lebih cepat mengalami penurunan koloni dibandingkan dengan konsentrasi 15% dan konsentrasi 20%. Dapat dilihat pada gambar diagram penurunan jumlah koloni pada Gambar 26.



Gambar 13. Diagram pertumbuhan koloni bakteri

Penurunan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 paling lama yaitu lokasi yang dioleskan dengan kontrol negatif (diberikan kontrol basis emulgel). kontrol negatif berupa basis yang tidak ada komponen senyawa aktif yang dapat membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 sehingga penyembuhannya lebih lama, serta basis emulgel hanya dapat memberikan efek melembabkan pada permukaan kulit dan sedikit memberikan efek antibakteri dengan bantuan pengawet nipagin dan nipasol. Infeksi pada koloni negatif hanya diobati dengan basis emulgel tetapi dapat memberikan penyembuhan pada infeksi, ditandai dengan menurunnya jumlah koloni, hilangnya nanah, dan mengeringnya luka pada kulit punggung kelinci karena bantuan dari pengawet nipagin dan nipasol pada basis emulgel serta tubuh yang sehat memiliki kemampuan alami untuk selalu melindungi dan memulihkan dirinya dari pengaruh luar. Data analisis dapat dilihat pada Lampiran 22.

Staphylococcus aureus ATCC 25923 dapat memfermentasikan manitol pada saat suasana asam, sehingga koloni yang terbentuk yaitu buai, halus, timbul,

dan mengkilat dengan membentuk pigmen berwarna kuning emas (Jawets *et al* 2012). Media tertentu pada penelitian ini tidak mengalami perubahan pada warna media VJA, kemungkinan terjadi oleh lamanya inkubasi yang tidak seragam serta pembuatan media VJA sehingga pada media VJA bersifat basa yang menyebabkan bakteri *Staphylococcus aureus* tidak dapat memfermentasikan manitol yang menyebabkan tidak terbentuknya pigmen berwarna kuning emas pada media VJA.

Hasil dari penurunan jumlah koloni bakteri pada tiap titik dianalisis menggunakan SPSS pada tes Kolmogorov Smirnow terlihat sig 0,049 > 0,05 maka data terdistribusi normal, kemudian dilanjutkan dengan analisis anava dua jalan menyatakan formula positif sebanding dengan formula konsentrasi 25% karena berada di satu subsets dan formula konsentrasi 15% sama dengan formula konsentrasi 20% karena berada di satu subsets.

Emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah konsentrasi 25% dan gel klindamisin 1% memiliki kandungan zat yang hampir sama. Hasil pengamatan menunjukkan gejala klinis, lamanya waktu penyembuhan, dan penurunan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang paling optimal adalah gel klindamisin 1%. Karena gel klindamisin pada penyembuhan infeksi memiliki rata-rata 8,2 hari, sedangkan emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah 25% rata-rata penyembuhan infeksi 8,6 hari. Perbedaan waktu penyembuhan yang tidak begitu jauh. Begitu pula dengan penurunan jumlah koloni bakteri yang tidak begitu jauh rata-rata penurunannya. Klindamisin merupakan derivat linkomisin, termasuk antibiotika bakterostatik dengan aktifitas kerja menghambat sintesa protein bakteri dengan cara bantuan Mrna dan tRNA di ribosom. Ribosom yang terdiri dari 2 ribosom yaitu ribosom 30s dan ribosom 50s, sehingga pada ke 2 ribosom ini akan bersatu pada pangkal rantai mRNA menjadi ribosom 70s. Emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah 25% dapat digunakan juga sebagai pengganti gel klindamisin 1%

Minyak atsiri rimpang jahe merah memiliki komponen sebagai antibakteri pada minyak atsiri rimpang jahe merah adalah senyawa citral, senyawa camphene, nerol, borneol, dan α -zingeron. Senyawa terpenoid (α -Curcumene, dan β -

Sesquiphellandrene pada jahe berperan sebagai pemberi bau, karena memiliki bau yang spesifik sehingga dimanfaatkan sebagai pemberi aroma makan dan parfum. Emulgel minyak atsiri rimpang jahe merah dengan kadar 25% memiliki efek antibakteri yang sama dengan gel klindamisin (kontrol positif), karena efek penyembuhannya memiliki rata-rata penyembuhan yang tidak begitu jauh perbedaannya.