

## BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

### A. Hasil Penelitian

#### 1. Determinasi Tanaman

Tahapan pertama pada penelitian ini adalah dengan melakukan determinasi tanaman bandotan. Determinasi dilakukan di Laboratorium Universitas Setia Budi. Determinasi 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 bandotan (*Agerantum conyzoides* L).

Berdasarkan hasil determinasi dinyatakan bahwa yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun bandotan. Hasil determinasi tumbuhan bandotan dapat dilihat pada lampiran 1.

#### 2. Pengambilan Bahan

Penelitian ini menggunakan tanaman yaitu daun bandotan yang diperoleh dari daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah, pada bulan Januari 2019. Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.

#### 3. Hasil Pembuatan Serbuk

Daun bandotan yang diperoleh kemudian disortasi basah dengan tujuan untuk membersihkan daun terhadap kotoran-kotoran, setelah disortasi basah selanjutnya daun bandotan dicuci dengan air mengalir dan ditiriskan. Daun bandotan dikeringkan dengan oven pada suhu 40°C, dihitung bobot kering terhadap bobot basah dapat dilihat pada tabel 3. Hasil perhitungan bobot kering terhadap bobot basah daun bandotan dapat dilihat pada lampiran 5.

**Tabel 3. Hasil rendemen bobot kering terhadap bobot basah daun bandotan**

Bobot Basah (g)	Bobot Kering (g)	Rendemen % (b/b)
7000	2500	35,71

Daun bandotan yang telah dikeringkan dengan oven, kemudian diserbuk dengan alat penyerbuk di laboratorium 13 Universitas Setia Budi Surakarta, kemudian diayak sampai halus menggunakan pengayak no.40, tujuan penyerbukan untuk memperkecil ukuran bahan, memperluas kontak partikel dengan pelarut yang digunakan sehingga ekstraksi dapat berlangsung efektif.

Berat serbuk daun bandotan 950gram dari berat daun kering 2500 gram, dan diperoleh rendemen sebesar 38% dapat dilihat pada tabel 4.

**Tabel 4. Hasil rendemen bobot serbuk daun bandotan**

Berat Kering (g)	Berat Serbuk (g)	Rendemen % (b/b)
2500	950	38

#### 4. Hasil Identifikasi Serbuk Daun Bandotan

##### 4.1 Hasil Pemeriksaan Organoleptis Serbuk Daun Bandotan.

Pemeriksaan organoleptis dilakukan untuk mengetahui sifat fisik dari serbuk daun bandotan dan mengetahui kualitasnya. Pemeriksaan organoleptis serbuk daun bandotan dilihat dari bentuk, warna dan bau. Hasil pemeriksaan organoleptis serbuk daun bandotan dapat dilihat pada tabel 5.

**Tabel 5. Hasil pemeriksaan organoleptis serbuk daun bandotan**

Pemeriksaan	Hasil
Bentuk	Serbuk halus
Warna	Coklat
Bau	Menyengat

Berdasarkan pemeriksaan organoleptis serbuk daun bandotan berbentuk serbuk halus, berwarna coklat dan berbau menyengat.

##### 4.2 Hasil Pemeriksaan Susut Pengerinan Serbuk Daun Bandotan.

Penetapan susut pengerinan serbuk daun bandotan dilakukan untuk mengetahui sisa zat yang tersisa setelah pengerinan yang dinyatakan dalam nilai persen atau sampai berat konstan yang dinyatakan sebagai nilai persen. Hasil susut pengerinan dapat dilihat pada tabel 6.

**Tabel 6. Hasil penetapan susut pengerinan serbuk daun bandotan**

No	Berat serbuk (gram)	Susut Pengerinan (%)
1	2,00	7,3
2	2,00	7,4
3	2,00	7,2
Rata-rata $\pm$ SD		7,3 $\pm$ 0,1

Hasil susut pengeringan serbuk daun bandotan sebesar 7,3%. Hasil susut pengeringan kurang dari 10% sehingga hasil telah memenuhi persyaratan. Data hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun bandotan dapat dilihat pada lampiran 6.

**4.3 Hasil Penetapan Kadar Air Serbuk Daun Bandotan.** Kadar air dilakukan dengan cara destilasi menggunakan metode *sterling bidwell*. Penetapan kadar air dilakukan bertujuan untuk mengetahui besarnya kandungan air di dalam bahan, untuk mencegah terjadinya pembusukan yang disebabkan oleh jamur, bakteri, dan mencegah perubahan kimiawi yang menurunkan mutu fisik serbuk dan ekstrak. Hasil rata-rata penetapan kadar air serbuk daun bandotan adalah 9,19%, artinya daun bandotan sudah memenuhi syarat pengeringan simplisia karena kurang dari 10%. Hasil kadar air dapat dilihat pada tabel 7.

**Tabel 7. Hasil penetapan kadar air serbuk daun bandotan**

No	Berat serbuk (gram)	Volume air (ml)	Kadar Air % (v/b)
1	23,3	2	8,58
2	23,05	2,2	9,54
3	21,15	2	9,46
Rata – rata ± SD			9,19 ± 0,53

## 5. Hasil Pembuatan Ekstrak Daun Bandotan

Serbuk daun bandotan yang diperoleh diekstraksi dengan etanol 70% dan menggunakan metode maserasi. Kemudian dipekatkan dengan menggunakan evaporator pada suhu 40°C sampai diperoleh ekstrak kental. Hasil rendemen ekstrak daun bandotan dapat dilihat pada tabel 8.

**Tabel 8. Hasil rendemen ekstrak daun bandotan**

Berat Serbuk (g)	Berat Ekstrak (g)	Rendemen % (b/b)
900	112,4521	12,4947

Hasil tabel 8 ekstrak daun bandotan diperoleh dari proses maserasi menggunakan etanol 70% memiliki rendemen sebesar 12,49%, yang artinya hasil rendemen tersebut menunjukkan banyaknya komponen bioaktif yang terkandung di dalam daun bandotan.

## 6. Hasil Identifikasi Ekstrak Daun Bandotan

### 6.1 Hasil Pemeriksaan Organoleptis Ekstrak Daun Bandotan.

Pemeriksaan organoleptis ekstrak daun bandotan dilihat dari bentuk, warna dan bau. Hasil pemeriksaan organoleptis ekstrak daun bandotan dapat dilihat pada tabel 9.

**Tabel 9. Hasil pemeriksaan ekstrak daun bandotan**

Pemeriksaan	Hasil
Bentuk	Kental
Warna	Coklat kehitaman
Bau	Khas ekstrak

Berdasarkan pemeriksaan organoleptis ekstrak daun bandotan berbentuk ekstrak kental, berwarna hijau kecoklatan dan berbau khas ekstrak.

### 6.2 Hasil Pemeriksaan Kadar Air Ekstrak Daun Bandotan.

Kadar air dilakukan dengan cara destilasi menggunakan metode *sterling bidwell*. Penetapan kadar air dilakukan bertujuan untuk mengetahui besarnya kandungan air di dalam bahan, untuk mencegah terjadinya pembusukan yang disebabkan oleh jamur, bakteri, dan mencegah perubahan kimiawi yang menurunkan mutu fisik serbuk dan ekstrak. Hasil kadar air ekstrak daun bandotan dapat dilihat pada tabel 10.

**Tabel 10. Hasil penetapan kadar air ekstrak daun bandotan**

No	Berat serbuk (gram)	Volume air (ml)	Kadar Air % (v/b)
1	12,21	1	8,19
2	11,23	0,9	8,01
3	12,55	1,2	9,56
Rata – rata ± SD			8,59 ± 0,85

Hasil rata-rata penetapan kadar air ekstrak daun bandotan adalah 8,59%, artinya daun bandotan sudah memenuhi syarat pengeringan simplisia karena kurang dari 10%.

### 6.3 Hasil Uji Bebas Etanol Ekstrak Daun Bandotan.

Uji bebas etanol dilakukan untuk mendapatkan ekstrak yang bebas dari etanol sehingga didapatkan ekstrak yang murni tanpa ada kontaminasi dari pelarut yang digunakan. Hasil uji bebas etanol ekstrak daun bandotan menunjukkan bahwa ekstrak daun bandotan bebas etanol karena tidak tercium bau ester sehingga dapat digunakan untuk penelitian selanjutnya. Hasil uji bebas etanol dapat dilihat pada tabel 11.

**Tabel 11. Uji bebas etanol ekstrak daun bandotan**

Identifikasi	Hasil
Uji bebas etanol	Tidak tercium bau ester

#### 6.4 Hasil Identifikasi Kandungan Kimia Ekstrak Daun Bandotan.

Identifikasi kandungan kimia terhadap serbuk dan ekstrak daun bandotan (*Agerantum conyzoides* L) dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kandungan senyawa di dalam ekstrak menggunakan uji tabung.

Hasil tabel 12 menunjukkan identifikasi kandungan kimia terhadap ekstrak daun bandotan dengan menggunakan tabung reaksi dapat dilihat pada lampiran 7. Hasil penelitian kandungan kimia dalam ekstrak daun bandotan menunjukkan bahwa ekstrak daun bandotan mengandung flavonoid, alkaloid, saponin dan tanin.

**Tabel 12. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun bandotan**

Senyawa	Hasil Percobaan	Keterangan
Flavonoid	Warna merah intensif pada lapisan amil alkohol	Positif
	Terbentuk endapan putih	Positif
Alkaloid	Terbentuk endapan merah	Positif
	Terbentuk endapan coklat	Positif
Saponin	Terbentuk busa konstan	Positif
Tanin	Terbentuk warna hijau kehitaman	Positif

### 7. Hasil Pengujian Sifat Fisik Emulgel

Uji sifat fisik dari emulgel adalah pengamatan uji mutu fisik emulgel meliputi uji organoleptis, homogenitas, pH, viskositas, daya lekat, daya sebar, serta uji stabilitas dengan metode *freeze and thaw*.

**7.1 Hasil Uji Organoleptis.** Pengujian organoleptis emulgel ekstrak daun bandotan yang diamati adalah bentuk, bau, dan warna. Hasil pengamatan organoleptis emulgel ekstrak daun bandotan dapat dilihat pada tabel 13.

**Tabel 13. Hasil pemeriksaan organoleptis emulgel ekstrak daun bandotan**

Formula	Hari ke -	Organoleptis		
		Konsistensi	Bau	Warna
Formula 1	1	Emulgel agak kental	Khas ekstrak	Coklat kehitaman
	7	Emulgel agak kental	Khas ekstrak	Coklat kehitaman
	14	Emulgel agak kental	Khas ekstrak	Coklat kehitaman
	21	Emulgel agak kental	Khas ekstrak	Coklat kehitaman
Formula 2	1	Emulgel kental	Khas ekstrak	Coklat kehitaman
	7	Emulgel kental	Khas ekstrak	Coklat kehitaman
	14	Emulgel kental	Khas ekstrak	Coklat kehitaman
	21	Emulgel kental	Khas ekstrak	Coklat kehitaman
Formula 3	1	Emulgel sangat kental	Khas ekstrak	Coklat kehitaman
	7	Emulgel sangat kental	Khas ekstrak	Coklat kehitaman
	14	Emulgel sangat kental	Khas ekstrak	Coklat kehitaman
	21	Emulgel sangat kental	Khas ekstrak	Coklat kehitaman

**Keterangan :**

Formula 1 = emulgel ekstrak daun bandotan dengan HPMC 2%

Formula 2 = emulgel ekstrak daun bandotan dengan HPMC 3%

Formula 3 = emulgel ekstrak daun bandotan dengan HPMC 4%

Hasil pengujian emulgel ekstrak daun bandotan menunjukkan konsistensi, bau, dan warna yang sama dari hari ke-1 hingga hari ke-21, yaitu berwarna coklat kehitaman, berbau khas ekstrak dan konsistensi emulgel agak kental sampai sangat kental. Hasil pengujian organoleptis untuk emulgel ekstrak daun bandotan dapat dikatakan stabil dalam penyimpanan, karena konsistensi, bau, dan warna tidak berubah selama masa penyimpanan.

**7.2 Hasil Uji Homogenitas.** Tujuan uji homogenitas sediaan bertujuan mengetahui ekstrak daun bandotan dalam sediaan sudah homogen atau belum, hal ini penting dilakukan karena homogenitas sangat berpengaruh terhadap efektifitas terapi dari sediaan tersebut. Hasil pengamatan homogenitas sediaan emulgel dapat dilihat pada tabel 14.

**Tabel 14. Hasil pemeriksaan homogenitas emulgel ekstrak daun bandotan dengan berbagai variasi konsentrasi *gelling agent* HPMC**

Formula	Hari ke- 1	Hari ke-7	Hari ke- 14	Hari ke-21
Formula 1	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
Formula 2	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
Formula 3	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen

**Keterangan :**

Formula 1 = emulgel ekstrak daun bandotan dengan HPMC 2%

Formula 2 = emulgel ekstrak daun bandotan dengan HPMC 3%

Formula 3 = emulgel ekstrak daun bandotan dengan HPMC 4%

Hasil pengamatan terhadap homogenitas sediaan emulgel yang dilakukan dengan cara dioleskan pada sekeping kaca atau objek glass menunjukkan bahwa ketiga formula sediaan emulgel ekstrak daun bandotan memiliki homogenitas yang baik sampai hari ke-21.

**7.3 Hasil Uji pH.** Uji pH dilakukan dengan alat pH meter yang dimasukkan ke dalam sediaan emulgel ekstrak daun bandotan yang telah dilakukan pengenceran terlebih dahulu. Uji pH dilakukan untuk mengetahui apakah emulgel yang telah dibuat bersifat asam, basa, atau netral. Pengujian pH dilakukan untuk mengetahui kesesuaian dan keamanan emulgel agar tidak terjadi iritasi saat sediaan diaplikasikan pada kulit. Hasil pengujian pH emulgel dapat dilihat pada tabel 15 dan lampiran 16.

**Tabel 15. Hasil uji pH emulgel ekstrak daun bandotan dengan berbagai variasi konsentrasi gelling agent HPMC**

Waktu Pemeriksaan	pH $\pm$ SD		
	Formula I	Formula II	Formula III
Hari ke-1	5,91 $\pm$ 0,006	6,24 $\pm$ 0,006	6,49 $\pm$ 0,01
Hari ke-7	5,77 $\pm$ 0,006	6,15 $\pm$ 0,006	6,39 $\pm$ 0,006
Hari ke-14	5,52 $\pm$ 0,006	5,75 $\pm$ 0,006	5,97 $\pm$ 0,01
Hari ke-21	5,12 $\pm$ 0,01	5,27 $\pm$ 0,006	5,43 $\pm$ 0,02

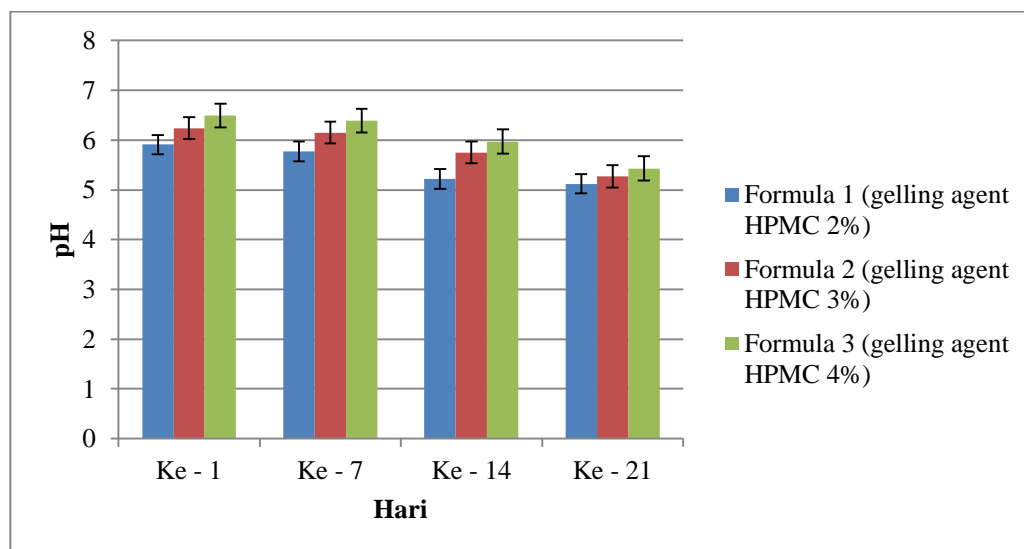
**Keterangan :**

FI = Formula 1 dengan HPMC 2%

FII = Formula 2 dengan HPMC 3%

FIII = Formula 3 dengan HPMC 4%

Hasil pemeriksaan uji pH pada tiap formula hari ke-1 hingga ke-21 menunjukkan pH formula rata-rata berkisar antara 5,12 – 6,49. Nilai pH yang memenuhi kriteria pH kulit berkisar antara pH 5 -6,5 (Fitriani *et al.* 2018). Apabila pH yang dihasilkan terlalu asam ataupun basa dapat mengakibatkan kulit menjadi kering, keriput, gatal, iritasi maupun gangguan kulit lainnya Hasil pemeriksaan uji pH dapat dikatakan memenuhi kriteria pH kulit yang baik karena masuk ke dalam kategori pH yaitu berkisar antara 5 -6,5.



**Gambar 6. Diagram hasil uji pH emulgel ekstrak daun bandotan**

Hasil pemeriksaan uji pH pada formula 1, 2, dan 3 dengan analisis tes Kolmogorov Smirnov menunjukkan nilai signifikansi  $0,893 > 0,05$ . Maka data terdistribusi normal, kemudian dilanjutkan dengan analisis anava dua jalan dengan membandingkan perubahan nilai pH tiap formula dan waktu hari ke-1, hari ke-7, hari ke-14 dan hari ke-21. Hasil ini menunjukkan data homogen, ada pengaruh tiap formula terhadap pH serta terdapat perbedaan signifikan pada setiap formula. Hasil analisis pH dapat dilihat pada lampiran 17.

**7.4 Hasil Uji Viskositas.** Viskositas merupakan kemampuan suatu fluida untuk mengalir atau dikatakan sebagai kekentalan. Viskositas yang semakin tinggi maka, akan menyebabkan kemampuan mengalir semakin berkurang. Viskositas sediaan topikal harus sesuai dengan tujuan penggunaan. Emulgel yang digunakan pada daerah yang luas, maka harus memiliki viskositas yang relatif kecil agar mudah menyebar. Viskositas yang terlalu kental dapat memberikan ketidaknyamanan saat sediaan digunakan dikarenakan tekstur sediaan yang sangat lengket. Hasil uji viskositas emulgel dapat dilihat pada tabel 16.

**Tabel 16. Hasil uji viskositas emulgel ekstrak daun bandotan dengan berbagai variasi konsentrasi gelling agent HPMC**

Waktu Pemeriksaan	Viskositas (dPas) $\pm$ SD		
	Formula I	Formula II	Formula III
Hari ke-1	80 $\pm$ 0	136,67 $\pm$ 5,77	193,33 $\pm$ 5,77
Hari ke-7	66,67 $\pm$ 5,77	106,67 $\pm$ 5,77	173,33 $\pm$ 5,77
Hari ke-14	43,33 $\pm$ 5,77	86,67 $\pm$ 5,77	133,33 $\pm$ 5,77
Hari ke-21	26,67 $\pm$ 5,77	66,67 $\pm$ 5,77	103,33 $\pm$ 5,77



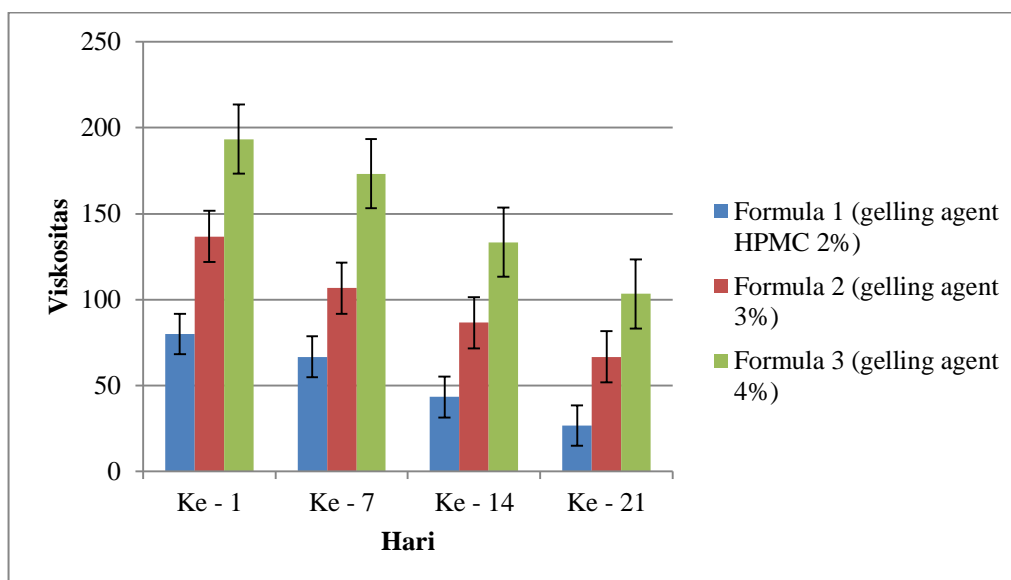
**Keterangan :**

FI = Formula 1 dengan HPMC 2%

FII = Formula 2 dengan HPMC 3%

FIII = Formula 3 dengan HPMC 4%

Hasil dari tabel 16 menunjukkan bahwa emulgel ekstrak daun bandotan yang diuji dengan alat *viskometer* menunjukkan bahwa formula 3 yang paling besar nilai viskositasnya dibandingkan dengan formula 1 dan 2. Namun, terjadi penurunan nilai viskositas dari hari ke-1 hingga ke-21 pada setiap formula, penurunan viskositas ini dipengaruhi oleh temperatur atau suhu adanya pemanasan zat mengakibatkan molekul bergerak sehingga gaya interaksi antar molekul melemah. Hasil pemeriksaan uji viskositas pada formula 1,2 dan 3 dengan analisis tes Kolmogorov Smirnov menunjukkan nilai signifikansi sebesar  $0,751 > 0,05$ . Dilanjutkan dengan menggunakan uji anava dua jalan, hasil ini menunjukkan data homogen dan ada perbedaan yang signifikan dari ke tiga formula emulgel tersebut terhadap uji viskositas. Hasil *two way* ANOVA dengan metode *Tukey test* menunjukkan bahwa formula 1, 2 dan 3 menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap masing- masing formula. Hasil analisis viskositas dapat dilihat pada lampiran 19.



**Gambar 7. Diagram hasil uji viskositas emulgel ekstrak daun bandotan**

**7.5 Hasil Uji Daya Lekat.** Uji daya lekat merupakan salah satu pengujian untuk mengetahui kekuatan emulgel melekat pada kulit. Daya lekat

menunjukkan waktu yang dibutuhkan emulgel untuk melekat pada kulit. Daya lekat semakin besar maka waktu kontak yang dibutuhkan oleh emulgel dengan kulit semakin lama sehingga absorpsi obat melalui kulit akan semakin besar. Hasil pengamatan uji daya lekat dapat dilihat pada tabel 17.

**Tabel 17. Hasil uji daya lekat emulgel ekstrak daun bandotan dengan berbagai variasi konsentrasi *gelling agent***

Waktu Pemeriksaan	Waktu (detik) $\pm$ SD		
	Formula I	Formula II	Formula III
Hari ke-1	1,73 $\pm$ 0,095	2,66 $\pm$ 0,064	3,76 $\pm$ 0,100
Hari ke-7	1,35 $\pm$ 0,05	2,19 $\pm$ 0,095	3,36 $\pm$ 0,112
Hari ke-14	1,11 $\pm$ 0,036	1,65 $\pm$ 0,06	2,61 $\pm$ 0,07
Hari ke-21	0,72 $\pm$ 0,026	1,35 $\pm$ 0,055	2,14 $\pm$ 0,05

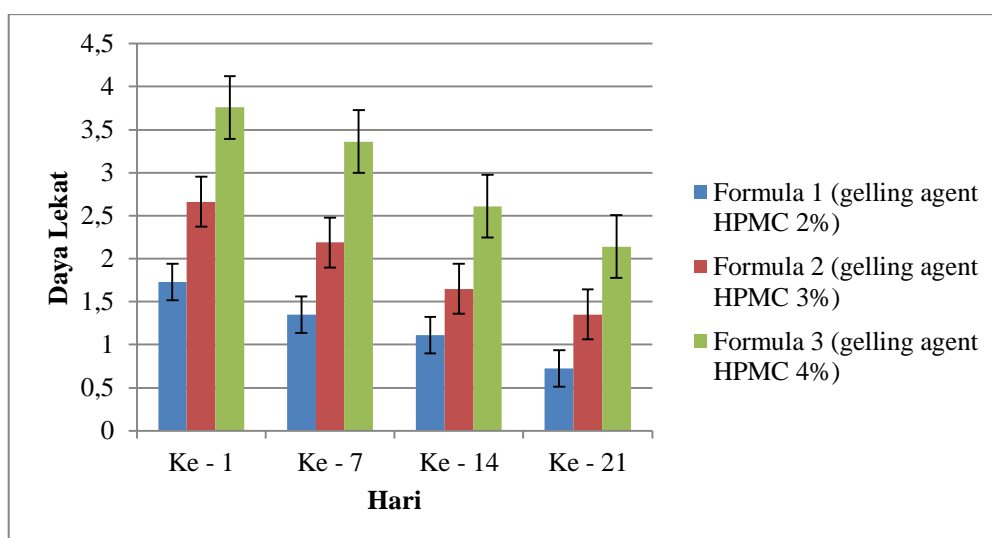
**Keterangan :**

FI = Formula 1 dengan HPMC 2%

FII = Formula 2 dengan HPMC 3%

FIII = Formula 3 dengan HPMC 4%

Dari data di atas menunjukkan bahwa formula 3 menunjukkan daya lekat yang paling besar, sedangkan formula 1 mempunyai daya lekat yang paling kecil. Ini berbanding lurus dengan nilai viskositas yang dihasilkan, dimana semakin tinggi nilai viskositas maka waktu daya lekatnya akan semakin lama. Kenaikan daya lekat terjadi seiring dengan bertambahnya konsentrasi *gelling agent* pada formula emulgel ekstrak daun bandotan menyebabkan konsistensi emulgel menjadi semakin kental sehingga kemampuan untuk melekatnya juga semakin bertambah.



**Gambar 8. Diagram hasil uji daya lekat emulgel ekstrak daun bandotan**

Hasil pemeriksaan uji daya lekat pada formula 1,2 dan 3 dengan analisis Kolmogorov Smirnov menunjukkan nilai signifikansi sebesar  $0,707 > 0,05$  sehingga data dikatakan normal. Dilanjutkan dengan menggunakan uji anava dua jalan, hasil ini menunjukkan data homogen dan terdapat perbedaan yang signifikan dari ketiga formula emulgel tersebut. Hasil statistik uji daya lekat dapat dilihat pada lampiran 21.

**7.6 Hasil Uji Daya Sebar.** Uji daya sebar dilakukan untuk mengetahui penyebaran emulgel pada permukaan kulit. Daya sebar emulgel dapat menentukan absorpsinya pada tempat pemakaian, semakin baik daya sebar maka semakin banyak emulgel diadsorpsi. Hasil pengujian daya sebar dapat dilihat pada tabel 18 berikut ini.

**Tabel 18. Hasil uji daya sebar emulgel ekstrak daun bandotan dengan berbagai variasi konsentrasi *gelling agent***

Formula	Beban (g)	Diameter Penyebaran (cm) $\pm$ SD			
		Hari ke-1	Hari ke-7	Hari ke-14	Hari ke-21
Formula I	49,1101	4,38 $\pm$ 0,06	4,48 $\pm$ 0,05	4,93 $\pm$ 0,60	5,36 $\pm$ 0,01
	99,1101	5,03 $\pm$ 1,66	5,17 $\pm$ 1,70	5,29 $\pm$ 1,63	5,56 $\pm$ 1,92
	149,1101	5,54 $\pm$ 1,63	5,54 $\pm$ 1,65	5,72 $\pm$ 1,63	6,13 $\pm$ 1,82
	199,1101	6 $\pm$ 1,69	6,17 $\pm$ 1,72	6,34 $\pm$ 1,72	6,61 $\pm$ 1,86
Formula II	49,1101	3,56 $\pm$ 0,07	3,67 $\pm$ 0,07	3,78 $\pm$ 0,10	4,3 $\pm$ 0,067
	99,1101	4,35 $\pm$ 1,41	4,59 $\pm$ 1,48	4,85 $\pm$ 1,56	5,48 $\pm$ 1,77
	149,1101	4,56 $\pm$ 1,36	5,04 $\pm$ 1,49	5,48 $\pm$ 1,60	5,92 $\pm$ 1,76
	199,1101	5,27 $\pm$ 1,45	5,59 $\pm$ 1,57	5,86 $\pm$ 1,67	6,29 $\pm$ 1,80
Formula III	49,1101	3,39 $\pm$ 0,06	3,59 $\pm$ 0,08	3,82 $\pm$ 0,05	4,21 $\pm$ 0,08
	99,1101	4,08 $\pm$ 1,32	4,26 $\pm$ 1,38	4,57 $\pm$ 1,49	4,79 $\pm$ 1,58
	149,1101	4,46 $\pm$ 1,31	4,57 $\pm$ 1,35	4,76 $\pm$ 1,43	5,31 $\pm$ 1,55
	199,1101	4,84 $\pm$ 1,36	5,15 $\pm$ 1,43	5,55 $\pm$ 1,52	5,75 $\pm$ 1,61

**Keterangan :**

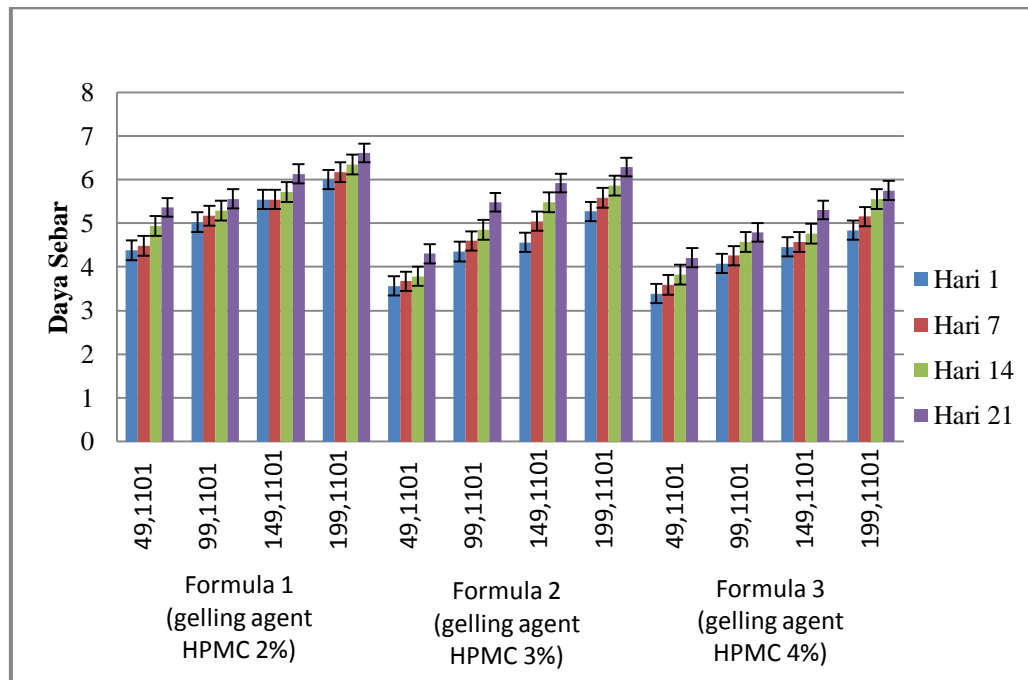
FI = Formula 1 dengan HPMC 2%

FII = Formula 2 dengan HPMC 3%

FIII = Formula 3 dengan HPMC 4%

Dari data di atas menunjukkan bahwa emulgel dengan konsentrasi *gelling agent* 1% menunjukkan diameter daya sebar yang paling besar. Emulgel dengan konsentrasi *gelling agent* yang semakin besar maka daya sebar akan semakin kecil, hal ini dikarenakan penambahan *gelling agent* yang lebih banyak menyebabkan konsistensi emulgel pada formula 3 lebih kental sehingga emulgel

kurang dapat menyebar dengan adanya tekanan yang besar. Hasil ini sesuai dengan semakin tinggi nilai viskositas maka daya sebarannya akan semakin kecil.



**Gambar 9. Diagram hasil uji daya sebar emulgel ekstrak daun bandotan**

Menurut Rachmalia *et al.* (2016), daya sebar yang baik menyebabkan kontak antara obat dengan kulit menjadi luas, sehingga absorpsi obat ke kulit berlangsung cepat. Persyaratan daya sebar yang baik untuk sediaan topikal adalah 5-7 cm. Hasil uji daya sebar emulgel ekstrak daun bandotan konsentrasi *gelling agent* 2%, 3%, dan 4% memenuhi kriteria sediaan topikal yang baik, karena masuk dalam persyaratan daya sebar sediaan topikal yang baik yaitu 5-7 cm.

Hasil pemeriksaan uji daya sebar ketiga formula dengan tes Kolmogorov Smirnov seperti pada lampiran 23 menunjukkan nilai signifikansi  $0,548 > 0,05$  ini dikatakan bahwa data terdistribusi normal. Setelah itu dilakukan uji anava dua jalan, hasilnya menunjukkan bahwa data homogen dan daya sebar setiap formula terdapat perbedaan yang signifikan.

**7.7 Hasil Uji Stabilitas Freeze And Thaw.** *Freeze and thaw* adalah penyimpanan sediaan emulgel pada dua suhu yang berbeda untuk melihat pengaruh suhu terhadap pemisahan fase krim dan gel dan bertujuan untuk

mengetahui terjadinya ketidakstabilan emulgel. Hasil *freeze and thaw* dapat dilihat pada tabel 19.

**Tabel 19. Hasil uji stabilitas *freeze and thaw* emulgel ekstrak daun bandotan dengan berbagai variasi konsentrasi *gelling agent***

Siklus	Stabilitas		
	Formula I	Formula II	Formula III
1	Stabil	Stabil	Stabil
2	Stabil	Stabil	Stabil
3	Stabil	Stabil	Stabil
4	Memisah	Stabil	Stabil
5	Memisah	Stabil	Stabil

**Keterangan :**

FI = Formula 1 dengan HPMC 2%

FII = Formula 2 dengan HPMC 3%

FIII = Formula 3 dengan HPMC 4%

Hasil uji stabilitas metode *freeze thaw* menunjukkan formula 1 mengalami ketidakstabilan yakni berupa pemisahan antara fase emulsi dan gel pada siklus ke-4 hingga siklus ke-5, hal ini terjadi karena adanya suhu tinggi yang ekstrim menyebabkan air mengalami penguapan. Penguapan atau hilangnya air dapat disebabkan jika jumlah humektan pada formula yang mencegah hilangnya air memiliki jumlah yang kurang. Hasil uji stabilitas *freeze and thaw* dapat dilihat pada lampiran 9.

## 8. Pembuatan Konsentrasi Larutan Uji

Pelarut yang digunakan adalah DMSO. DMSO 100% terlebih dahulu diencerkan menjadi 5% dengan cara, dipipet DMSO 100% sebanyak 5 ml kemudian dimasukkan dalam labu takar 100 ml ditambahkan aquadest sampai tanda batas setelah itu dilakukan sterilisasi menggunakan *autoclaf*. Ekstrak daun bandotan ditimbang sebanyak 4 gram kemudian dilarutkan dengan 10 ml DMSO 5%. Dari larutan induk diencerkan menjadi beberapa konsentrasi yaitu 10%, 20% dan 30%. Hasil pembuatan konsentrasi larutan uji dapat dilihat pada lampiran 10.

## 9. Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Biakan murni bakteri *Staphylococcus aureus* diambil satu sampai dua ose kemudian dimasukkan dalam tabung yang berisi media BHI lalu dilakukan *vortex*, kemudian kekeruhan hasil suspensi bakteri uji disesuaikan dengan kekeruhan Mc Farland 0,5 ini bertujuan untuk menggantikan perhitungan bakteri satu persatu.

Hasil pembuatan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada lampiran 11.

## **10. Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

**10.1 Identifikasi Dengan Media Selektif VJA.** Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan cara menginokulasikan bakteri uji pada medium VJA (*Vogel Johnson Agar*) yang sebelumnya sudah ditambahkan 3 tetes kalium tellurite 1% dalam cawan kemudian diinkubasi pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 24 sampai 48 jam. Berdasarkan pengamatan koloni yang dihasilkan berwarna hitam dan disekitar media berwarna kuning. Hal ini dikarenakan bakteri *Staphylococcus aureus* dapat memfermentasikan manitol pada media menjadi asam dan mereduksi tellurit sehingga membentuk koloni warna hitam (Jawetz *et al.* 2005). Hasil pengamatan dapat dilihat pada lampiran 11.

**10.2 Identifikasi Pewarnaan Gram.** Identifikasi *Staphylococcus aureus* secara morfologi dapat mempertahankan warna violet dari Gram A (kristal violet) pada pewarnaan gram, karena memiliki lapisan peptidoglikan yang lebih tebal daripada bakteri gram negatif dan disebabkan kompleks zat warna kristal violet-iodium tetap dipertahankan meskipun diberi larutan pemucat (Talaro 2005). Hasil pengamatan dengan melakukan pewarnaan Gram pada mikroskop dengan perbesaran (100x) akan tampak berwarna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol seperti buah anggur. Tujuan pewarnaan gram ialah untuk melihat apakah bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan gram positif atau gram negatif. Perbedaan struktur luar dinding sel bakteri gram positif dan gram negatif mengakibatkan terjadinya perbedaan warna pada akhir prosedur pewarnaan gram. Dinding luar sel bakteri gram positif terdiri dari lapisan peptidoglikan yang tebal dan lapisan lipopolisakarida yang tipis sedangkan bakteri gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan yang tipis dan lapisan lipopolisakarida yang tebal. Saat pemberian kristal violet dan iodin bakteri gram positif akan mempertahankan zat warna kristal violet karena tingginya kandungan peptidoglikan yang berada di dinding sel. Pemberian alkohol (etanol) pada pewarnaan gram menyebabkan terekstrasinya lipid sehingga memperkecil permeabilitas dinding sel gram positif.

Dinding selnya terdehidrasi dengan perlakuan alkohol, pori – porinya mengkerut, daya rembes dinding dan membran menurun sehingga pewarnaan safranin tidak dapat masuk kedalam sel sehingga sel tetap berwarna ungu (Pelczar & Chan 2007). Hasil identifikasi secara mikroskopis dapat dilihat pada lampiran 11.

**10.3 Identifikasi Biokimia.** Identifikasi biokimia bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan menggunakan uji katalase dan uji koagulase. Uji katalase bertujuan untuk membedakan *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus*, dimana *Streptococcus* memberikan reaksi negatif sedangkan *Staphylococcus aureus* hasilnya positif. Hasil positif bersifat katalase ditandai dengan adanya gelembung udara dengan adanya penambahan  $H_2O_2$  3%, dimana  $H_2O_2$  yang ditambahkan akan terurai menjadi  $H_2O$  (air) dan  $O_2$  (oksigen). Mekanisme enzim katalase memecah  $H_2O_2$  yaitu saat melakukan respirasi, bakteri menghasilkan berbagai macam komponen salah satunya  $H_2O_2$ . Bakteri yang memiliki kemampuan memecah  $H_2O_2$  dengan enzim katalase maka dengan segera membentuk suatu sistem pertahanan dari sifat toksik  $H_2O_2$  yang dihasilkan sendiri. Hasil identifikasi fisiologi berdasarkan katalase dapat dilihat pada lampiran 12.

Uji koagulase bertujuan untuk membedakan antara bakteri *Staphylococcus aureus* dengan *Staphylococcus epidermidis*, karena *Staphylococcus aureus* akan membentuk gumpalan – gumpalan putih. Uji koagulase menggunakan plasma darah kelinci yang diberi asam sitrat, diencerkan (1:5) ditambah satu ose biakan bakteri, diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}C$ . Uji koagulase 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* mempunyai enzim koagulase yang berfungsi untuk menggumpalkan plasma karena perubahan fibrinogen menjadi fibrin. Hasil identifikasi menunjukkan hasil positif terjadi perubahan sehingga terjadi penggumpalan putih dalam waktu 1 jam. Hasil gambar identifikasi secara koagulase dapat dilihat pada lampiran 12.

## 11. Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Secara Difusi Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Ekstrak daun bandotan dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara difusi. Pengujian ini dilakukan menggunakan ekstrak daun bandotan dengan konsentrasi 40%, 30%, 20% dan 10% dengan menggunakan kontrol positif serbuk klindamisin, kontrol negatif DMSO 5%, *gelling agent* HPMC, aquadest, nipagin dan nipasol.

Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun bandotan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan metode difusi dalam waktu 24 jam pada suhu 37<sup>0</sup>C. Adanya daerah jernih disekitar sumuran yang tidak ditumbuhi bakteri menunjukkan bahwa ekstrak daun bandotan memiliki daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Hasil diameter hambat pengujian ekstrak daun bandotan dapat dilihat pada lampiran 14.

Hasil uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi menunjukkan bahwa ekstrak daun bandotan memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Ekstrak daun bandotan memiliki daya hambat pada konsentrasi 40%, rata – rata diameter hambar sebesar 20,78 mm, 30% sebesar 19,3 mm, 20% sebesar 18,2 mm serta 10% sebesar 16,57 mm sedangkan kontrol positif klindamisin memiliki rata – rata diameter hambat sebesar 28,3 mm. Uji aktivitas antibakteri tidak terlihat pada pelarut yang digunakan pada sediaan yaitu DMSO 5% dan aquadest, serta pengawet dan *gelling agent* yang digunakan tidak menunjukkan aktivitas antibakteri karena tidak memiliki daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil aktivitas antibakteri dapat dilihat pada tabel 20.

**Tabel 20. Diameter hambat uji antibakteri ekstrak daun bandotan terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

Sampel Konsentrasi	Diameter Hambat (mm)			Rata – rata ± SD	
	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III		
Ekstrak Daun Bandotan	10%	18	16,5	15,2	16,57 ± 1,4
	20%	19,7	18,4	16,5	18,2 ± 1,6
	30%	19,2	20,3	18,4	19,3 ± 0,9
	40%	21,75	21,4	19,2	20,78 ± 1,4
K- (DMSO)	5%	0	0	0	0 ± 0
K + (Clindamycin)	150 mg/ml	30,2	27	27,2	28,13 ± 1,8
Nipagin	1%	0	0	0	0 ± 0
Nipasol	1%	0	0	0	0 ± 0
HPMC	1%	0	0	0	0 ± 0
Aquadest	1%	0	0	0	0 ± 0



## 12. Pengujian Penyembuhan Infeksi

Hewan uji yang digunakan adalah kelinci sebanyak 5 ekor dengan umur  $\pm$  3 bulan dengan berat 2-3 kg. Hewan uji kelinci diaklimatisasi selama 5 hari dicukur bulu pada punggung kelinci kemudian dipilih 5 lokasi penyuntikan dibagian kiri dan dibagian kanan dengan jarak masing - masing lokasi  $\pm$  5 cm. Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 diinfeksi secara subkutan sebanyak 0,2 ml pada masing - masing lokasi kulit pada punggung kelinci yang telah disiapkan. Lokasi yang telah disuntik ditutup dengan kasa steril dan aluminium foil untuk mencegah kontaminasi. Emulgel diberikan setelah 48 jam pada daerah yang diinfeksi. Emulgel ekstrak daun bandotan dengan konsentrasi *gelling agent* HPMC 2%, 3%, dan 4% dioleskan pada 3 lokasi kulit di punggung kiri kelinci, 2 lokasi di punggung kanan, sebagai kontrol negatif dioleskan basis emulgel, kontrol positif dioleskan gel *clindamycin* 1,2%, kontrol normal tanpa perlakuan. Emulgel dioleskan 2 kali sehari, pengamatan penyembuhan infeksi dapat dilihat melalui hilangnya nanah dan mengecilnya diameter luka infeksi. Aktivitas penyembuhan infeksi dapat dilihat pada tabel 20.

**Tabel 21. Persentase penyembuhan infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 setelah pengolesan emulgel ekstrak bandotan dengan berbagai konsentrasi *gelling agent* HPMC**

Hari	Formula			Kontrol	
	F I	F II	F III	Positif	Negatif
Ke - 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Ke - 2	30,82 $\pm$ 5,95	53,07 $\pm$ 6,38	38,32 $\pm$ 8,81	58,35 $\pm$ 8,18	15,99 $\pm$ 5,94
Ke - 4	54,06 $\pm$ 8,32	75,59 $\pm$ 4,37	60,94 $\pm$ 10,11	81,72 $\pm$ 4,36	28,26 $\pm$ 5,79
Ke - 6	75,32 $\pm$ 6,41	89,95 $\pm$ 2,33	77,39 $\pm$ 5,71	95,65 $\pm$ 1,82	49,50 $\pm$ 7,37
Ke - 8	88,38 $\pm$ 3,42	96,72 $\pm$ 1,28	88,38 $\pm$ 3,21	99,45 $\pm$ 0,73	64,12 $\pm$ 5,98
Ke - 10	94,67 $\pm$ 3,35	98,55 $\pm$ 1,53	96,77 $\pm$ 1,34	100 $\pm$ 0	73,48 $\pm$ 4,86
Ke - 12	97,86 $\pm$ 1,26	99,82 $\pm$ 0,24	99,06 $\pm$ 0,91	100 $\pm$ 0	77,49 $\pm$ 4,63
Ke - 14	99,34 $\pm$ 0,66	100 $\pm$ 0	99,72 $\pm$ 0,25	100 $\pm$ 0	86,85 $\pm$ 2,19
Ke - 16	99,6 $\pm$ 0,23	100 $\pm$ 0	100 $\pm$ 0	100 $\pm$ 0	93,75 $\pm$ 1,21
Ke - 18	100 $\pm$ 0	100 $\pm$ 0	100 $\pm$ 0	100 $\pm$ 0	97,96 $\pm$ 1,23
Ke - 20	100 $\pm$ 0	100 $\pm$ 0	100 $\pm$ 0	100 $\pm$ 0	99,29 $\pm$ 0,97
Ke - 22	100 $\pm$ 0	100 $\pm$ 0	100 $\pm$ 0	100 $\pm$ 0	100 $\pm$ 0

**Keterangan :**

Formula 1 = emulgel ekstrak daun bandotan dengan HPMC 2%

Formula 2 = emulgel ekstrak daun bandotan dengan HPMC 3%

Formula 3 = emulgel ekstrak daun bandotan dengan HPMC 4%

K + = gel *Clindamycin* 1,2%

K - = emulgel dengan HPMC 4%

Berdasarkan tabel diatas menunjukkan hasil persentase pengecilan diameter dan waktu penyembuhan luka infeksi bakteri dengan tiga konsentrasi yaitu menggunakan *gelling agent* HPMC 2%, 3% dan 4% pada punggung kelinci. Emulgel ekstrak daun bandotan dengan konsentrasi *gelling agent* HPMC 2% dapat menyembuhkan luka infeksi pada hari ke-18. Konsentrasi emulgel ekstrak daun bandotan dengan *gelling agent* HPMC 3% dapat menyembuhkan luka infeksi pada hari ke-14. Konsentrasi emulgel ekstrak daun bandotan dengan *gelling agent* HPMC 4% dapat menyembuhkan luka infeksi pada hari ke-16, kontrol negatif dapat menyembuhkan luka infeksi pada hari ke-22 serta kontrol positif dapat menyembuhkan luka infeksi pada hari ke-10. Hal ini menunjukkan emulgel dengan konsentrasi *gelling agent* HPMC 3% waktu penyembuhan serta mengecilnya diameter luka infeksi lebih cepat dibandingkan dengan formula 1 dan formula 3. Formula 2 hasil penyembuhannya hampir menyamai kontrol positif yang digunakan. Ini dikarenakan sifat fisik dari emulgel ekstrak daun bandotan pada formula 2 memiliki nilai viskositas yang tidak relatif tinggi sehingga sediaan saat digunakan memberikan kenyamanan, memiliki daya lekat yang cukup baik sehingga tidak terlalu lengket saat digunakan pada kulit serta memiliki daya sebar yang baik sehingga dapat meningkatkan adsorpsi zat aktif ke dalam kulit.

Kandungan kimia dari ekstrak daun bandotan yang diduga sebagai aktivitas penyembuhan luka infeksi adalah senyawa flavonoid dan saponin dimana senyawa flavonoid dapat menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membranel dan menghambat metabolisme energi. Mekanisme antibakteri flavonoid menghambat sintesis asam nukleat adalah cincin A dan B yang memegang peran penting dalam proses interkelasi atau ikatan hidrogen dengan menumpuk basa asam nukleat yang menghambat pembentukan DNA dan RNA. Letak gugus hidroksil di posisi 2',4' atau 2',6' dihidroksilasi pada cincin B dan 5,7 dihidroksilasi pada cincin A berperan penting terhadap aktivitas penyembuhan infeksi. Flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri. Flavonoid dapat menghambat metabolisme energi dengan cara

menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri. Flavonoid menghambat pada sitokrom C reduktase sehingga pembentukan metabolisme terhambat. Energi dibutuhkan bakteri untuk biosintesis makromolekul. Serta mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri yaitu dapat menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel. Saponin dapat menjadi penyembuhan infeksi karena zat aktif permukaannya mirip detergen, akibatnya saponin akan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membran. Rusaknya membran sel ini sangat mengganggu kelangsungan hidup bakteri. Saponin berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan kemudian mengikat membran sitoplasma sehingga mengganggu dan mengurangi kestabilan membran sel. Hal ini menyebabkan sitoplasma bocor, keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel. Agen antimikroba yang mengganggu membran sitoplasma bersifat bakterisida. Emulgel ekstrak daun bandotan dapat digunakan sebagai antibakteri atau penyembuhan luka infeksi dapat dilihat pula pada penurunan jumlah koloni bakteri yang diambil pada nanah di punggung kelinci yang kemudian ditaman di media VJA. Hasil ini dapat dilihat pada lampiran 15.

Hasil pemeriksaan waktu penyembuhan infeksi bakteri serta pengecilan diameter luka infeksi secara statistik ketiga formula dengan tes Kolmogorov Smirnov seperti pada lampiran 25 menunjukkan nilai signifikansi  $0,263 > 0,05$  ini menunjukkan bahwa data terdistribusi normal. Setelah itu dilakukan uji anava dua jalan, hasilnya menunjukkan bahwa data homogen. Formula 1 dan 3 memiliki nilai sig  $< 0,05$  sehingga tidak terdapat perbedaan signifikan pada kedua formula. Pada formula 2 dan kontrol positif memiliki nilai sig  $< 0,05$  sehingga juga tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar keduanya. Kontrol negatif menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap seluruh formula.