

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Identifikasi determinasi tanaman

Identifikasi tanaman pada penelitian ini dilakukan di Laboratorium Sistematika Tumbuhan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Identifikasi 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 tanaman dengan morfologi. Hasil determinasi menunjukkan bahwa kedua tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar yaitu lengkuas merah (*Alpinia purpurata* K. Schum.) dan bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.). Hasil identifikasi dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Pengambilan bahan

Tanaman yang digunakan adalah lengkuas merah dan bangle diambil dari BPTO (Balai Penelitian Tanaman Obat), Tawangmangu, Jawa Tengah pada bulan Januari 2019. Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.

3. Isolasi minyak atsiri dengan metode destilasi uap air

Isolasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle menggunakan metode destilasi uap air, keuntungan menggunakan metode ini adalah alat yang digunakan sederhana, dapat menghasilkan minyak atsiri dengan jumlah yang banyak, sedangkan kerugian dari metode ini adalah waktu yang dibutuhkan lebih lama untuk mendapatkan minyak atsiri yang banyak.

Hasil destilasi minyak atsiri dengan metode uap air tanaman lengkuas merah diperoleh rendemen 0,14% dan bangle diperoleh rendemen 0,2%. Rendemen ditentukan untuk mengetahui perbandingan antara jumlah minyak yang diperoleh dengan jumlah tanaman yang digunakan. Perbedaan hasil rendemen minyak atsiri yang diperoleh dapat dipengaruhi oleh usia simplisia saat panen dan

musim saat memanen tanaman tersebut, suhu, tekanan yang digunakan, semakin tinggi tekanan yang digunakan maka akan meningkatkan rendemen minyak atsiri, dan perbedaan proses destilasi (Guenther, 2006). Perhitungan lengkap dapat dilihat pada lampiran 7.

4. Analisa minyak atsiri

4.1. Pengamatan organoleptis minyak atsiri. Hasil uji organoleptis dapat dilihat dengan pengamatan secara organoleptik. Hasil pengamatan organoleptik pada minyak atsiri lengkuas merah dan bangle dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil pemeriksaan organoleptik minyak atsiri lengkuas merah dan bangle

Minyak atsiri	Warna	Bau	Bentuk
Lengkuas merah	Kuning kehijauan	Khas lengkuas merah	Cair
Bangle	Kuning muda	Khas bangle	Cair

Minyak atsiri hasil destilasi kedua sampel ditempatkan dalam sebuah tempat kaca yang bersih dan jernih, kemudian diamati warna dari minyak atsiri. Warna minyak atsiri lengkuas merah adalah kuning kehijauan, sedangkan warna minyak atsiri bangle adalah kuning muda. Bau minyak atsiri pada sampel memiliki bau yang khas sesuai dari tanaman asalnya. Hasil gambar dapat dilihat pada lampiran 8.

4.2. Identifikasi minyak atsiri. Hasil identifikasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle seperti yang terlampir dalam penelitian dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil identifikasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle

Zat aktif	Pemeriksaan	Hasil	Pustaka
Minyak atsiri lengkuas merah dan bangle	1 tetes minyak atsiri diteteskan pada kertas saring	Minyak atsiri menguap tanpa meninggalkan noda	Minyak atsiri tidak meninggalkan noda bisa diteteskan pada kertas saring (Gunawan dan Mulyani 2004)
	1 tetes minyak atsiri diteteskan 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 lengkuas merah dan bangle menunjukkan pada saat 1 tetes minyak atsiri diteteskan pada permukaan air, minyak atsiri terlihat menyebar dipermukaan air dan air tidak keruh, pada saat diteteskan pada kertas saring, minyak atsiri tidak meninggalkan noda. Hasil gambar dapat dilihat pada lampiran 8.

4.3. Penetapan indeks bias minyak atsiri. Hasil pemeriksaan indeks bias dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Indeks bias minyak atsiri lengkuas merah dan bangle

Sampel	Indeks bias praktek	Indeks bias pustaka (25°C)
Lengkuas merah	1,487	1,3-1,7 (Guenther, 1987)
Bangle	1,490	1,4750 (Balitro, 2006)

Pemeriksaan indeks bias minyak atsiri lengkuas merah dan bangle yaitu sebesar 1,487 dan 1,490 menunjukkan hasil indeks bias yang diteliti sesuai dengan pustaka. Indeks bias pada minyak atsiri lengkuas merah adalah 1,3-1,7 dan Indeks bias pada minyak atsiri bangle adalah 1,4750, bilangan angka tersebut menunjukkan perbandingan antara sinus sudut datang dengan sinus sudut bias cahaya yang diukur dengan alat refraktometer. Indeks bias minyak atsiri berhubungan erat dengan komponen-komponene yang tersusun dalam minyak atsiri yang dihasilkan. Komponen-komponen minyak atsiri dapat mempengaruhi nilai indeks biasnya, semakin banyak komponen berantai panjang seperti sesquiterpen maka kerapatan medium minyak atsiri akan bertambah sehingga cahaya yang datang akan lebih sukar untuk dibiaskan. Hal ini yang menyebabkan indeks bias minyak atsiri lebih besar (Wiyono *et al* 2000). Hasil perhitungan indeks bias dapat dilihat pada lampiran 9.

4.4. Penetapan bobot jenis minyak atsiri. Hasil pemeriksaan bobot jenis minyak atsiri lengkuas merah dan bangle pada penelitian dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil penetapan bobot jenis minyak atsiri lengkuas merah dan bangle

Bobot pikno kosong (g) (W1)	Bobot pikno + air (g) (W2)	Bobot pikno + minyak (g) (W3)		Bobot jenis	
		Lengkuas merah	Bangle	Lengkuas merah	Bangle
10,875	11,287	11,175	11,195	0,728	0,776
10,873	11,285	11,173	11,193	0,728	0,776
10,875	11,287	11,175	11,195	0,728	0,776
Rata-rata				0,728	0,776

Hasil bobot jenis minyak atsiri lengkuas merah menurut hasil penelitian adalah 0,728 dan bangle adalah 0,776. 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. Hasil perhitungan bobot jenis dapat dilihat pada lampiran 10.

4.5. Penetapan kelarutan dalam alkohol. Hasil kelarutan minyak atsiri lengkuas merah dan bangle dalam etanol 70% dengan perbandingan 1:10 (artinya 1 ml minyak atsiri dilarutkan dalam 10 ml etanol 70%). Uji kelarutan dalam alkohol memberi gambaran apakah suatu minyak mudah larut atau tidak. Semakin mudah larut minyak dalam alkohol maka semakin banyak kandungan senyawa polar dalam minyak. Kelarutan alkohol merupakan faktor penting dalam pengujian minyak atsiri karena dapat menentukan kualitas minyak atsiri 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-komponene 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 terpen 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 (biasanya alkohol 70%) maka kualitas minyak atsirinya semakin baik. Hasil gambar kelarutan minyak atsiri lengkuas merah dan bangle dalam alkohol 70% dapat dilihat pada Lampiran 8.

4.6. Penetapan minyak atsiri secara KLT (Kromatografi Lapis Tipis). Eluen yang digunakan untuk pemisahan minyak atsiri secara KLT pada penelitian ini adalah toluen : etil asetat (93: 7). Bercak-bercak dideteksi pada UV_{254} nm dan UV_{365} nm menggunakan pereaksi semprot anisaldehyd-asam sulfat.

Tabel 6. Hasil penetapan minyak atsiri lengkuas merah dan bangle secara KLT

Sampel	Nilai Rf (cm)			Warna bercak Anisaldehyd-asam sulfat
	1	2	3	
A (minyak atsiri lengkuas merah)	0,88	0,58	0,43	Merah-keunguan
B (minyak atsiri bangle)	0,74	0,43		Merah-keunguan

Berdasarkan hasil KLT, bercak-bercak komponen minyak atsiri menunjukkan warna merah-keunguan setelah disemprot dengan pereaksi anisaldehyd-asam sulfat. Hal ini menandakan bahwa minyak atsiri pada sampel mengandung terpenoid. Kemungkinan minyak atsiri rimpang lengkuas merah mengandung senyawa golongan terpen dengan nilai Rf 0,88, 0,58, dan 0,43. Minyak atsiri bangle memiliki nilai Rf 0,74 dan 0,43. Hasil identifikasi dengan metode KLT ini sebenarnya belum dapat menentukan secara spesifik senyawa yang terkandung dalam minyak atsiri tersebut. Hasil gambar dan harga Rf yang telah dihitung ditunjukkan pada lampiran 8.

5. Hasil pengujian mutu fisik gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle

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

5.1 Hasil uji organoleptis. Pemeriksaan organoleptis dilakukan untuk mendeskripsikan warna, bau dan konsistensi dari sediaan gel. Sediaan yang dihasilkan sebaiknya memiliki warna yang menarik, bau yang menyenangkan, dan konsistensi yang bagus agar nyaman dalam penggunaan. Hasil yang diperoleh terhadap pemeriksaan organoleptis gel dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Hasil uji organoleptis gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle dengan berbagai konsentrasi minyak atsiri

Pemeriksaan	Waktu	Kontrol (-)	Formula I	Formula II	Formula III
Warna	Hari ke 1	Bening	PS	PS	PS
	Hari ke 21	Bening	PS	PS	PS
Bau	Hari ke 1	*	**	**	**
	Hari ke 21	*	**	**	**
Konsistensi	Hari ke 1	+++	+++	++	+
	Hari ke 21	+++	+++	++	+

Keterangan :

PS	: Putih susu
**	: Menunjukkan bau khas kombinasi lengkuas merah dan bangle yang lebih intensif
*	: Tidak ada bau
+++	: Menunjukkan konsistensi gel yang kental
++	: Menunjukkan konsistensi gel yang agak kental
+	: Menunjukkan konsistensi gel yang agak encer
Formula I	: Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 2%
Formula II	: Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 4%
Formula III	: Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 8%
Kontrol (-)	: Basis gel tanpa kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle

Tabel 7 menunjukkan bahwa dari hari ke 1 sampai hari ke 21 gel berwarna putih susu pada formula I, II, dan III yang dikarenakan minyak atsiri bersifat non polar bercampur dengan air yang bersifat polar disertai dengan pengadukan yang keras saat pembuatan, sedangkan pada kontrol (-) warnanya bening karena hanya berisi basis gel saja tanpa ada minyak atsiri.

Gel yang dihasilkan menunjukkan bahwa pada penyimpanan hari ke 1 bau minyak atsiri lengkuas merah dan bangle yang lebih intensif dan setelah penyimpanan hari ke 21 bau minyak atsiri lengkuas merah dan bangle masih tetap intensif. Hal ini kemungkinan disebabkan minyak atsiri lengkuas merah dan bangle yang telah dikombinasi bisa bertahan lama dalam campuran basis yang jumlahnya lebih besar.

Konsistensi yang dihasilkan dari setiap formula berbeda-beda, hal ini disebabkan karena kandungan minyak atsiri dalam setiap formula berbeda-beda, konsistensi pada formula I kental karena kandungan dari kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 2% dalam 100 gram gel dengan basis air (hidrogel), sedangkan konsistensi formula II agak kental dikarenakan kandungan dari kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 4% dalam 100 gram gel dengan basis air (hidrogel), sedangkan konsistensi formula III agak encer dikarenakan kandungan dari kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 8% dalam 100 gram gel dengan basis air (hidrogel), dan pada kontrol (-) konsistensinya paling kental karena tidak ada kandungan minyak atsiri lengkuas merah dan bangle. Semakin besar kandungan minyak atsiri yang digunakan, maka menghasilkan gel dengan konsistensi semakin encer. Hasil gambar ditunjukkan pada lampiran 11.

5.2 Hasil uji homogenitas. Uji homogenitas sediaan dimaksudkan untuk mengetahui apakah gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle dalam sediaan sudah homogen atau belum, hal ini penting dilakukan karena homogenitas 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.

Tabel 8. Hasil homogenitas sediaan gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle dengan berbagai konsentrasi minyak atsiri

Formula	Hari ke 1	Hari ke 21
Kontrol (-)	Homogen	Homogen
Formula I	Homogen	Homogen
Formula II	Homogen	Homogen
Formula III	Homogen	Homogen

Keterangan:

Formula I : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 2%
 Formula II : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 4%
 Formula III : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 8%
 Kontrol (-) : Basis gel tanpa kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle

Hasil pengamatan terhadap homogenitas menunjukkan bahwa gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle kontrol (-), formula I, formula II, dan formula III memiliki homogenitas yang baik karena tidak terbentuk partikel yang memisah, fase terdispersi terdistribusi merata pada fase pendispersi. Uji homogenitas dilakukan dengan cara mengoleskan gel pada sekeping kaca atau objek glass menunjukkan hasil yang homogen yaitu terlihat merata dan tidak ada gumpalan partikel gel. Hasil gambar ditunjukkan pada lampiran 12.

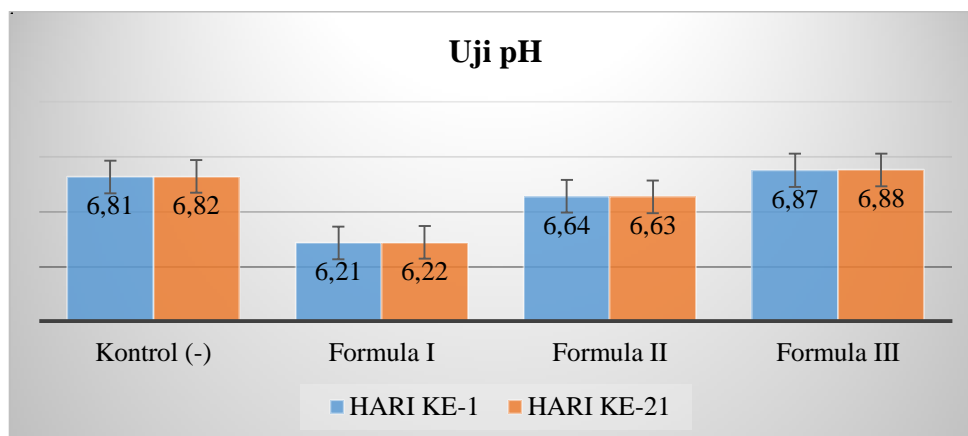
5.3 Hasil uji pH gel. Uji ini dilakukan untuk mengetahui apakah pH dalam sediaan gel memenuhi persyaratan atau tidak untuk sediaan topikal. Hasil penentuan pH sediaan gel dengan menggunakan pH meter dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Hasil pemeriksaan pH gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle dengan berbagai konsentrasi minyak atsiri

Waktu pemeriksaan	pH ± SD			
	Kontrol (-)	Formula I	Formula II	Formula III
Hari ke 1	6,81±0,01	6,21±0,01	6,64±0,01	6,87±0,01
Hari ke 21	6,82±0,01	6,22±0,01	6,63±0,01	6,88±0,01

Keterangan:

Formula I : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 2%
 Formula II : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 4%
 Formula III : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 8%
 Kontrol (-) : Basis gel tanpa kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle



Gambar 13. Hasil uji pH gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle

Keterangan:

- Formula I : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 2%
- Formula II : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 4%
- Formula III : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 8%
- Kontrol (-) : Basis gel tanpa kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle

Hasil pengamatan uji pH gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle pada tabel 9 menunjukkan bahwa pada penyimpanan selama 21 hari sediaan gel sedikit mengalami perubahan rata-rata pH.

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan SPSS, hasil uji *Kolmogorof-Smirnov* hari ke 1 diperoleh signifikansi $0,473 > 0,05$ dan pada hari ke 21 diperoleh signifikansi $0,487 > 0,05$, maka dapat disimpulkan data tersebut terdistribusi normal. Kemudian dilanjutkan dengan *uji paired samples test*, dari hasil uji tersebut diperoleh signifikansi $> 0,05$ maka dapat disimpulkan bahwa rata-rata uji pH gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle pada hari ke 1 dan hari ke 21 tidak berbeda signifikan secara nyata sehingga sediaan gel dapat dikatakan mempunyai stabilitas pH yang baik..

Perubahan pH kemungkinan disebabkan oleh pengaruh lingkungan seperti gas-gas di udara yang bersifat asam yang tidak bisa masuk ke dalam gel, sehingga dapat dikatakan pH sediaan gel stabil pada penyimpanan. Berdasarkan hasil penelitian diketahui pH sediaan gel dalam rentang 6,21 – 6,87, 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 memiliki pH yang sama dengan pH normal kulit. Kesesuaian pH kulit dengan pH sediaan topikal mempengaruhi penerimaan kulit terhadap sediaan. Sediaan topikal yang ideal

adalah tidak mengiritasi kulit. Kemungkinan iritasi kulit akan sangat besar apabila sediaan terlalu asam atau terlalu basa. Hasil data dapat dilihat pada lampiran 13.

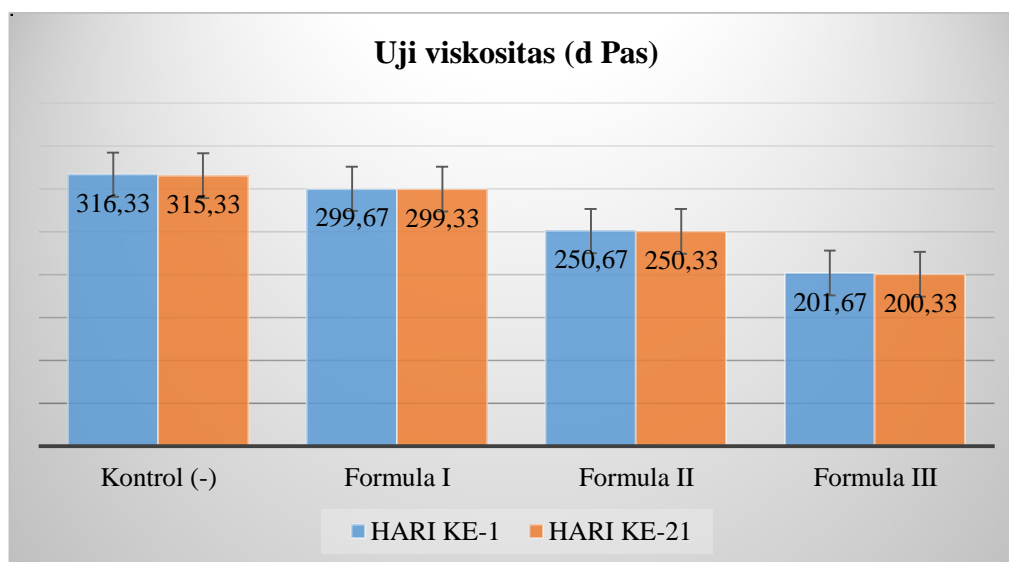
5.4 Hasil uji viskositas. Viskositas sediaan berhubungan terhadap kemudahan pemakaian dari suatu sediaan. Viskositas sangat berpengaruh terhadap efektifitas terapi yang diinginkan serta kenyamanan dalam penggunaan sehingga tidak boleh terlalu kental dan terlalu encer. Viskositas gel yang terlalu encer akan menurunkan daya lekat gel pada kulit sehingga efektivitas penghantaran zat aktif menjadi rendah, sedangkan apabila viskositas sediaan terlalu kental dapat memberikan ketidaknyamanan sediaan untuk digunakan. Hasil pengamatan viskositas gel minyak atsiri dapat dilihat pada tabel 12.

Tabel 10. Hasil uji viskositas sediaan gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle dengan berbagai konsentrasi minyak atsiri

Waktu pemeriksaan	Viskositas (d Pas) \pm SD			
	Kontrol (-)	Formula I	Formula II	Formula III
Hari ke 1	316,33 \pm 0,58	299,67 \pm 0,58	250,67 \pm 0,58	200,67 \pm 0,58
Hari ke 21	315,33 \pm 0,58	299,33 \pm 0,58	250,33 \pm 0,58	201,33 \pm 0,58

Keterangan:

- Formula I : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 2%
- Formula II : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 4%
- Formula III : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 8%
- Kontrol (-) : Basis gel tanpa kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle



Gambar 14. Hasil uji viskositas gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle

Keterangan:

- Formula I : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 2%
- Formula II : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 4%
- Formula III : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 8%
- Kontrol (-) : Basis gel tanpa kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle

Data di atas menunjukkan bahwa kontrol (-) lebih kental dari keempat formula karena kontrol (-) tidak mengandung minyak atsiri atau hanya berisi basis gel. Formula I lebih kental dari formula II dan III karena dipengaruhi oleh konsentrasi minyak atsiri. Konsentrasi minyak atsiri 2%, 4%, dan 8% menghasilkan gel dengan viskositas yang besar, viskositas gel menunjukkan bahwa dari keempat formula dari hari ke hari mengalami sedikit perubahan.

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan SPSS, hasil uji *Kolmogorof-Smirnov* hari ke 1 diperoleh signifikansi $0,430 > 0,05$ dan pada hari ke 21 diperoleh signifikansi $0,414 > 0,05$, maka dapat disimpulkan data tersebut terdistribusi normal. Kemudian dilanjutkan dengan *uji paired samples test*, dari hasil uji tersebut diperoleh signifikansi $> 0,05$ maka dapat disimpulkan bahwa rata-rata uji pH gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle pada hari ke 1 dan hari ke 21 tidak berbeda signifikan secara nyata sehingga sediaan gel dapat dikatakan mempunyai viskositas yang stabil.

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 dkk, 2011). Hasil data dapat dilihat pada lampiran 13.

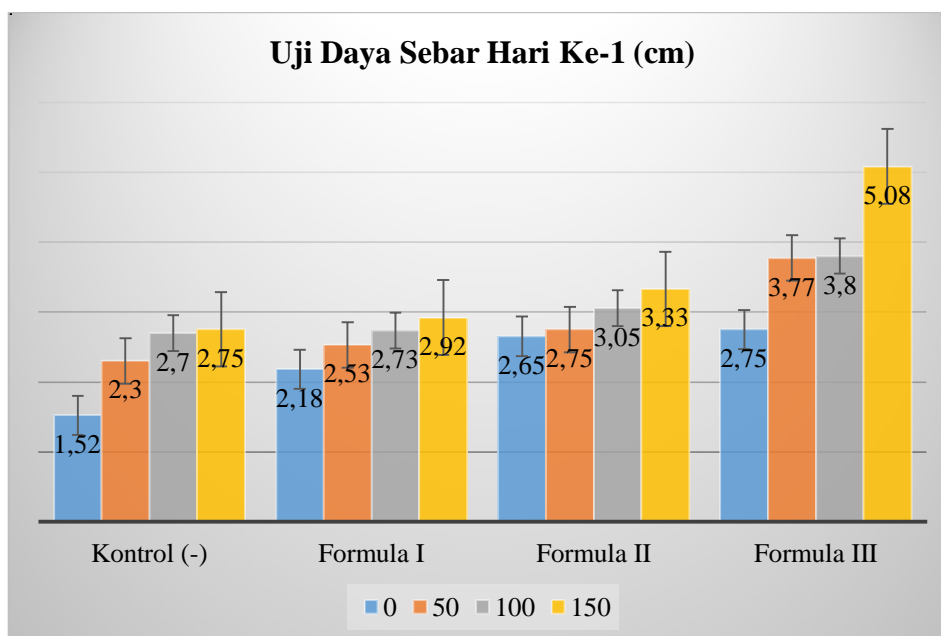
5.5 Hasil uji daya sebar. Uji daya sebar dilakukan untuk mengetahui kemampuan basis menyebar pada permukaan kulit ketika diaplikasikan. Gel yang baik adalah gel yang memiliki daya sebar paling luas, mudah dicuci dan diabsorpsi dengan baik oleh kulit sehingga kontak antara zat aktif dengan kulit semakin baik. Hasil uji sebar dapat dilihat pada tabel 1

Tabel 11. Hasil uji daya sebar gel minyak atsiri lengkuas merah dan bangle dengan berbagai konsentrasi minyak atsiri

Formula	Beban (g)	Diameter penyebaran cm \pm SD	
		Hari ke 1	Hari ke 21
K (-)	-	1,52 \pm 0,04	2,20 \pm 0,05
	50	2,30 \pm 0,05	2,40 \pm 0,05
	100	2,70 \pm 0,05	2,80 \pm 0,05
	200	2,75 \pm 0,06	2,85 \pm 0,00
I	-	2,18 \pm 0,08	2,35 \pm 0,05
	50	2,53 \pm 0,08	2,65 \pm 0,00
	100	2,73 \pm 0,03	2,85 \pm 0,05
	200	2,92 \pm 0,03	3,12 \pm 0,03
II	-	2,65 \pm 0,05	2,77 \pm 0,02
	50	2,75 \pm 0,05	2,85 \pm 0,05
	100	3,05 \pm 0,05	3,08 \pm 0,08
	200	3,33 \pm 0,03	3,15 \pm 0,59
III	-	2,75 \pm 0,10	2,82 \pm 0,08
	50	3,77 \pm 0,10	2,70 \pm 0,04
	100	3,80 \pm 0,05	3,10 \pm 0,28
	200	5,08 \pm 0,10	3,55 \pm 0,30

Keterangan:

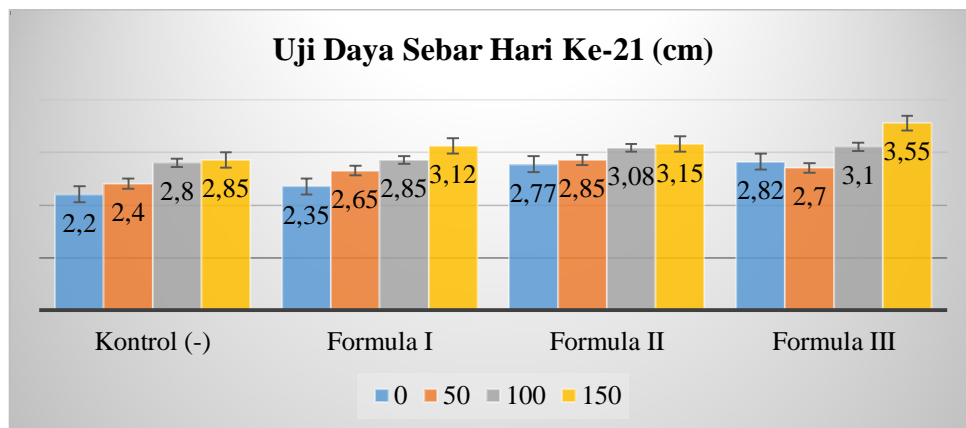
- Formula I : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 2%
 Formula II : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 4%
 Formula III : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 8%
 Kontrol (-) : Basis gel tanpa kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle



Gambar 15. Hasil uji daya sebar gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle hari ke 1

Keterangan:

- Formula I : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 2%
 Formula II : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 4%
 Formula III : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 8%
 Kontrol (-) : Basis gel tanpa kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle



Gambar 16. Hasil uji daya sebar gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle hari ke 21

Keterangan:

- Formula I : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 2%
 Formula II : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 4%
 Formula III : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 8%
 Kontrol (-) : Basis gel tanpa kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle

Data di atas menunjukkan bahwa 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. Daya sebar yang baik menyebabkan kontak antara obat dengan kulit menjadi luas, sehingga absorpsi obat ke kulit berlangsung cepat. Data penelitian ini menunjukkan bahwa formula III yang paling baik.

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan SPSS, hasil uji *Kolmogorof-Smirnov* hari ke 1 dan hari ke 21 diperoleh signifikansi $> 0,05$, maka dapat disimpulkan data tersebut terdistribusi normal. Kemudian dilanjutkan dengan *uji paired samples test*, dari hasil uji tersebut diperoleh signifikansi $> 0,05$ maka dapat disimpulkan bahwa rata-rata uji daya sebar gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle pada hari ke 1 dan hari ke 21 tidak berbeda signifikan secara nyata sehingga sediaan gel dapat dikatakan stabil. Hasil data dapat dilihat pada lampiran 13.

5.6 Hasil uji daya lekat. Uji daya lekat dilakukan untuk mengetahui kemampuan gel melekat pada tempat aplikasinya. Daya lekat akan berhubungan dengan lamanya kontak antara basis dengan permukaan kulit dan kenyamanan penggunaan basis. Semakin lama gel melekat, maka semakin lama kontak yang

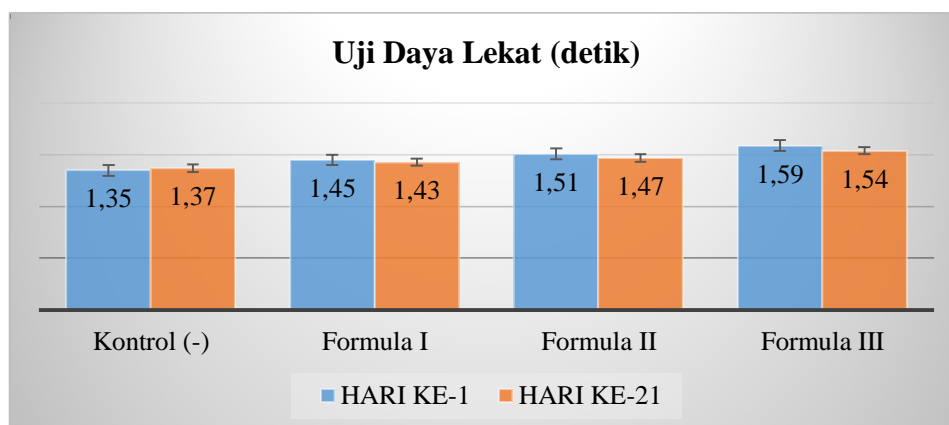
terjadi antara kulit dan gel sehingga penghantaran obat makin efektif. Hasil pengukuran daya lekat gel dapat dilihat pada tabel 12.

Tabel 12. Hasil uji daya lekat gel minyak atsiri lengkuas merah dan bangle dengan berbagai konsentrasi minyak atsiri

Waktu pemeriksaan	Daya lekat (detik)			
	Kontrol (-)	Formula I	Formula II	Formula III
Hari ke 1	1,35±0,01	1,45±0,01	1,51±0,02	1,59±0,01
Hari ke 21	1,37±0,02	1,43±0,03	1,47±0,05	1,54±0,02

Keterangan:

- Formula I : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 2%
 Formula II : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 4%
 Formula III : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 8%
 Kontrol (-) : Basis gel tanpa kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle



Gambar 17. Hasil uji daya lekat gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle

Keterangan:

- Formula I : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 2%
 Formula II : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 4%
 Formula III : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 8%
 Kontrol (-) : Basis gel tanpa kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle

Antara viskositas dan daya lekat gel menunjukkan adanya hubungan, artinya semakin kecil viskositas maka daya lekatnya akan semakin meningkat, begitu juga sebaliknya, semakin besar viskositas maka daya lekatnya akan semakin menurun (Voigt, 1994). Pada penelitian ini formula yang memiliki daya lekat paling tinggi adalah formula ke III karena kandungan minyak atsiri yang besar. Gel kontrol (-) memiliki daya lekat rendah dibandingkan gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 2% dan 4% karena gel kontrol (-) hanya mengandung basis saja tanpa ada kandungan minyak atsiri.

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan SPSS, hasil uji *Kolmogorof-Smirnov* hari ke 1 diperoleh signifikansi $0,965 > 0,05$ dan pada hari ke 21 diperoleh signifikansi $0,931 > 0,05$, maka dapat disimpulkan data tersebut

terdistribusi normal. Kemudian dilanjutkan dengan *uji paired samples test*, dari hasil uji tersebut diperoleh signifikansi $> 0,05$ maka dapat disimpulkan bahwa rata-rata uji pH gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle pada hari ke 1 dan hari ke 21 tidak berbeda signifikan secara nyata sehingga sediaan gel dapat dikatakan mempunyai daya lekat yang stabil. Hasil data dapat dilihat pada lampiran 13.

5.7 Hasil pengujian stabilitas 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* sampai lima siklus. Parameter yang digunakan dalam penentuan stabilitas gel yaitu organoleptis, pH, dan viskositas gel.

Pengujian stabilitas gel 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. Data diatas menunjukkan bahwa pada siklus 1 sampai siklus 5 sediaan gel formula I, II, III, dan kontrol (-) tetap stabil. Hal tersebut dapat dilihat pada lampiran 14.

5.8 Hasil uji organoleptis. Pemeriksaan organoleptis dilakukan secara visual (pengamatan) dengan melihat ada tidaknya perubahan yang terjadi pada gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle setelah diuji dengan metode *freeze thaw*. Hasil uji organoleptis stabilitas gel dengan metode *freeze thaw* dapat dilihat pada Tabel 13.

Tabel 13. Hasil uji organoleptis stabilitas gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle dengan menggunakan metode *freeze thaw*

Waktu pemeriksaan	Uji organoleptis	Kontrol (-)	Formula I	Formula II	Formula III
Hari ke 1	Konsistensi	Semi solid	Semi solid	Semi solid	Semi solid
	Bau	Tidak berbau	Khas minyak atsiri tanaman	Khas minyak atsiri tanaman	Khas minyak atsiri tanaman
	Warna	Bening	Putih susu	Putih susu	Putih susu
Hari ke 10	Konsistensi	Semi solid	Semi solid	Semi solid	Semi solid
	Bau	Tidak berbau	Khas minyak atsiri tanaman	Khas minyak atsiri tanaman	Khas minyak atsiri tanaman
	Warna	Bening	Putih susu	Putih susu	Putih susu

Keterangan:

- Formula I : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 2%
- Formula II : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 4%
- Formula III : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 8%
- Kontrol (-) : Basis gel tanpa kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle

Dari hasil pengamatan secara visual uji stabilitas organoleptis pada tabel 15 menunjukkan bahwa penyimpanan pada suhu yang berbeda selama lima siklus, sediaan gel formula I, II, III, dan kontrol (-) sampai siklus ke lima tidak mengalami perubahan fase atau tidak mengalami pemisahan yang berarti bahwa sediaan gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle dapat dikatakan stabil.

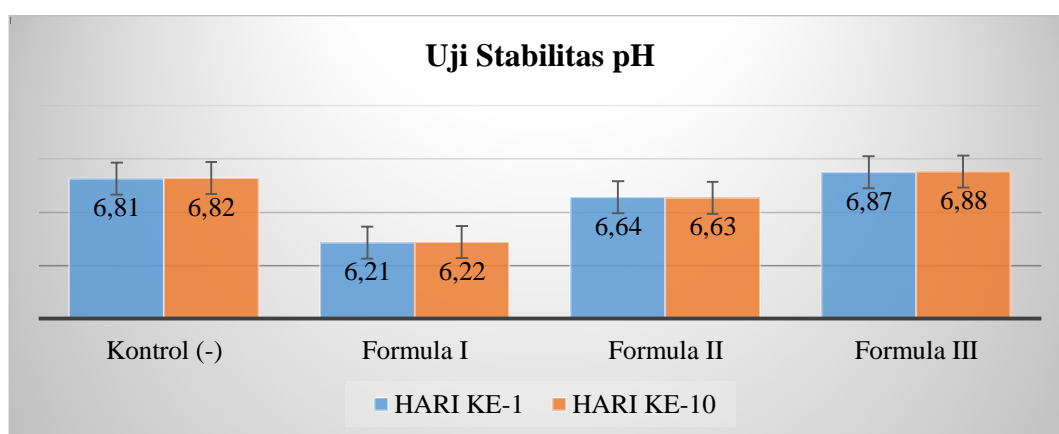
5.9 Hasil uji stabilitas pH gel. Parameter lain yang diamati yaitu pH. Pada perlakuan sebelum dan setelah proses uji stabilitas gel dengan metode *freeze thaw* terlihat bahwa terjadi sedikit perubahan pH pada semua formula. Hasil pengujian pH sebelum dan setelah uji kestabilan dengan metode *freeze thaw* dapat dilihat pada tabel 14.

Tabel 14. Hasil uji stabilitas pH sebelum dan setelah dengan metode *freeze thaw* gel minyak atsiri lengkuas merah dan bangle

Waktu pemeriksaan	pH \pm SD			
	Kontrol (-)	Formula I	Formula II	Formula III
Hari ke 1	6,81 \pm 0,01	6,21 \pm 0,01	6,64 \pm 0,01	6,87 \pm 0,01
Hari ke 10	6,82 \pm 0,01	6,22 \pm 0,01	6,63 \pm 0,01	6,88 \pm 0,01

Keterangan:

- Formula I : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 2%
- Formula II : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 4%
- Formula III : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 8%
- Kontrol (-) : Basis gel tanpa kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle



Gambar 18. Hasil uji pH dengan metode *freeze thaw* gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle

Keterangan:

- Formula I : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 2%
- Formula II : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 4%
- Formula III : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 8%
- Kontrol (-) : Basis gel tanpa kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle

Pengujian stabilitas gel dilakukan dengan metode *freeze thaw* yaitu dengan menyimpan sediaan pada suhu 4°C selama 24 jam kemudian dipindahkan ke suhu 40°C selama 24 jam (1 siklus). Setelah itu dilanjutkan sampai lima siklus. Hasil pengamatan uji pH gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle pada tabel 14 menunjukkan bahwa pada penyimpanan selama 10 hari yaitu 5 siklus dengan metode *freeze thaw*. Hasil pengamatan uji pH gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle pada tabel diatas menunjukkan bahwa pada penyimpanan selama 10 hari sediaan gel sedikit mengalami perubahan rata-rata pH.

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan SPSS, hasil uji *Kolmogorof-Smirnov* hari ke 1 diperoleh signifikansi $0,473 > 0,05$ dan pada hari ke 10 diperoleh signifikansi $0,487 > 0,05$, maka dapat disimpulkan data tersebut terdistribusi normal. Kemudian dilanjutkan dengan *uji paired samples test*, dari hasil uji tersebut diperoleh signifikansi $> 0,05$ maka dapat disimpulkan bahwa rata-rata uji pH gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle pada hari ke 1 dan hari ke 10 tidak berbeda signifikan secara nyata sehingga sediaan gel dapat dikatakan mempunyai stabilitas pH yang baik.

Perubahan pH kemungkinan disebabkan oleh pengaruh lingkungan seperti gas-gas di udara yang bersifat asam yang tidak bisa masuk ke dalam gel, sehingga dapat dikatakan pH sediaan gel stabil pada penyimpanan. Berdasarkan hasil penelitian diketahui pH sediaan gel dalam rentang 6,21 – 6,87, 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 memiliki pH yang sama dengan pH normal kulit. Kesesuaian pH kulit dengan pH sediaan topikal mempengaruhi penerimaan kulit terhadap sediaan. Sediaan topikal yang ideal adalah tidak mengiritasi kulit. Kemungkinan iritasi kulit akan sangat besar apabila sediaan terlalu asam atau terlalu basa. Hasil data dapat dilihat pada lampiran 14.

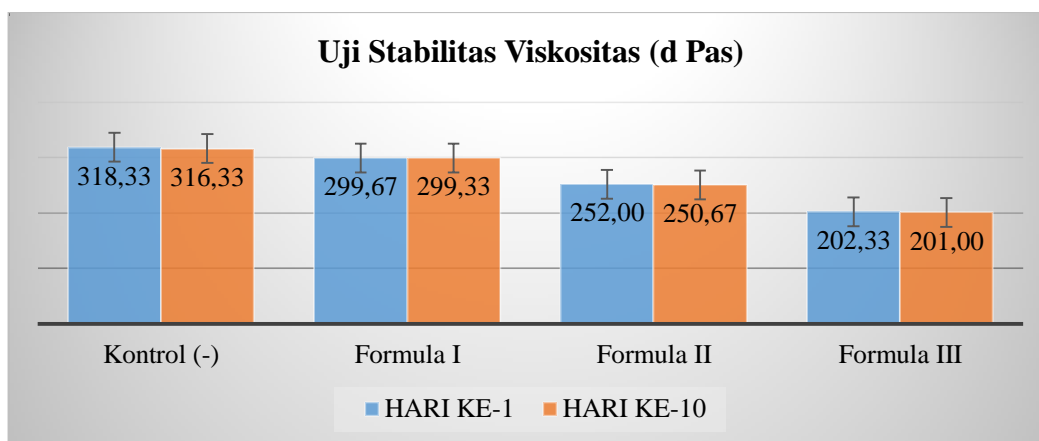
5.10 Hasil uji viskositas. Pengukuran viskositas menunjukkan bahwa terjadi penurunan hampir di setiap formula setelah perlakuan kondisi pengujian metode *freeze thaw*. Hasil pengukuran viskositas gel sebelum dan setelah perlakuan uji kestabilan dengan metode *freeze thaw* dapat dilihat pada tabel 15.

Tabel 15. Hasil uji stabilitas viskositas sebelum dan setelah uji dengan metode *freeze thaw* gel minyak atsiri lengkuas merah dan bangle

Waktu pemeriksaan	Viskositas (d Pas) \pm SD			
	Kontrol (-)	Formula I	Formula II	Formula III
Hari ke 1	318,33 \pm 1,53	299,67 \pm 0,58	250,33 \pm 1,00	200,33 \pm 0,58
Hari ke 10	316,33 \pm 1,53	299,67 \pm 0,58	250,67 \pm 0,58	202,33 \pm 1,00

Keterangan:

- Formula I : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 2%
 Formula II : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 4%
 Formula III : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 8%
 Kontrol (-) : Basis gel tanpa kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle



Gambar 19. Hasil uji viskositas dengan metode *freeze thaw* gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle

Keterangan:

- Formula I : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 2%
 Formula II : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 4%
 Formula III : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 8%
 Kontrol (-) : Basis gel tanpa kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle

Data di atas menunjukkan bahwa kontrol (-) lebih kental dari keempat formula karena kontrol (-) tidak mengandung minyak atsiri atau hanya berisi basis gel. Formula I lebih kental dari formula II dan III karena dipengaruhi oleh konsentrasi minyak atsiri. Konsentrasi minyak atsiri 2%, 4%, dan 8% menghasilkan gel dengan viskositas yang besar, viskositas gel menunjukkan bahwa dari keempat formula dari hari ke hari mengalami sedikit perubahan.

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan SPSS, hasil uji *Kolmogorof-Smirnov* hari ke 1 diperoleh signifikansi $0,470 > 0,05$ dan pada hari ke 10 diperoleh signifikansi $0,426 > 0,05$, maka dapat disimpulkan data tersebut terdistribusi normal. Kemudian dilanjutkan dengan *uji paired samples test*, dari hasil uji tersebut diperoleh signifikansi $> 0,05$ maka dapat disimpulkan bahwa

rata-rata uji pH gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle pada hari ke 1 dan hari ke 10 tidak berbeda signifikan secara nyata sehingga sediaan gel dapat dikatakan mempunyai viskositas yang stabil.

Viskositas suatu sediaan berpengaruh pada luas penyebarannya. Semakin rendah viskositas suatu sediaan maka penyebarannya akan semakin besar sehingga kontak antara obat dengan kulit semakin luas dan absorpsi obat ke kulit akan semakin cepat (maulidaniar dkk, 2011). Hasil data dapat dilihat pada lampiran 14.

5. Pembuatan suspensi bakteri uji

Bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dalam biakan murni 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, setelah diinkubasi dipipet dimasukkan dalam NaCl fisiologis, kemudian kekeruhan hasil suspensi uji disesuaikan dengan kekeruhan standar Mc Farland 0,5. Hasil pembuatan suspensi dapat dilihat pada Lampiran 16.

6. Hasil identifikasi bakteri uji

6.1 Hasil identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan media VJA. Identifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 berdasarkan koloni dengan melakukan inokulasi suspensi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada media diferensial *Vogel Johnson Agar* (VJA) yang telah ditetesi 3 tetes kalium tellurit 1% dalam cawan petri dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil pengujian menunjukkan koloni dengan warna hitam, karena *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat mereduksi tellurit menjadi metalik warna medium dan disekitar koloni berwarna kuning karena fermentasi manitol yang dideteksi oleh perubahan warna indikator phenol red dari merah menjadi kuning (asam), dimana dalam kondisi asam menghasilkan pigmen yang bervariasi dari putih sampai kuning tua (Jawetz *et al* 2012). Hasil identifikasi koloni dapat dilihat pada Lampiran 16.

6.2 Hasil identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan pewarnaan Gram. Identifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara morfologi. Hasil pengamatan dengan melakukan pewarnaan Gram pada mikroskop perbesaran kuat (100x) akan tampak berwarna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol seperti buah anggur. Bakteri Gram positif (*Staphylococcus aureus*) memiliki peptidoglikan yang lebih tebal daripada Gram negatif, sehingga pada pengecatan Gram *Staphylococcus aureus* dapat mempertahankan warna violet dari Gram A (kristal violet). Tujuan pewarnaan Gram ialah untuk melihat apakah bakteri *Staphylococcus aureus* termasuk Gram positif atau Gram negatif. Perbedaan respon terhadap mekanisme pewarnaan Gram didasarkan pada struktur dan komposisi dinding sel bakteri. Bakteri Gram positif mengandung protein dalam prevalensi lebih rendah dan dinding selnya tebal. Pemberian kristal violet dan iodine. Pemberian alkohol (etanol) pada pewarnaan Gram menyebabkan tidak terestrasinya lipid sehingga memperkecil permeabilitas dinding sel Gram positif. Dinding selnya terdehidrasi dengan perlakuan alkohol, pori-pori mengkerut, daya rembes dinding sel dan membran menurun sehingga pewarnaan safranin tidak dapat masuk sehingga sel berwarna ungu (Pelezar, 2000). Hasil identifikasi secara mikroskopis dapat dilihat pada Lampiran 16.

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

(Waluyo 2004). Hasil gambar identifikasi fisiologi berdasarkan katalase dapat dilihat pada Lampiran 16.

Uji koagulase menggunakan plasma darah kelinci yang diencerkan ditambah satu Ose biakan bakteri, diinkubasi pada suhu 37°C. Hasil pengamatan tabung diperiksa dengan melihat pembentukan gumpalan selama 1-4 jam. Hasil positif kuat jika tabung tes dibalik atau dimiringkan, gumpalan plasma tidak terlepas dan tetap melekat pada dinding tabung. *Staphylococcus aureus* yang bersifat koagulase positif akan menggumpalkan plasma dalam waktu 1 jam (Jawetz *et al*, 2001). Hasil identifikasi pada penelitian ini menunjukkan positif terjadi perubahan plasma darah kelinci yang terdenaturasi oleh *Staphylococcus aureus* sehingga terjadi penggumpalan putih. Tes koagulase ini digunakan untuk membedakan antara bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*, karena *Staphylococcus epidermidis* tidak membentuk gumpalan-gumpalan putih. Hasil gambar identifikasi secara koagulase atau biokimia dapat dilihat pada Lampiran 16.

7. Hasil pengujian aktivitas antibakteri secara *in vivo*

Hewan uji kelinci yang sudah diaklimatisasi dicukur bulu didaerah punggung sebelah kanan, sebelah kiri dan pada bagian punggung belakang sampai licin, kemudian dipilih 6 lokasi penyuntikan jarak masing-masing 5 cm dengan luas daerah penyuntikan 10 cm². Suspensi *Staphylococcus aureus* diinfeksi secara subkutan sebanyak 0,1 mL pada masing-masing lokasi pada kulit punggung kelinci yang telah disiapkan selama 24-48 jam untuk melihat terjadinya luka. Selanjutnya setelah nanah terbentuk, kemudian dioleskan gel formula I, II, III, kontrol negatif, dan kontrol positif. Formula I mengandung kombinasi minyak atsiri lengkuas dan bangle 2%, Formula II mengandung kombinasi minyak atsiri lengkuas dan bangle 4%, formula III mengandung kombinasi minyak atsiri lengkuas dan bangle 8%, dan kontrol negatif mengandung basis gel saja tanpa kombinasi minyak atsiri lengkuas dan bangle, serta salep gentamisin 0,1% sebagai kontrol positif. Pengolesan gel dilakukan selama 2 kali sehari (pagi dan sore) selama 14 hari. Efek antibakteri dapat dilihat dari waktu penyembuhan luka yang

dapat diamati dengan hilangnya nanah, eritema dan keringnya luka dalam ukuran hari. Hasil pengukuran rata-rata diameter luka terhadap proses penyembuhan luka pada punggung kelinci selama 14 hari dapat dilihat pada tabel lampiran 18.

Hasil pengamatan gejala klinis pada kulit punggung kelinci yang diinfeksi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat dilihat pada tabel 16.

Tabel 16. Pengamatan gejala klinis pada kulit punggung kelinci yang diinfeksi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Formula	Kelinci	Pengamatan kulit punggung kelinci setelah pemberian gel (Hari)						
		2	4	6	8	10	12	14
Formula I	1	N	N	N	N	NH	K	S
	2	N	N	N	N	NH	K	S
	3	N	N	N	N	NH	K	S
	4	N	N	N	N	NH	K	S
	5	N	N	N	N	NH	K	S
Formula II	1	N	N	N	NH	K	S	S
	2	N	N	N	NH	K	S	S
	3	N	N	N	NH	K	S	S
	4	N	N	N	NH	K	S	S
	5	N	N	N	NH	K	S	S
Formula III	1	N	N	NH	K	S	S	S
	2	N	N	NH	K	S	S	S
	3	N	N	NH	K	S	S	S
	4	N	N	NH	K	S	S	S
	5	N	N	NH	K	S	S	S
Kontrol (-)	1	N	N	N	N	N	N	N
	2	N	N	N	N	N	N	N
	3	N	N	N	N	N	N	N
	4	N	N	N	N	N	N	N
	5	N	N	N	N	N	N	N
Kontrol (+)	1	N	N	NH	K	S	S	S
	2	N	N	NH	K	S	S	S
	3	N	N	NH	K	S	S	S
	4	N	N	NH	K	S	S	S
	5	N	N	NH	K	S	S	S
Kontrol (NR)	1	TAP	TAP	TAP	TAP	TAP	TAP	TAP
	2	TAP	TAP	TAP	TAP	TAP	TAP	TAP
	3	TAP	TAP	TAP	TAP	TAP	TAP	TAP
	4	TAP	TAP	TAP	TAP	TAP	TAP	TAP
	5	TAP	TAP	TAP	TAP	TAP	TAP	TAP

Keterangan:

- FI : Gel kombinasi minyak atsiri bangle dan lengkuas merah konsentrasi 2%
 FII : Gel kombinasi minyak atsiri bangle dan lengkuas merah konsentrasi 4%
 FIII : Gel kombinasi minyak atsiri bangle dan lengkuas merah konsentrasi 8%
 K(-) : Kontrol negatif dengan basis gel yang tidak diberi kombinasi minyak atsiri
 N :Nanah
 NH :Nanah hilang
 K :Kering
 S :Sembuh
 NR :Normal
 TAP :Tidak ada perubahan

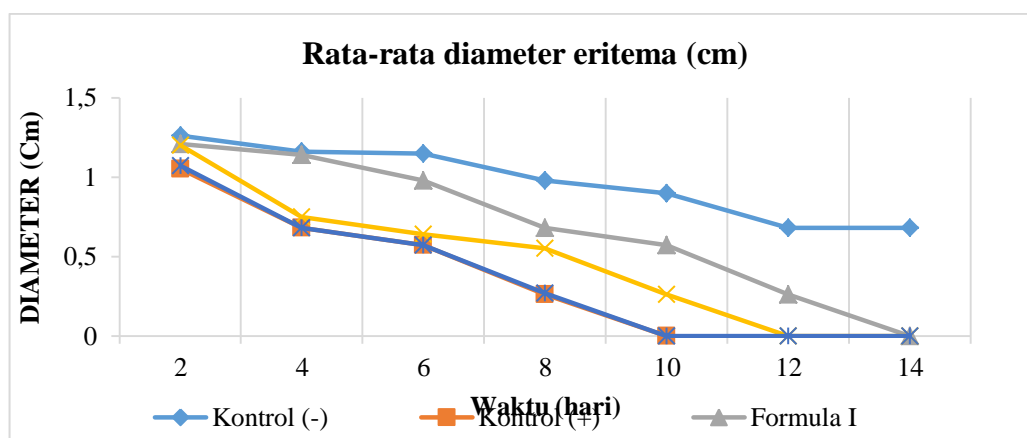
Hasil penyembuhan infeksi *Staphylococcus aureus* paling efektif dengan waktu sembuh pada hari ke-10 bersama dengan kontrol positif. Pengamatan ini dilakukan dari hari ke-2 sampai hari ke-14. Pada formula III hari ke-8 nanah sudah kering lalu pada hari ke-10 sudah mengalami kesembuhan, hal ini dapat disimpulkan bahwa formula III paling cepat memberikan kesembuhan.

Tabel 17. Pengamatan rata-rata diameter luka pada kulit punggung kelinci yang diinfeksi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Perlakuan	Diameter luka (cm)±SD						
	H2	H4	H6	H8	H10	H12	H14
Kontrol (-)	1,26±0,04	1,16±0,04	1,15±0,01	0,98±0,00	0,90±0,01	0,68±0,09	0,68±0,01
Kontrol (+)	1,05±0,03	0,68±0,00	0,57±0,00	0,26±0,01	-	-	-
Formula I	1,21±0,01	1,14±0,01	0,98±0,01	0,68±0,01	0,57±0,00	0,26±0,00	-
Formula II	1,20±0,01	0,75±0,01	0,64±0,01	0,55±0,01	0,26±0,01	-	-
Formula III	1,07±0,03	0,68±0,00	0,57±0,01	0,27±0,01	-	-	-

Keterangan:

- Formula I : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 2%
 Formula II : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 4%
 Formula III : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 8%
 Kontrol (-) : Basis gel tanpa kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle
 Kontrol (+) : Salep gentamisin 0,1%



Gambar 20. Rata-rata diameter eritema

Keterangan:

- Formula I : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 2%
 Formula II : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 4%
 Formula III : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 8%
 Kontrol (-) : Basis gel tanpa kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle
 Kontrol (+) : Salep gentamisin 0,1%

Tabel 17 menunjukkan perubahan diameter luka untuk semua perlakuan dari hari ke-2 sampai hari ke-14. Luka pada kelinci dinyatakan sembuh ditandai dengan perubahan diameter luka yang semakin mengecil. Hasil pengamatan menunjukkan diameter luka untuk gel kombinasi dengan masing-masing

konsentrasi formula adalah gel formula I dengan penyembuhan total pada hari ke-14, gel formula II penyembuhan total pada hari ke-12, gel formula III penyembuhan total pada hari ke 10, gel kontrol (-) belum ada kesembuhan tetapi diameter luka berkurang secara lambat, dan kontrol (+) yaitu salep gentamisin penyembuhan total pada hari ke-10. Penyembuhan luka ditandai dengan terbentuknya keropeng pada kulit. Infeksi yang diberikan perlakuan basis gel mengalami lama penyembuhan karena basis gel tidak mengandung zat aktif untuk antibakteri, walaupun diameter luka mengecil tetapi masih terdapat nanah dibagian tengah infeksi. Pada perlakuan basis gel, mengecilnya infeksi pada punggung kelinci dapat disebabkan karena tubuh kelinci yang sehat mempunyai kemampuan untuk memulihkan tubuh.

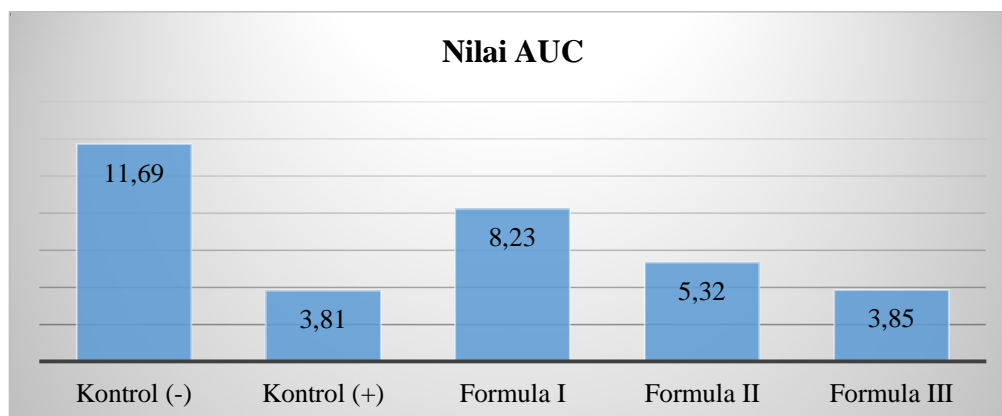
Harga AUC adalah luas daerah rata-rata dibawah kurva yang merupakan hubungan antara luas diameter eritema rata-rata tiap satuan waktu dengan lama waktu perlakuan. Semakin kecil nilai AUC, kemampuan untuk menghambat eritema semakin baik sehingga persen aktivitas penyembuhan luka semakin besar. Setelah mendapatkan data AUC dari masing-masing perlakuan, dilanjutkan dengan menggunakan data AUC untuk menghitung persen aktivitas penyembuhan luka pada kelinci. Persen aktivitas penyembuhan luka ini bertujuan untuk mengetahui berapa besar kemampuan tiap dosis dalam menyembuhkan luka pada punggung kelinci. Hal tersebut ditunjukkan apabila semakin kecil nilai AUC maka kemampuan menyembuhkan luka sangat baik, sehingga persen aktivitas penyembuhan luka semakin besar.

Tabel 18. Hasil perhitungan AUC dan persen aktivitas penyembuhan

Perlakuan	AUC	persen aktivitas penyembuhan (%)
Kontrol (-)	11,69±0,24 ^{b,c,d,e}	0 ^{b,c,d,e}
Kontrol (+)	3,81±0,3 ^{a,c,d}	67,40 ^{a,c,d}
Formula I	8,23±0,2 ^{a,b,d,e}	28,82 ^{a,b,d,e}
Formula II	5,32±0,3 ^{a,b,c,e}	54,49 ^{a,b,c,e}
Formula III	3,85±0,04 ^{a,c,d}	67,06 ^{a,c,d}

Keterangan:

- Formula I : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 2%
 Formula II : Formula gel kombinasi minyak arsiri lengkuas merah dan bangle 4%
 Formula III : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 8%
 Kontrol (-) : Basis gel tanpa kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle
 Kontrol (+) : Salep gemtamisin 0,1%
 a : Berbeda signifikan dengan kontrol (-)
 b : Berbeda signifikan dengan kontrol (+)
 c : Berbeda signifikan dengan formula I
 d : Berbeda signifikan dengan formula II
 e : Berbeda signifikan dengan formula III



Gambar 21. Nilai AUC

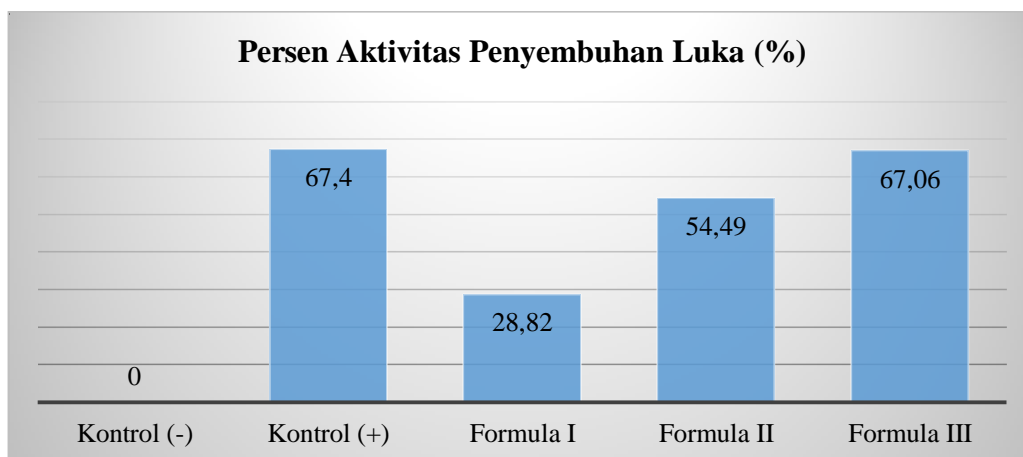
Keterangan:

- Formula I : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 2%
 Formula II : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 4%
 Formula III : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 8%
 Kontrol (-) : Basis gel tanpa kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle
 Kontrol (+) : Salep gemtamisin 0,1%

Harga AUC dari yang paling besar sampai yang paling kecil adalah gel kontrol (-) yaitu 11,69, gel formula I yaitu 8,23, gel formula II yaitu 5,32, gel formula III yaitu 3,85, dan gel kontrol (+) yaitu 3,81. Perhitungan AUC dapat dilihat pada lampiran 19. Dari data tersebut dapat disimpulkan bahwa nilai AUC yang paling kecil adalah pada formula III sehingga dapat dikatakan kemampuan menghambat eritema atau daya pemyembuhan luka paling baik adalah formula III.

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan SPSS, Hasil uji normalitas *Kolmogorov-smirnov* diperoleh signifikansi $> 0,05$, maka dapat disimpulkan data tersebut terdistribusi normal. Hasil uji anova diperoleh nilai sig. $0,005 < 0,05$, maka rata-rata total AUC pada seluruh formula yang diuji memberikan hasil yang berbeda secara signifikan, kemudian dilanjutkan dengan *Tukey*. Hasil pada uji *tukey HSD* adalah rata-rata AUC kontrol(-) berbeda signifikan dengan kontrol(+), formula I, formula II, dan formula III. Rata-rata AUC kontrol(+), berbeda signifikan dengan kontrol(-), formula I, dan formula II, namun tidak berbeda signifikan dengan formula III. Rata-rata AUC formula I berbeda signifikan dengan kontrol(-), kontrol(+), formula II, dan formula III. Rata-rata AUC formula II berbeda signifikan dengan kontrol(-), kontrol(+), formula II, dan formula III. Rata-rata AUC formula III berbeda signifikan dengan

kontrol(-), formula I, dan formula II, namun tidak berbeda signifikan dengan kontrol(+). Hasil pada subset 1 terdapat kontrol(+) dan formula III, artinya rata-rata AUC pada kontrol(+) dan formula III tidak mempunyai perbedaan yang signifikan, dan rata-rata AUC kelompok lainnya berbeda signifikan. Hasil data dapat dilihat pada lampiran 21.



Gambar 22. Persen aktivitas penyembuhan luka

Formula I : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 2%
 Formula II : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 4%
 Formula III : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 8%
 Kontrol (-) : Basis gel tanpa kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle
 Kontrol (+) : Salep gemitamin 0,1%

Gambar 21 menunjukkan nilai persen aktivitas penyembuhan luka pada kulit punggung kelinci dari yang paling kecil adalah kontrol (-) yaitu 0% karena pada hari ke 14 luka pada kulit punggung kelinci belum sembuh, kemudian formula I yang berisi kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 2% dengan hasil yaitu 28,82%, diikuti formula II dengan hasil 54,49%, lalu formula III dengan hasil 67,06% yang selisih tidak jauh dengan kontrol (+) yaitu 67,40%. Dari data diatas menunjukkan bahwa formula III dan kontrol (+) memiliki persen aktivitas penyembuhan luka paling besar yaitu sekitas 67% < 100%. Penyebab persen aktivitas penyembuhan luka kurang dari 100% adalah pada saat pengukuran eritema di hari ke 2 hasilnya belum sembuh total jadi persen aktivitas penyembuhan luka tidak bisa mencapai angka 100%. Selain itu hal yang dapat mempengaruhi hal tersebut adalah kemungkinan pada saat praktikum luka pada

hewan uji terkontaminasi bakteri lain karena luka tidak ditutup menggunakan kasa. Perhitungan lengkap dapat dilihat pada lampiran 20.

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan SPSS, Hasil uji normalitas *Kolmogorov-smirnov* diperoleh signifikansi $> 0,05$, maka dapat disimpulkan data tersebut terdistribusi normal, kemudian dilanjutkan dengan *Tukey*. Hasil pada uji *tukey HSD* adalah persen aktivitas penyembuhan luka kontrol(-) berbeda signifikan dengan kontrol(+), formula I, formula II, dan formula III. Persen aktivitas penyembuhan luka kontrol(+) berbeda signifikan dengan kontrol(-), formula I, dan formula II, namun tidak berbeda signifikan dengan formula III. Persen aktivitas penyembuhan luka formula I berbeda signifikan dengan kontrol(-), kontrol(+), formula II, dan formula III. Persen aktivitas penyembuhan luka formula II berbeda signifikan dengan kontrol(-), kontrol(+), formula II, dan formula III. Persen aktivitas penyembuhan luka formula III berbeda signifikan dengan kontrol(-), formula I, dan formula II, namun tidak berbeda signifikan dengan kontrol(+). Hasil uji *Tukey* pada subset 4 terdapat kontrol(+) dan formula III, artinya rata-rata persen aktivitas penyembuhan luka pada kontrol(+) dan formula III tidak mempunyai perbedaan yang signifikan, dan rata-rata persen aktivitas penyembuhan luka kelompok lainnya berbeda signifikan. Hasil data dapat dilihat pada lampiran 21.

Waktu pengujian gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle terhadap efek antibakteri pada punggung kelinci yang terinfeksi *Staphylococcus aureus* secara subkutan dapat dilihat pada tabel 19.

Tabel 19. Waktu penyembuhan luka bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada kulit punggung kelinci

Perlakuan	Waktu penyembuhan(hari)
Kontrol (-)	-
Kontrol (+)	10
Formula I	14
Formula II	12
Formula III	10

Keterangan:

- Formula I : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 2%
- Formula II : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 4%
- Formula III : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 8%
- Kontrol (-) : Basis gel tanpa kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle
- Kontrol (+) : Salep gentamisin 0,1%

Waktu pengujian gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle terhadap efek antibakteri pada punggung kelinci yang terinfeksi *Staphylococcus aureus* secara subkutan adalah gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle formula III yang menunjukkan penyembuhan selama 10 hari, lebih cepat dibandingkan perlakuan formula I, II, dan kontrol (-). Waktu penyembuhan luka *Staphylococcus aureus* paling efektif dengan waktu sembuh pada hari ke-10 bersama dengan kontrol positif. Kontrol positif merupakan salep gentamisin 0,1% yang sudah terbukti dapat menyembuhkan kulit punggung kelinci yang diinfeksi *Staphylococcus aureus*. Kontrol negatif mengalami waktu penyembuhan yang paling lama karena hanya mengandung basis gel saja, tanpa ada zat aktif. Waktu penyembuhan dipengaruhi oleh besarnya konsentrasi minyak atsiri yang terkandung dalam gel, semakin besar kandungan minyak atsiri maka semakin cepat penyembuhan luka pada kulit punggung kelinci.

8. Hasil pengamatan kesembuhan dengan skor eritema

Hasil pengamatan kesembuhan dengan skor eritema gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle yang digunakan adalah konsentrasi 2%, 4%, 8%, basis gel adalah gel yang tidak diberikan zat aktif (minyak atsiri) diberikan sebagai kontrol negatif dan gentamisin sebagai kontrol positif. Hasil pengamatan skor eritema dapat dilihat pada tabel 20 .

Tabel 20. Pengamatan kesembuhan dengan diameter eritema

Formula	Skor eritema						
	H2	H4	H6	H8	H10	H12	H14
Kontrol (-)	1	1	1	1	1	1	1
Kontrol (+)	1	1	1	1	0	0	0
Formula I	1	1	1	1	1	1	0
Formula II	1	1	1	1	1	0	0
Formula III	1	1	1	1	0	0	0

Keterangan:

- 0 : tidak ada eritema
- 1 : eritema ringan (diameter < 25,00 mm)
- Formula I : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 2%
- Formula II : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 4%
- Formula III : Formula gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 8%
- Kontrol (-) : Basis gel tanpa kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle
- Kontrol (+) : Salep gentamisin 0,1%

Data di atas menunjukkan perubahan skor eritema untuk semua perlakuan dari hari ke-2 sampai hari ke-14. Luka pada kelinci dinyatakan sembuh ditandai

dengan perubahan skor eritema yang semakin mengecil. Hasil pengamatan menunjukkan skor eritema untuk gel kombinasi dengan masing-masing konsentrasi adalah gel formula I penyembuhan total pada hari ke-14 dengan skor diameter 0, gel formula II penyembuhan total pada hari ke-12 dengan skor diameter 0, gel formula III penyembuhan total pada hari ke 10 dengan skor diameter 0, gel kontrol (-) belum ada kesembuhan tetapi skor diameter eritemanya adalah 1 pada hari ke-14, dan kontrol (+) yaitu salep gentamisin penyembuhan total pada hari ke-10 dengan skor diameter 0. Dari data tersebut dapat disimpulkan bahwa formula III dan kontrol positif sama-sama memiliki kemampuan menyembuhkan paling cepat.

9. Hasil pengamatan ada tidaknya koloni bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Kemampuan gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle dalam pengobatan infeksi pada kulit punggung kelinci dapat diamati juga dari kurangnya jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* yang diinokulasi pada media VJA. Pengamatan dilakukan dengan cara nanah pada punggung kelinci diambil dengan volume tertentu lalu digoreskan pada medium VJA yang dilihat setiap 2 hari sekali. Pengamatan secara makroskopis dilakukan dengan cara mengamati sampai keringnya nanah, kemudian dianalisa di Laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta. Kesembuhan dinyatakan dengan ada tidaknya koloni *Staphylococcus aureus*. Hasil pengamatan ada tidaknya koloni bakteri *Staphylococcus aureus* yang mengalami penurunan tercepat pada pengobatan menggunakan gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle pada formula III yang berisi kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 8% dengan perbandingan konsentrasi 3:1 kemudian diikuti formula II, formula I, lalu kontrol negatif (basis gel), hal tersebut dikarenakan gel formula III mengandung zat aktif lebih banyak dan zat yang terkandung didalamnya salah satunya adalah monoterpen. Hasil Pengamatan ada tidaknya koloni bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC dapat dilihat pada lampiran 22.

Mekanisme kerja dari masing-masing kandungan zat tersebut adalah minyak asitri yang sebagian besar dari cavicol yang bersifat desinfektan dan

antijamur yang digunakan untuk mengurangi rasa sakit, flavonoid membentuk senyawa kompleks dapat merusak membrane sel. Turunan fenol monoterpene dan eugenol juga telah terbukti menyebabkan kerusakan dinding sel, lisis sel, dan pencegahan aksi enzim dalam *Enterobacter aerogenes*.

Sinergisme terjadi ketika efek antibakteri dari gabungan komponen yang terkandung dalam minyak atsiri lebih tinggi daripada jumlah efek dari masing-masing komponen. Efek sinergis agen antimikroba terjadi karena formasi kompleks tertentu yang menjadi lebih efektif daripada individu dalam penghambatan mikroorganisme. Aktivitas antimikroba sinergis antara minyak atsiri dan agen antimikroba adalah salah satu cara baru untuk menghambat bakteri resisten. Terapi kombinasi seperti itu dapat mengarah pada pengurangan dosis efektif minimum dari antibiotik yang diperlukan untuk pengobatan, untuk mengurangi efek samping, untuk mendapatkan aktivitas antimikroba sinergis dan memperluas spektrum antimikroba (Padalia *et al.*, 2015). Kombinasi minyak atsiri dapat mempengaruhi beberapa proses biokimia dalam bakteri, menghasilkan sejumlah efek antibakteri interaktif (Bassole dan Juliani, 2012). Perlakuan dengan gel kombinasi memberikan hasil berupa berkurangnya koloni yang terbentuk dari nanah punggung kelinci oleh sebab itu dapat dikatakan bahwa krim kombinasi ini memiliki aktivitas antibakteri dengan efek farmakologi sinergisme.