

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Determinasi tanaman

Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Sistematik Tumbuhan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Determinasi tanaman ini dimaksudkan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang akan digunakan dalam penelitian, agar terhindar dari kesalahan dalam penggunaan bahan, sehingga dapat mengakibatkan perubahan hasil yang diperoleh. Hasil determinasi menunjukkan bahwa kedua tanaman yang digunakan dalam penelitian ini benar rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata* K. Schum) dan rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) dari famili Zingiberaceae. Hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 2 dan 3.

2. Isolasi minyak atsiri

Proses isolasi minyak atsiri dilakukan dengan menggunakan metode destilasi uap-air. Pemilihan metode destilasi uap-air dikarenakan, metode tersebut menggunakan alat yang sederhana tetapi dapat menghasilkan minyak atsiri yang cukup banyak, sehingga menambah efisiensi dalam penggunaan. Kelebihan lain adalah, rendemen minyak atsiri yang diperoleh lebih besar dan mutunya lebih baik dibandingkan dengan metode destilasi air.

Metode destilasi uap-air tersebut dapat menghasilkan uap dan panas yang stabil dikarenakan tekanan uap yang konstan. Uap berpenetrasi secara merata kedalam jaringan bahan tanaman yang digunakan dan uap air yang dihasilkan dalam keadaan jenuh basah (tekanan rendah) akan naik melalui bahan sehingga dapat mempertahankan suhu hingga 100⁰C. Kekurangan dari metode destilasi uap-air adalah metode tersebut tidak cocok untuk minyak atsiri yang rusak oleh panas uap air, serta membutuhkan waktu destilasi yang lebih lama untuk hasil yang lebih banyak (Sumitra 2010).

Sebelum destilasi, rimpang yang digunakan dipotong kecil. Hal tersebut dimaksudkan untuk memperluas permukaan rimpang, sehingga memudahkan pelepasan minyak atsiri. Hasil perhitungan rendemen minyak atsiri rimpang lengkuas merah dan bangle dapat dilihat pada tabel 2 dan 3.

Tabel 2. Hasil destilasi rimpang lengkuas merah

Tahap Destilasi	Bobot Basah (gram)	Volume Minyak Atsiri (ml)	Rendemen (%)
1	2000	2,9	0,15
2	5000	7,2	0,14
3	5000	7,0	0,14
Total	12000	17,1	0,14

Tabel 3. Hasil destilasi rimpang bangle

Tahap Destilasi	Bobot Basah (gram)	Volume Minyak Atsiri (ml)	Rendemen (%)
1	2000	4,0	0,2
2	3000	6,1	0,2
Total	5000	10,1	0,2

Rendemen minyak atsiri lengkuas merah yang diperoleh adalah 0,14%. Rimpang lengkuas merah yang digunakan sebagai bahan baku adalah rimpang segar, umur panen sedang (6-8 bulan), karena komponen aktif pada rimpang muda memiliki aktivitas antimikroba lebih tinggi dibandingkan rimpang berumur tua (Rahayu *et al.* 2008). Menurut penelitian lainnya, rendemen minyak atsiri lengkuas merah diperoleh sebesar 0,23% (Lely *et al.* 2017). Penelitian lain menyebutkan rendemen minyak atsiri lengkuas merah bervariasi antara 0,15-1,5% (Rahayu *et al.* 2008).

Rendemen minyak atsiri bangle yang diperoleh adalah 0,2%. Seperti rimpang lengkuas merah, rimpang bangle yang digunakan adalah rimpang segar, umur pemanenan 11-12 bulan. Menurut penelitian Sayuti *et al.* (2014), rendemen minyak atsiri bangle yang diperoleh sekitar 2,5%. Penelitian lain menyebutkan rendemen minyak atsiri bangle bervariasi antara 0,9-3,8% (Anggraini 2015). Nilai rendemen digunakan untuk mengetahui perbandingan antara jumlah minyak atsiri yang diperoleh dengan jumlah bahan tanaman yang digunakan. Bervariasinya rendemen minyak atsiri yang dihasilkan, kemungkinan disebabkan oleh genotip atau varietas, umur panen, lingkungan tempat tumbuh, bentuk rimpang yang digunakan (segar atau kering), suhu serta lama waktu penyulingan. Perhitungan rendemen dapat dilihat pada lampiran 6.

3. Analisis minyak atsiri

Hasil analisis minyak atsiri rimpang lengkuas merah dan bangle adalah sebagai berikut:

3.1 Pengamatan organoleptis. Pengamatan organoleptis dimaksudkan untuk mengetahui sifat minyak atsiri yang diperoleh. Hasil pengamatan minyak atsiri rimpang lengkuas merah dan bangle dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil identifikasi organoleptis.

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

Berdasarkan hasil pemeriksaan organoleptis, warna minyak atsiri rimpang lengkuas merah hasil destilasi adalah kuning muda dan minyak atsiri rimpang bangle berwarna kuning terang. Bau yang dihasilkan dari masing-masing minyak atsiri, memiliki bau yang khas sesuai dengan tanaman asalnya. Hal ini sesuai dengan teori bahwa, minyak atsiri akan memiliki bau yang sesuai dengan zat berbau yang terkandung dalam tanaman asalnya.

Minyak atsiri dapat berubah warna karena teroksidasi, sehingga dalam penyimpanannya perlu disimpan dalam botol gelap, tempat sejuk dan terhindar dari paparan sinar matahari langsung. Lama waktu penyimpanan juga mempengaruhi perubahan warna pada minyak atsiri (Saifudin *et al.* 2011). Hasil destilasi minyak atsiri dapat dilihat pada lampiran 7.

3.2 Identifikasi minyak atsiri. Hasil identifikasi minyak atsiri rimpang lengkuas merah dan bangle pada kertas saring dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil identifikasi pada kertas saring.

Minyak atsiri	Pemeriksaan	Hasil	Pustaka
Lengkuas merah dan bangle	1 tetes minyak atsiri diteteskan pada kertas saring	Minyak atsiri menguap tanpa meninggalkan noda	Minyak atsiri tidak meninggalkan noda, bisa menguap saat diteteskan pada kertas saring (Gunawan dan Mulyani 2004)

Pengujian pada kertas saring ini merupakan uji kualitatif yang dimaksudkan untuk mengetahui apakah minyak atsiri yang diperoleh benar-benar murni. Menurut teori minyak atsiri dalam keadaan murni akan mudah menguap pada suhu kamar, sehingga jika minyak atsiri tersebut diteteskan pada kertas saring, maka ketika dibiarkan minyak atsiri akan hilang menguap dengan sendirinya serta tidak meninggalkan noda pada kertas yang digunakan. Hal ini juga membedakan antara minyak atsiri dan minyak lemak, dimana jika minyak lemak diteteskan pada

selembar kertas maka minyak akan terserap dan meninggalkan noda pada kertas. Hasil pengujian ini dapat dilihat pada lampiran 8.

3.3 Penetapan indeks bias. Pengukuran indeks bias ini menggunakan Refraktometer dan dilakukan di Laboratorium Fitokimia Universitas Setia Budi Surakarta. Hasil dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil penetapan indeks bias.

Sampel	Indeks bias praktek (31 ⁰ C)	Indeks bias pustaka (25 ⁰ C)
Minyak atsiri lengkuas merah	1,495	1,4750 (Nurchayati 2018)
Minyak atsiri bangle	1,487	1,3 -1,7 (Guenther 1987)

Indeks bias merupakan salah satu parameter identifikasi minyak atsiri. Penetapan indeks bias pada minyak atsiri menggambarkan sifat fisik dan kimia minyak yang erat hubungannya dengan struktur dan komposisi kimia dari senyawa organik penyusunnya. Semakin tinggi nilai indeks bias yang diperoleh dari suatu bahan, menunjukkan bahan tersebut memiliki banyak komponen zat didalamnya, semakin banyak suatu komponen zat dalam suatu bahan menunjukkan semakin sulit minyak atsiri tersebut untuk membiaskan cahaya. Semakin panjang rantai karbon, menyebabkan tingkat kerapatan minyak atsiri semakin tinggi, dimana semakin tinggi kerapatannya akan lebih sukar untuk membiaskan cahaya yang datang, sehingga menyebabkan nilai indeks bias menjadi lebih tinggi.

Berdasarkan hasil pengukuran, diperoleh indeks bias minyak atsiri lengkuas merah sebesar 1,495 dan indeks bias minyak atsiri bangle sebesar 1,487 menggunakan suhu pengukuran 31⁰C. Menurut Nurchayati (2018), indeks bias minyak atsiri lengkuas merah sebesar 1,4750 pada suhu pemeriksaan 25⁰C. Kemudian perolehan indeks bias setelah dikonversikan ke suhu 31⁰C sebesar 1,4774, sehingga dapat disimpulkan indeks bias penelitian lebih besar dibandingkan indeks bias praktik.

Menurut Guenther (1987) indeks bias minyak atsiri bangle antara 1,3 sampai 1,7 pada suhu pemeriksaan 25⁰C. Kemudian setelah dikonversikan ke suhu 31⁰C indeks bias menjadi 1,3024-1,7024. Dapat disimpulkan, dilihat dari perolehan indeks bias minyak atsiri lengkuas merah dan bangle maka, minyak hasil destilasi merupakan minyak atsiri murni. Berdasarkan penelitian lain indeks bias yang

diperoleh untuk minyak atsiri lengkuas merah sebesar 1,496 (Rialita *et al.* 2015) dan untuk minyak atsiri bangle adalah 1,483 (Anggraini 2015). Perbedaan nilai indeks bias dapat dipengaruhi oleh perbedaan tempat asal tanaman, lama waktu penyulingan, perlakuan bahan baku, serta perbedaan suhu pada tempat atau ruang pengukuran. Hasil pengujian ini dapat dilihat pada lampiran 9.

3.4 Penetapan bobot jenis. Hasil penetapan bobot jenis minyak atsiri rimpang lengkuas merah dan bangle dapat dilihat pada tabel 7. Penetapan bobot jenis menggunakan piknometer dan timbangan analitik, serta dilakukan di Laboratorium Teknologi Formulasi, Universitas Setia Budi Surakarta.

Tabel 7. Hasil penetapan bobot jenis.

Sampel	Bobot jenis (g/ml) ± SD	Bobot jenis pustaka
Minyak atsiri lengkuas merah	0,727 ± 0,002	0,8950 g/ml
Minyak atsiri bangle	0,776 ± 0,002	0,8788 g/ml

Prinsipnya bobot jenis adalah perbandingan antara kerapatan minyak pada suhu 25⁰C terhadap kerapatan air suling pada suhu yang sama. Penetapan bobot jenis minyak atsiri ini dilakukan untuk menentukan mutu dan kemurnian minyak atsiri. Pengukuran bobot jenis juga merupakan indikator untuk menentukan adanya pemalsuan minyak atsiri yang menggambarkan analisis kemurnian minyak. Pencampuran minyak atsiri dengan komponen lainnya yang memiliki berat molekul besar dapat menaikkan bobot jenisnya.

Secara teoritis bobot jenis minyak atsiri rimpang lengkuas merah adalah 0,8950 g/ml pada suhu 25⁰C, sedangkan untuk minyak atsiri bangle adalah 0,8788 g/ml pada suhu 25⁰C. Hasil pengukuran bobot jenis yang diperoleh pada penelitian dengan menggunakan suhu pengukuran yang sama, diperoleh bobot jenis untuk minyak atsiri rimpang lengkuas merah adalah 0,727 g/ml ± 0,002, sedangkan untuk minyak atsiri rimpang bangle adalah 0,776 g/ml. Hasil ini dapat disimpulkan minyak atsiri hasil destilasi adalah murni minyak atsiri lengkuas merah dan bangle, dimana menurut Hidayati (2012), bobot jenis minyak umumnya berkisar antara 0,696 sampai 1,119 dan kebanyakan bobot jenis minyak atsiri tidak melebihi 1,000. Menurut Guenther (1987), perbedaan bobot jenis suatu senyawa organik dipengaruhi oleh bobot molekul, polaritas, suhu dan tekanan. Hasil pengujian dan perhitungan dapat dilihat pada lampiran 10.

3.5 Penetapan kelarutan dalam air dan alkohol. Hasil penetapan kelarutan dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Hasil penetapan kelarutan.

Sampel	Pemeriksaan	Hasil	Pustaka
Minyak atsiri lengkuas merah dan bangle	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)
	1 ml minyak atsiri diteteskan dan ditambah alkohol	Minyak atsiri menyebar dan larut pada alkohol	

Menurut Guenther (1987), kelarutan dalam alkohol ditentukan dengan mengamati daya larut minyak atsiri. Prinsip penentuan kelarutan minyak atsiri dalam alkohol didasarkan pada prinsip kelarutan dalam alkohol absolut atau alkohol yang diencerkan yang menimbulkan kekeruhan dan dinyatakan sebagai larut sebagian atau larut seluruhnya, berarti bahwa minyak tersebut membentuk larutan yang bening dan cerah dalam berbagai perbandingan.

Pemeriksaan kelarutan minyak atsiri dilakukan dalam air dan alkohol. Hasil penetesan minyak atsiri dalam air menunjukkan, kedua minyak atsiri menyebar diatas permukaan air dan permukaan tidak keruh. Hasil tersebut sesuai dengan teori dimana menunjukkan bahwa minyak atsiri tidak dapat larut dalam air. Pemeriksaan kelarutan minyak atsiri dalam alkohol 70% didapatkan bahwa, 1 ml minyak atsiri larut dalam 10 ml alkohol 70%. Kelarutan minyak atsiri ditunjukkan dengan larutan yang bening antara minyak atsiri dengan alkohol 70%. Dalam teori disebutkan bahwa minyak atsiri akan larut dalam alkohol dengan perbandingan tertentu. Hasil pengujian ini dapat dilihat pada lampiran 11.

3.6 Pemeriksaan dengan KLT. Hasil KLT (kromatografi lapis tipis) dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 9. Hasil KLT.

Sampel	Nilai RF			Warna bercak
	a	b	c	anisaldehid-asam sulfat
1 (minyak atsiri lengkuas merah)	0,88	0,58	0,71	merah-oranye
2 (minyak atsiri bangle)	0,74	0,43	-	merah-oranye
3 (baku eugenol)	0,71	-	-	merah-oranye

Fase diam adalah silica gel GF₂₅₄, fase gerak yaitu toluena dan etil asetat (93:7). Pereaksi semprot digunakan anisaldehyd-asam sulfat. Kemudian diamati

dengan lampu UV 254 nm dan UV 366 nm. Berdasarkan hasil KLT, bercak-bercak komponen minyak atsiri menunjukkan warna merah-oranye, setelah disemprot dengan pereaksi anisaldehyd-asam sulfat. Hal ini menandakan minyak atsiri mengandung senyawa terpenoid (Sundhani *et al.* 2016).

Kemungkinan minyak atsiri rimpang lengkuas merah mengandung senyawa golongan terpen dengan nilai Rf 0,88; 0,58; dan 0,43; sedangkan minyak atsiri bangle 0,74 dan 0,43. Pada baku eugenol diperoleh Rf 0,71. Hasil identifikasi dengan metode KLT ini belum dapat menentukan secara spesifik senyawa yang terkandung dalam minyak atsiri tersebut. Hasil KLT dapat dilihat pada lampiran 12.

4. Pemeriksaan mutu fisik sediaan gel

Hasil dari pemeriksaan mutu fisik dan stabilitas sediaan gel kombinasi minyak atsiri rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata* K. Schum) dan bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) adalah sebagai berikut:

4.1 Pemeriksaan organoleptis. Pemeriksaan organoleptis meliputi warna, bau, konsistensi sediaan gel. Pemeriksaan organoleptis dilakukan untuk mendeskripsikan sifat fisik sediaan gel. Hasil pemeriksaan organoleptis sediaan gel dapat dilihat pada tabel 10.

Tabel 10. Hasil pemeriksaan organoleptis sediaan gel.

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

Keterangan :

PS	: Putih susu
*	: tidak ada bau
**	: menunjukkan bau khas kombinasi lengkuas merah dan bangle yang lebih intensif
+++	: menunjukkan konsistensi gel yang kental
Formula I	: gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 2%
Formula II	: gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 4%
Formula III	: gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 8%
Kontrol negatif	: basis gel tanpa kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle.

Berdasarkan hasil pemeriksaan organoleptis sediaan gel kombinasi minyak atsiri rimpang lengkuas merah dan bangle memiliki warna putih susu pada ketiga formula dengan bau khas lengkuas merah. Semakin tinggi konsentrasi minyak atsiri

lengkuas merah yang digunakan, maka semakin kuat bau yang dihasilkan. Sedangkan untuk kontrol negatif memiliki warna sediaan transparan serta tidak memiliki bau. Konsistensi seluruh formula adalah setengah padat dan memiliki tekstur tidak lengket dikulit.

Berdasarkan pemeriksaan organoleptis pada hari ke-1 hingga hari ke-21, tidak terdapat perubahan pada sifat fisik sediaan baik dari warna, bau, dan konsistensi. Keadaan gel tetap stabil dalam penyimpanan selama 21 hari. Penggunaan Karbopol 940 sebagai *gelling agent* mampu menjamin kekentalan sediaan selama penyimpanan dalam jangka waktu yang lama (Rowe *et al.* 2005). Propilenglikol digunakan sebagai humektan yang akan mempertahankan kandungan air dalam sediaan, sehingga sifat fisik dan stabilitas sediaan selama penyimpanan dapat dipertahankan. Kandungan gliserin dalam sediaan sebagai humektan (penahan lembab) yang dapat melindungi sediaan dari kemungkinan mengering. Hasil pemeriksaan dapat dilihat pada lampiran 13.

4.2 Pemeriksaan homogenitas. Uji homogenitas bertujuan untuk mengetahui apakah zat aktif yang digunakan telah terdistribusi secara homogen dalam sediaan gel. Uji homogenitas suatu sediaan diperlukan karena akan berpengaruh pada efektivitas terapi suatu sediaan. Uji homogenitas dapat ditentukan secara visual, yaitu dengan mengamati warna sediaan. Jika warna sediaan gel merata, maka gel tersebut sudah homogen. Hasil pemeriksaan homogenitas dapat dilihat pada tabel 11.

Tabel 11. Hasil uji homogenitas gel.

Waktu	Formula I	Formula II	Formula III	Kontrol negatif
Hari ke-1	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
Hari ke-21	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen

Keterangan :

Formula I	: gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 2%
Formula II	: gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 4%
Formula III	: gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 8%
Kontrol negatif	: basis gel tanpa kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle.

Selain dengan cara visual, pemeriksaan homogenitas juga dapat dilakukan dengan meratakan sediaan pada kaca objek, jika partikel pada sediaan tersebar merata, maka sediaan tersebut homogen. Berdasarkan pemeriksaan homogenitas sediaan gel, hasil menunjukkan bahwa keempat formula homogen. Semua warna

tersebar merata pada tiap sediaan. Pada uji yang dilakukan dengan menggunakan objek *glass*, seluruh sediaan tersebar merata, tanpa adanya partikel besar. Hal ini dikarenakan pada proses pencampuran sediaan dilakukan hingga sempurna, sehingga seluruh partikel terdistribusi merata dalam sediaan. Penambahan minyak atsiri pada formula tidak berpengaruh pada homogenitas gel, artinya kombinasi minyak atsiri rimpang lengkuas merah dan bangle bercampur sempurna dengan basis gel. Hasil pemeriksaan homogenitas dapat dilihat pada lampiran 13.

4.3 Pemeriksaan daya lekat. Hasil pemeriksaan uji daya lekat, dapat dilihat pada tabel 12. Hasil tersebut merupakan rata-rata dari tiga kali replikasi.

Tabel 12. Hasil uji daya lekat.

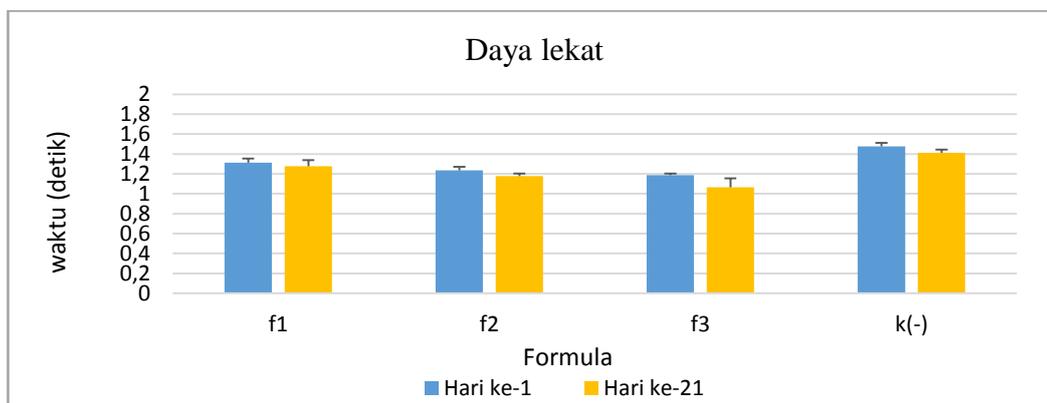
Waktu Pengujian	daya lekat (detik) \pm SD			
	Formula I	Formula II	Formula III	Kontrol negatif
Hari ke-1	1,31 \pm 0,04	1,24 \pm 0,04	1,19 \pm 0,02	1,48 \pm 0,04
Hari ke-21	1,28 \pm 0,06	1,18 \pm 0,03	1,07 \pm 0,09	1,41 \pm 0,03

Keterangan :

Formula I : gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 2%
 Formula II : gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 4%
 Formula III : gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 8%
 Kontrol negatif : basis gel tanpa kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle.

Pengujian daya lekat digunakan untuk mengetahui waktu yang diperlukan oleh sediaan gel untuk melekat pada kulit. Hal ini berhubungan dengan lama daya kerja obat. Semakin lama waktu melekat maka semakin lama daya kerja obat. Daya lekat berbanding lurus dengan viskositas sediaan. Semakin besar nilai viskositas suatu sediaan, maka daya lekatnya semakin besar dan sebaliknya, semakin kecil viskositas maka semakin kecil daya lekatnya. Berdasarkan hasil pengujian semakin besar konsentrasi minyak atsiri yang ditambahkan, daya lekat sediaan semakin kecil.

Terdapat penurunan daya lekat pada pengujian hari ke-1 dan hari ke-21 yang dapat dilihat pada gambar 18. Kontrol negatif memiliki daya lekat yang lebih besar, dibandingkan formula I, II, dan III. Daya lekat yang besar tersebut dikarenakan dalam formula tidak mengandung penambahan zat aktif apapun, sedangkan pada formula 3 memiliki daya lekat paling rendah, dikarenakan memiliki konsentrasi minyak atsiri paling besar.



Gambar 18. Grafik uji daya lekat.

Keterangan:

- Formula I (F1) : gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 2%
 Formula II (F2) : gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 4%
 Formula III (F3) : gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 8%
 Kontrol negatif (K-) : basis gel tanpa kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle.
 : pengujian hari ke-1
 : pengujian hari ke-21

Hasil uji statistik kolmogorov-smirnov diperoleh signifikansi $0,917 > 0,05$ (diterima), maka dapat disimpulkan data tersebut terdistribusi normal, sehingga dapat dilanjutkan dengan uji ANOVA dua jalan. Berdasarkan uji levene's data uji daya lekat dinyatakan homogen dengan perolehan sig $0,154 > 0,05$. Berdasarkan hasil pengujian, formula dan perbedaan waktu tidak berpengaruh signifikan terhadap daya lekat sediaan, sehingga dapat disimpulkan bahwa sediaan tetap stabil dalam penyimpanan pada hari ke-21. Hasil statistik menunjukkan, terdapat perbedaan daya lekat yang signifikan pada formula satu dengan yang lainnya. Sehingga dapat diketahui bahwa penambahan minyak atsiri pada formula menurunkan daya lekat sediaan gel. Data hasil uji daya lekat dapat dilihat pada lampiran 14.

4.4 Pemeriksaan daya sebar. Pemeriksaan daya sebar bertujuan untuk mengetahui kemampuan menyebarnya sediaan gel pada permukaan kulit. Diharapkan gel mampu menyebar dengan mudah pada saat diaplikasikan pada kulit. Sediaan gel akan lebih disukai jika dapat menyebar dengan mudah di kulit. Sediaan gel yang mudah menyebar akan menambah kenyamanan serta memudahkan pemakaiannya, selain itu zat aktif yang terkandung dalam sediaan gel dapat tersebar secara merata, sehingga zat aktif dalam sediaan gel dapat bekerja secara efektif. Sediaan gel yang baik adalah sediaan gel yang memiliki daya sebar paling luas, mudah dicuci, dan diabsorpsi dengan baik. Menurut Effendi *et al.* (2012), daya

sebar 5-7 cm menunjukkan konsistensi semi solid yang mudah dalam penggunaan. Hasil uji daya sebar dapat dilihat pada tabel 13.

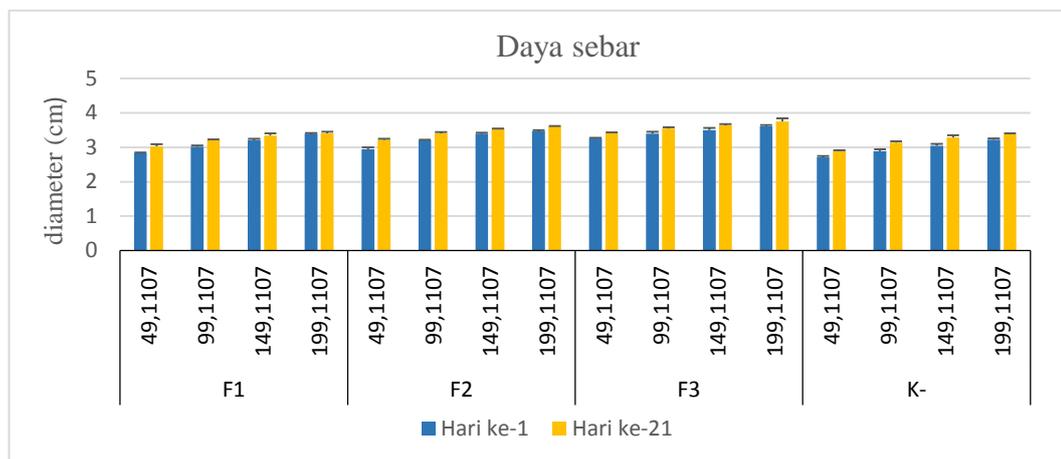
Tabel 13. Hasil uji daya sebar.

Formula	Beban	Diameter penyebaran (cm) \pm SD	
		Hari ke-1	Hari ke-21
I	49,1107	2,83 \pm 0,03	3,02 \pm 0,07
	99,1107	3,01 \pm 0,04	3,20 \pm 0,03
	149,1107	3,21 \pm 0,04	3,34 \pm 0,06
	199,1107	3,40 \pm 0,02	3,40 \pm 0,05
II	49,1107	2,94 \pm 0,06	3,23 \pm 0,03
	99,1107	3,20 \pm 0,03	3,41 \pm 0,04
	149,1107	3,40 \pm 0,02	3,53 \pm 0,01
	199,1107	3,48 \pm 0,02	3,61 \pm 0,01
III	49,1107	3,26 \pm 0,01	3,42 \pm 0,01
	99,1107	3,40 \pm 0,05	3,54 \pm 0,04
	149,1107	3,50 \pm 0,07	3,64 \pm 0,04
	199,1107	3,61 \pm 0,04	3,75 \pm 0,09
K-	49,1107	2,71 \pm 0,04	2,88 \pm 0,04
	99,1107	2,89 \pm 0,06	3,14 \pm 0,04
	149,1107	3,05 \pm 0,05	3,29 \pm 0,06
	199,1107	3,22 \pm 0,04	3,38 \pm 0,03

Keterangan :

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

Perbandingan daya sebar dapat dilihat pada gambar 19.



Gambar 19. Grafik uji daya sebar.

Keterangan:

- Formula I (F1) : gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 2%
 Formula II (F2) : gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 4%
 Formula III (F3) : gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 8%
 Kontrol negatif (K-) : basis gel tanpa kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle.



- : pengujian hari ke-1
 : pengujian hari ke-21

Berdasarkan hasil pengujian terdapat peningkatan daya sebar pada hari ke-21, namun demikian daya sebar gel tersebut belum memenuhi persyaratan daya sebar untuk sediaan topikal. Untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan antara waktu dengan kestabilan sediaan, data hasil pengujian dianalisis menggunakan statistik. Berdasarkan hasil uji kolmogorov-smirnov didapatkan signifikansi $0,212 > 0,05$ (diterima), maka dapat disimpulkan data tersebut terdistribusi normal, sehingga dapat dilanjutkan dengan uji ANOVA dua jalan.

Berdasarkan uji levene's data uji daya sebar dinyatakan homogen dengan perolehan sig $0,125 > 0,05$. Berdasarkan hasil statistik, formula dan waktu berpengaruh signifikan terhadap daya sebar sediaan. Maka dapat diketahui bahwa penyimpanan hari ke-21 mengakibatkan meningkatnya daya sebar sediaan. Daya sebar pada hari ke-1 berbeda signifikan dengan daya sebar hari ke-21, dapat diketahui terjadi peningkatan diameter sebar pada hari ke-21. Hasil uji post hoc daya sebar tiap formula berbeda signifikan dengan formula lain, sehingga dapat diketahui penambahan minyak atsiri memiliki pengaruh pada daya sebar sediaan. Semakin besar penambahan minyak atsiri, semakin besar diameter sebar. Dapat diketahui semakin besar beban yang ditambahkan maka diameter daya sebar semakin besar. Data hasil uji daya sebar dapat dilihat pada lampiran 15.

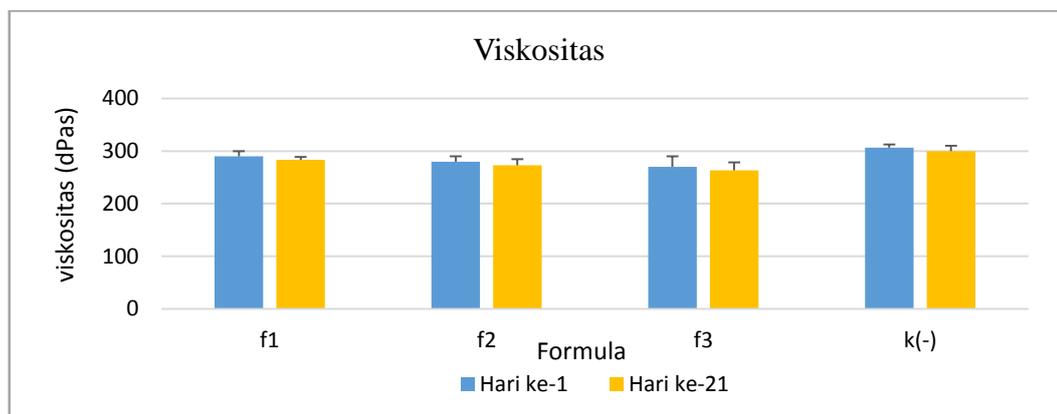
4.5 Pemeriksaan viskositas. Hasil pemeriksaan viskositas menggunakan viskosimeter dapat dilihat pada tabel 14. Hasil tersebut merupakan rata-rata dari replikasi pengujian yang dilakukan sebanyak tiga kali tiap sediaan. Perbandingan viskositas terhadap lama waktu penyimpanan dapat dilihat pada gambar 20.

Tabel 14. Hasil uji viskositas gel.

Waktu	Viskositas (dPas) \pm SD			
	Formula I	Formula II	Formula III	Kontrol Negatif
Hari ke-1	290,00 \pm 10,00	280,00 \pm 10,00	270,00 \pm 20,00	306,67 \pm 5,77
Hari ke-21	283,33 \pm 5,77	273,33 \pm 11,55	263,33 \pm 15,28	300,00 \pm 10,00

Keterangan :

- Formula I : gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 2%
- Formula II : gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 4%
- Formula III : gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 8%
- Kontrol negatif : basis gel tanpa kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle.



Gambar 20. Grafik uji viskositas.

Keterangan:

- Formula I (F1) : gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 2%
 Formula II (F2) : gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 4%
 Formula III (F3) : gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 8%
 Kontrol negatif (k-) : basis gel tanpa kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle.
- : pengujian hari ke-1
 ■ : pengujian hari ke-21

Pemeriksaan viskositas dilakukan untuk menentukan nilai kekentalan suatu sediaan. Semakin tinggi nilai viskositasnya, maka semakin tinggi tingkat kekentalan suatu sediaan. Viskositas suatu sediaan akan berpengaruh terhadap daya lekat suatu sediaan, semakin kecil nilai viskositasnya konsistensi sediaan akan lebih encer sehingga daya lekat sediaan turun dan menghambat efektivitas penghantaran suatu zat aktif dalam sediaan. Nilai viskositas yang tinggi akan berpengaruh terhadap kenyamanan dan kemudahan penggunaan suatu sediaan.

Berdasarkan hasil pengujian, konsentrasi minyak atsiri mempengaruhi viskositas sediaan. Semakin tinggi konsentrasi minyak atsiri yang ditambahkan dalam sediaan, nilai viskositas semakin menurun. Pada hari ke-21 terjadi penurunan nilai viskositas. Hal tersebut dapat disebabkan karena sediaan gel menunjukkan karakteristik yaitu *syneresis*, yang merupakan proses keluarnya cairan yang terjebak dalam gel, sehingga memungkinkan cairan untuk bergerak menuju ke arah permukaan, oleh karena itu sediaan mengalami penurunan viskositas. Berkurangnya kekentalan sediaan gel juga dapat disebabkan karena faktor luar seperti suhu dan cara penyimpanan.

Untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan antara waktu dengan kestabilan sediaan, data hasil pengujian dianalisis menggunakan statistik.

Berdasarkan hasil uji kolmogorov-smirnov didapatkan signifikansi $0,463 > 0,05$ (diterima), maka dapat disimpulkan data tersebut terdistribusi normal, sehingga dapat dilanjutkan dengan uji ANOVA dua jalan. Berdasarkan uji levene's data uji viskositas dinyatakan homogen dengan perolehan sig $0,613 > 0,05$. Berdasarkan hasil pengujian formula dan waktu tidak berpengaruh signifikan, sehingga dapat disimpulkan bahwa sediaan tetap stabil dalam penyimpanan pada hari ke-21, karena penurunan viskositas tidak terlalu signifikan. Hasil uji post hoc nilai viskositas pada konsentrasi 8% dengan 4% tidak berbeda signifikan. Konsentrasi 4% dengan 2% tidak berbeda signifikan. Konsentrasi 2% tidak memiliki perbedaan signifikan dengan kontrol negatif. Kontrol negatif memiliki perbedaan yang signifikan dengan konsentrasi 4% dan 8%. Data hasil uji viskositas dapat dilihat pada lampiran 16.

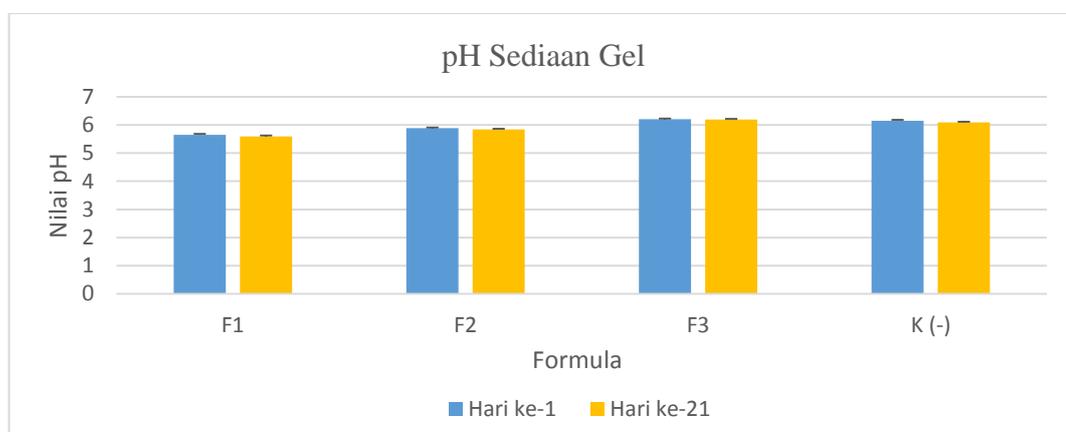
4.6 Pemeriksaan pH sediaan. Hasil pemeriksaan pH dapat dilihat pada tabel 15. Perbandingan nilai pH terhadap lama waktu penyimpanan dapat dilihat pada gambar 21.

Tabel 15. Hasil uji pH gel.

Waktu pemeriksaan	Nilai pH \pm SD			
	Formula I	Formula II	Formula III	Kontrol negatif
Hari ke-1	5,65 \pm 0,04	5,89 \pm 0,02	6,21 \pm 0,02	6,15 \pm 0,03
Hari ke-21	5,60 \pm 0,03	5,85 \pm 0,02	6,20 \pm 0,02	6,10 \pm 0,02

Keterangan :

Formula I : gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 2%
 Formula II : gel kombinasi minyak arsiri lengkuas merah dan bangle 4%
 Formula III : gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 8%
 Kontrol negatif : basis gel tanpa kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle.



Gambar 21. Grafik uji pH.

Keterangan:

Formula I (F1) : gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 2%

Formula II (F2)	: gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 4%
Formula III (F3)	: gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 8%
Kontrol negatif (k-)	: basis gel tanpa kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle.
	: pengujian hari ke-1
	: pengujian hari ke-21

Uji pH dilakukan pada setiap sediaan gel kombinasi minyak atsiri rimpang lengkuas merah dan bangle, dengan tujuan untuk menentukan apakah pH sediaan gel sesuai dengan pH kulit. Pengujian ini digunakan untuk menjamin sediaan gel tidak menyebabkan iritasi pada kulit. Pengujian pH menggunakan pH meter. Secara teoritis rentang persyaratan pH untuk kulit adalah 4,5-6,5 (Aponno 2014). Berdasarkan hasil pengujian, seluruh sediaan memenuhi kriteria dalam range persyaratan pH kulit, artinya sediaan gel kombinasi minyak atsiri rimpang lengkuas merah dan bangle cukup aman untuk digunakan sebagai sediaan topikal. Pemeriksaan hari ke-21 terjadi penurunan nilai pH sediaan, namun penurunan masih relatif stabil, sehingga tidak terlalu berpengaruh. Penurunan pH tersebut dapat disebabkan karena faktor lingkungan seperti suhu dan penyimpanan.

Untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan antara waktu dengan kestabilan sediaan, data hasil pengujian dianalisis menggunakan statistik. Berdasarkan hasil uji kolmogorov-smirnov didapatkan signifikansi $0,215 > 0,05$ (diterima), maka dapat disimpulkan data tersebut terdistribusi normal, sehingga dapat dilanjutkan dengan uji ANOVA dua jalan. Berdasarkan uji levene's data uji pH dinyatakan homogen dengan perolehan sig $0,738 > 0,05$. Berdasarkan hasil pengujian formula dan waktu penyimpanan tidak berpengaruh signifikan, sehingga dapat disimpulkan bahwa sediaan tetap stabil dalam penyimpanan pada hari ke-21. Berdasarkan hasil uji post hoc, nilai pH sediaan berbeda signifikan antara formula satu dengan yang lainnya, sehingga dapat disimpulkan penambahan minyak atsiri mempengaruhi pH sediaan. Data hasil uji pH dapat dilihat pada lampiran 17.

5. Pemeriksaan stabilitas sediaan gel

Pengujian stabilitas suatu sediaan dilakukan untuk mengetahui stabilitas suatu sediaan berdasarkan lama waktu serta perbedaan suhu penyimpanan. Pengujian dilakukan dengan metode *freeze thaw*, yaitu metode pengujian dengan cara menyimpan sediaan pada suhu 4°C selama 48 jam kemudian dipindahkan pada suhu 40°C selama 48 jam (1 siklus). Kemudian uji dilanjutkan hingga lima siklus

(20 hari). Parameter uji stabilitas yaitu organoleptis, pH, dan viskositas. Hasil uji stabilitas sediaan gel kombinasi minyak atsiri rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata* K. Schum) dan bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) menggunakan metode *freeze thaw* adalah sebagai berikut:

5.1 Pemeriksaan organoleptis. Hasil uji stabilitas sediaan gel setelah dilakukan pengujian *freeze thaw* selama lima siklus dapat dilihat pada tabel 16, sedangkan untuk pemeriksaan organoleptis sediaan gel setelah dilakukan pengujian *freeze thaw* dapat dilihat pada tabel 17.

Tabel 16. Hasil uji stabilitas.

Siklus	Formula I	Formula II	Formula III	Kontrol negatif
1	Stabil	Stabil	Stabil	Stabil
2	Stabil	Stabil	Stabil	Stabil
3	Stabil	Stabil	Stabil	Stabil
4	Stabil	Stabil	Stabil	Stabil
5	Stabil	Stabil	Stabil	Stabil

Keterangan :

Formula I : gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 2%
 Formula II : gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 4%
 Formula III : gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 8%
 Kontrol negatif : basis gel tanpa kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle.

Tabel 17. Hasil pemeriksaan organoleptis pada uji stabilitas.

Pemeriksaan	Formula I	Formula II	Formula III	Kontrol negatif
Warna	PS	PS	PS	Transparan
Bau	**	**	**	*
Konsistensi	+++	+++	+++	+++

Keterangan :

PS : Putih susu
 * : tidak ada bau
 ** : menunjukkan bau khas kombinasi lengkuas merah dan bangle yang lebih intensif
 +++ : menunjukkan konsistensi gel yang kental
 Formula I : gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 2%
 Formula II : gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 4%
 Formula III : gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 8%
 Kontrol negatif : basis gel tanpa kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle.

Berdasarkan hasil pengujian stabilitas menunjukkan bahwa penyimpanan pada suhu yang berbeda selama lima siklus (20 hari), stabilitas sediaan tidak berubah, sehingga dapat disimpulkan secara organoleptis sediaan stabil. Dapat dilihat dari tidak adanya pemisahan antara minyak atsiri dengan basis gel. Kemudian pemeriksaan organoleptis, meliputi bau, warna, dan konsistensi sediaan gel juga tidak mengalami perubahan. Hasil uji dapat dilihat pada lampiran 18.

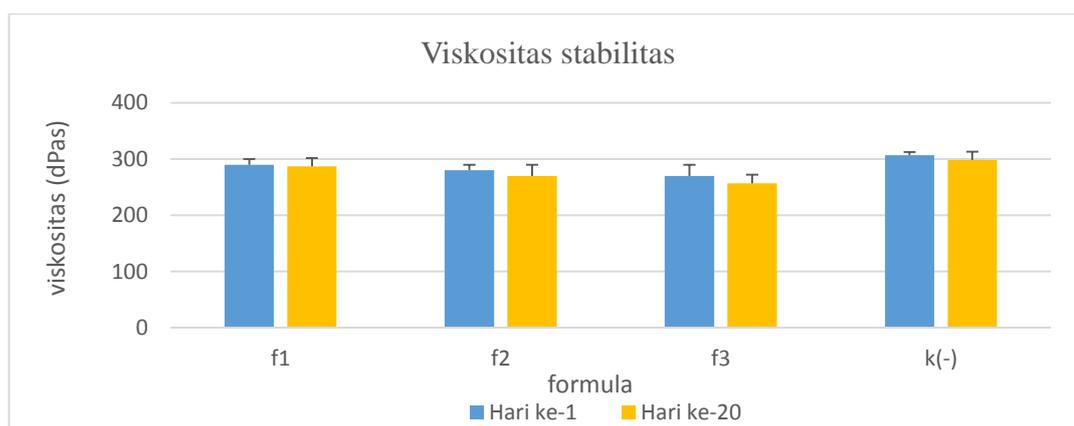
5.2 Pemeriksaan viskositas. Hasil uji viskositas dapat dilihat pada tabel 18. Hasil tersebut merupakan perbandingan antara viskositas sediaan gel sebelum dilakukan pengujian *freeze thaw* dan setelah pengujian. Perbandingan hasil uji dapat dilihat pada gambar 22.

Tabel 18. Hasil uji viskositas pada uji stabilitas.

Waktu	Viskositas (dPas) \pm SD			
	Formula I	Formula II	Formula III	Kontrol Negatif
Hari ke-1	290,00 \pm 10,00	280,00 \pm 10,00	270,00 \pm 20,00	306,67 \pm 5,77
Hari ke-20	286,67 \pm 15,28	270,00 \pm 20,00	256,67 \pm 15,28	298,33 \pm 14,43

Keterangan :

Formula I : gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 2%
 Formula II : gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 4%
 Formula III : gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 8%
 Kontrol negatif : basis gel tanpa kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle.



Gambar 22. Grafik perbandingan viskositas uji stabilitas.

Keterangan:

Formula I (F1) : gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 2%
 Formula II (F2) : gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 4%
 Formula III (F3) : gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 8%
 Kontrol negatif (k-) : basis gel tanpa kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle.
 : pengujian hari ke-1
 : pengujian hari ke-20

Berdasarkan hasil pemeriksaan, nilai viskositas setiap sediaan mengalami penurunan setelah dilakukan uji stabilitas dengan metode *freeze thaw*. Hal ini terjadi karenan perbedaan suhu penyimpanan yang tidak konstan. Kenaikan pada suhu akan memperbesar jarak antar atom, sehingga gaya berkurang, jarak menjadi renggang dan viskositas sediaan akan turun (Wibowo 2015). Hasil uji statistik viskositas pada uji stabilitas, berdasarkan hasil uji kolmogorov-smirnov didapatkan

signifikansi $0,336 > 0,05$ (diterima), maka dapat disimpulkan data tersebut terdistribusi normal, sehingga dapat dilanjutkan dengan uji ANOVA dua jalan. Berdasarkan uji Levene's data uji viskositas dinyatakan homogen dengan perolehan sig $0,756 > 0,05$.

Berdasarkan hasil pengujian formula dan waktu tidak berpengaruh signifikan, sehingga dapat disimpulkan sediaan tetap stabil dalam penyimpanan 20 dengan metode uji stabilitas *freeze thaw*. Kestabilan ini dapat dipengaruhi oleh komposisi formula sediaan gel. Hasil uji post hoc nilai viskositas pada konsentrasi 8% tidak berbeda signifikan dengan 4%. Konsentrasi 4% tidak berbeda signifikan dengan 2%. Konsentrasi 2% tidak memiliki perbedaan signifikan dengan kontrol negatif. Kontrol negatif memiliki perbedaan yang signifikan dengan konsentrasi 4% dan 8%. Data hasil uji viskositas stabilitas dapat dilihat pada lampiran 19.

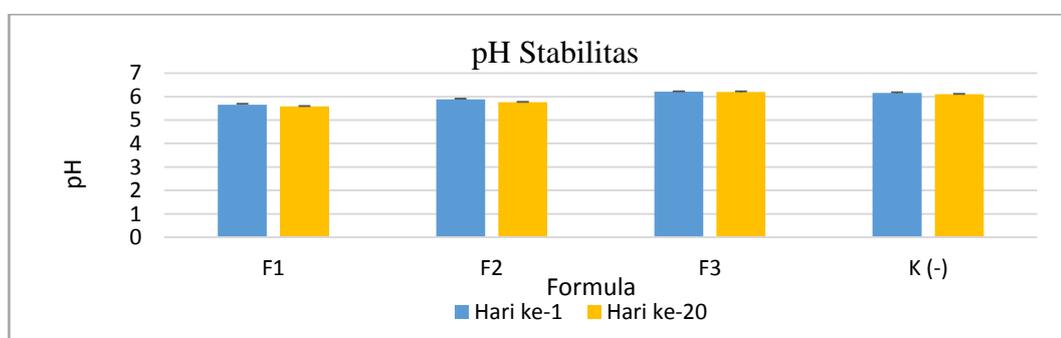
5.3 Pemeriksaan pH. Hasil pemeriksaan pH dapat dilihat pada tabel 19. Hasil tersebut merupakan perbandingan antara pH sediaan gel sebelum dilakukan pengujian *freeze thaw* dan setelah pengujian. Perbandingan hasil uji dapat dilihat pada gambar 23.

Tabel 19. Hasil pemeriksaan pH gel pada uji stabilitas.

Waktu pemeriksaan	Nilai pH \pm SD			
	Formula I	Formula II	Formula III	Kontrol negatif
Hari ke-1	5,65 \pm 0,04	5,89 \pm 0,02	6,21 \pm 0,02	6,15 \pm 0,03
Hari ke-20	5,58 \pm 0,02	5,76 \pm 0,02	6,20 \pm 0,03	6,10 \pm 0,01

Keterangan :

Formula I : gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 2%
 Formula II : gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 4%
 Formula III : gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 8%
 Kontrol negatif : basis gel tanpa kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle.



Gambar 23. Grafik perbandingan pH uji stabilitas.

Keterangan:

Formula I (F1) : gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 2%

Formula II (F2)	: gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 4%
Formula III (F3)	: gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 8%
Kontrol negatif (k-)	: basis gel tanpa kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle.
■	: pengujian hari ke-1
■	: pengujian hari ke-21

Berdasarkan hasil pemeriksaan, terjadi penurunan pH pada semua formula setelah dilakukannya uji stabilitas dengan metode *freeze thaw*. Hal tersebut dapat terjadi, kemungkinan karena pengaruh suhu penyimpanan. Hasil uji statistik pH pada uji stabilitas, berdasarkan hasil uji kolmogorov-smirnov didapatkan signifikansi $0,168 > 0,05$ (diterima), maka dapat disimpulkan data tersebut terdistribusi normal, sehingga dapat dilanjutkan dengan uji ANOVA dua jalan. Berdasarkan uji levene's data uji pH dinyatakan homogen dengan perolehan sig $0,585 > 0,05$. Berdasarkan hasil pengujian formula dan waktu memiliki pengaruh yang signifikan dengan nilai sig $0,006 < 0,05$, sehingga dapat disimpulkan bahwa perbedaan waktu penyimpanan dengan metode *freeze thaw* dapat menurunkan stabilitas pH sediaan. Hasil uji post hoc memiliki perbedaan yang signifikan antara formula satu dengan lainnya. Hasil uji pH stabilitas dapat dilihat pada lampiran 20.

6. Identifikasi *Candida albicans*

6.1 Pemeriksaan makroskopis. Pemeriksaan *Candida albicans* dapat dilakukan secara visual. Pemeriksaan meliputi warna, bau dan bentuk koloni dari *Candida albicans*. Jamur dari biakan murni diisolasi pada cawan petri, media yang digunakan adalah media SGA (Sabouraud Glukosa Agar). SGA merupakan media selektif untuk jamur. Penambahan antibiotik pada media bertujuan untuk membuat media lebih selektif untuk menekan bakteri yang tumbuh bersama jamur. Hasil isolasi dapat dilihat pada gambar 24.



Gambar 24. Koloni jamur *Candida albicans* ATCC 10231 pada media SGA.

Berdasarkan pemeriksaan organoleptis pada cawan petri yang telah diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam, tampak koloni *Candida albicans* sebesar kepala jarum pentul. Koloni *Candida albicans* berwarna putih, timbul di atas permukaan media, memiliki permukaan halus dan licin, dapat juga agak keriput dengan bau ragi yang khas. Namun setelah 7 hari koloni menjadi berwarna krem, dan permukaan menjadi keriput dengan bau ragi yang khas.

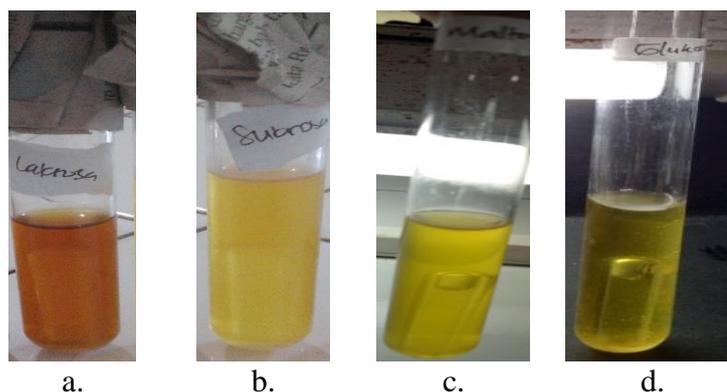
6.2 Pemeriksaan biokimia. Pemeriksaan biokimia dilakukan dengan uji fermentasi karbohidrat dengan media gula-gula (maltosa, sukrosa, laktosa, glukosa). Dalam tabung dimasukkan media gula-gula sebagai bahan dasar nutrisi serta indikator fenol red sebagai indikator perubahan warna, serta adanya tabung durham sebagai indikator terbentuknya gas. Kemudian 2 ose biakan jamur *Candida albicans* dimasukkan dalam tabung. Hasil reaksi positif mengindikasikan adanya pertumbuhan atau perubahan pH yang terjadi pada media yang diuji dengan memanfaatkan gula sebagai bahan dasar. Inkubasi dilakukan selama 7 hari pada suhu 37°C. Hasil uji fermentasi dapat dilihat pada tabel 21 dan gambar 25.

Tabel 20. Hasil uji fermentasi karbohidrat.

Laktosa	Sukrosa	Glukosa	Maltosa
-	+	+	+

Keterangan:

- + : terjadi fermentasi karbohidrat.
- : tidak terjadi fermentasi karbohidrat.



Gambar 25. Uji gula-gula jamur *Candida albicans* ATCC 10231 pada media (a) laktosa, (b) sukrosa, (c) maltosa, (d) glukosa.

Hasil positif ditunjukkan pada maltosa, glukosa, dan sukrosa, dengan perubahan warna media dari merah menjadi kuning, serta adanya gelembung pada tabung durham. Suryaningsih *et al.* (2011) menyatakan, perubahan warna yang terjadi disebabkan karena aktivitas *Candida albicans* dapat memfermentasi gula,

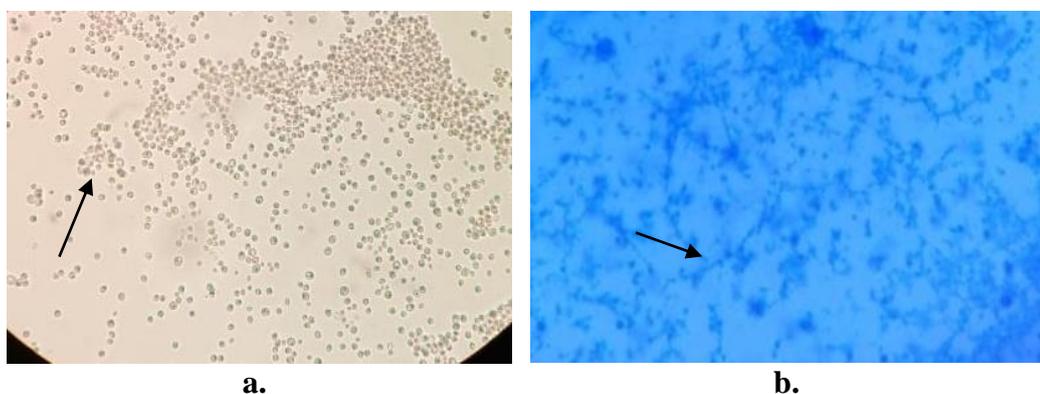
sehingga menghasilkan asam, dan menyebabkan terjadinya perubahan warna pada media, dari merah menjadi kuning. Aktivitas tersebut juga menghasilkan gas ditandai dengan munculnya gelembung udara pada tabung durham.

Apabila karbohidrat terfermentasi, dihasilkan produk akhir yang bersifat asam, maka akan menurunkan pH sehingga indikator pH akan berubah (*phenol red* berubah dari merah menjadi kuning). Apabila gas diproduksi bersama dengan asam, maka akan terbentuk gelembung udara pada tabung durham. Sedangkan pada laktosa memiliki hasil negatif, ditandai tidak adanya perubahan warna ataupun gelembung. Hal tersebut dikarenakan *Candida albicans* tidak dapat memecah laktosa. Dapat disimpulkan bahwa jamur uji adalah benar *Candida albicans*.

6.3 Pemeriksaan dengan pengecatan. Hasil pemeriksaan dapat dilihat pada tabel 21. Pengamatan dilakukan dengan mikroskop dapat dilihat pada gambar 26.

Tabel 21. Hasil pengecatan.

Sampel	Pewarna	Hasil
SGC + Candida	KOH 10%	koloni jamur nampak berbentuk bulat
Serum kelinci + Candida	LCB	koloni jamur berwarna biru dan terdapat pseudohifa



Gambar 26. (a) Jamur *Candida albicans* pada pewarnaan KOH 10%. (b) Pseudohifa jamur *Candida albicans* pada pewarnaan LCB.

Pemeriksaan langsung dengan menggunakan larutan KOH 10% dapat berhasil bila jumlah jamur *Candida albicans* cukup banyak. Keuntungan pemeriksaan ini dapat dilakukan dengan cara sederhana. Larutan KOH adalah larutan penjernih yang akan melarutkan protein, lipid, dan melisiskan epitel. *Candida albicans* akan bertahan terhadap larutan KOH karena kandungan kitin dan glikoprotein pada dinding selnya. Konsentrasi yang dianjurkan untuk identifikasi

mikroskopis adalah KOH 10-30% hal tersebut dimaksudkan agar jamur yang diperiksa tidak ikut dilarutkan dengan cepat (Noviandini *et al.* 2017).

Hasil pengecatan dengan LCB, nampak koloni jamur berwarna biru dan terdapat pseudohifa. *Candida* akan tumbuh pada media kaya nutrisi dengan cepat pada suhu 25-37⁰C, sebagai sel oval atau bulat dengan membentuk tunas untuk memperbanyak diri dan spora jamur (blastospora) atau sel khamir. Mikroskopis *Candida albicans* menunjukkan pseudohifa atau hifa semu yang sebenarnya adalah rangkaian blastospora yang bercabang. Pseudohifa dapat dilihat dengan media pembedahan khusus seperti serum dari kelinci.

7. Hasil pengujian aktivitas antijamur

Pada penelitian ini, rimpang lengkuas merah dan bangle yang diuji sebagai antijamur adalah rimpang lengkuas merah dan bangle yang masih segar, tidak rusak dan bebas dari bahan pengotor seperti tanah, serta bagian tanaman yang tidak diperlukan. Pada penelitian ini rimpang yang masih segar langsung diproses, untuk mengambil kandungan minyak atsiri. Pengujian rimpang lengkuas merah dan bangle sebagai antijamur, didasarkan pada penggunaan tradisional yaitu sebagai obat penyakit kulit seperti panu, kurap serta khasiat lainnya.

Jamur yang digunakan merupakan *Candida albicans* yang diperoleh dari laboratorium mikrobiologi Universitas Setia Budi. Jamur *Candida albicans* merupakan flora normal pada bagian tubuh manusia, namun jika jumlah banyak dan keadaan tubuh tidak seimbang maka jamur dapat bersifat patogen dan menyebabkan beberapa penyakit. Sebelum dilakukan pengujian, jamur diidentifikasi terlebih dahulu, dengan tujuan untuk mengetahui kebenaran dari jamur uji.

Pengujian aktivitas antijamur dilakukan secara *in-vivo* menggunakan hewan uji kelinci *New Zealand*. Kulit punggung dilukai dengan menggunakan pisau bedah steril dengan panjang luka ± 2 cm dan kedalaman ± 2 mm. Kemudian luka tersebut diinfeksi dengan suspensi *Candida albicans* sebanyak 0,3 ml pada masing-masing luka kecuali pada kontrol normal, tidak diberikan perlakuan apapun. Setelah diinfeksi kulit yang terluka ditutup dengan kasa steril untuk mencegah kontaminasi partikel asing, baik debu ataupun meminimalisir kontaminasi dari bakteri serta mencegah jamur menginfeksi daerah lainnya.

Pemberian sediaan gel dilakukan setelah terjadi infeksi pada luka. Sediaan gel diberikan sebanyak 0,5 gram selama 2 kali sehari hingga luka sembuh. Aktivitas sediaan uji ini dinilai dengan melihat penurunan skor diameter eritema, berkurangnya koloni jamur pada media kultur SGA dan hilangnya lesi, dibandingkan dengan kulit kelinci yang tidak diberikan perlakuan (kontrol normal). Sebagai pembanding digunakan sediaan gel ketoconazol dengan konsentrasi 2%, dimana telah terbukti secara klinis memiliki aktivitas antijamur. Hasil penelitian berdasarkan rata-rata waktu penyembuhan infeksi *Candida albicans* pada kulit punggung kelinci dapat dilihat pada tabel 22.

Tabel 22. Waktu penyembuhan infeksi *Candida albicans*.

Waktu penyembuhan infeksi (hari) \pm SD				
F I	F II	F III	K (-)	K (+)
14,0 \pm 1,22	12,6 \pm 1,34	10,6 \pm 0,89	20,0 \pm 1,73	9,4 \pm 0,55

Keterangan:

Formula I (F I) : gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 2%.
 Formula II (F II) : gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 4%.
 Formula III (F III) : gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 8%.
 Kontrol negatif : basis gel tanpa kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle.
 Kontrol positif : Ketoconazol gel 2%.

Waktu penyembuhan ditandai dengan berkurangnya diameter luka infeksi dibandingkan dengan kontrol normal pada masing-masing kelinci. Kemudian dari data diameter luka infeksi dihitung persentase kesembuhan dari waktu ke waktu, hingga didapatkan hasil yang menunjukkan bahwa kelinci dapat dikatakan sembuh total (berdasarkan parameter kesembuhan). Persentase kesembuhan infeksi *Candida albicans* dalam hitungan hari, menggunakan diameter luka dapat dilihat pada tabel 23.

Pada hari pertama persentase 0,00% menunjukkan bahwa belum terjadi proses penyembuhan atau dapat dikatakan hari pertama (hari ke-1) merupakan awal pengukuran diameter luka infeksi. Kemudian pada hari ke-2, masing-masing sediaan telah menunjukkan efek terhadap luka infeksi, ditandai dengan berkurangnya diameter infeksi. Persentase kesembuhan tiap kelinci pada hari ke-2 bervariasi, tergantung dari respon tubuh kelinci dan juga keadaan lingkungan. Persentase kesembuhan mengalami kenaikan tiap hari, hal tersebut menunjukkan bahwa sediaan gel kombinasi minyak atsiri rimpang lengkuas merah dan bangle memiliki efek terapi terhadap luka infeksi pada kulit punggung kelinci.

Tabel 23. Persentase penyembuhan infeksi.

Hari	Persentase kesembuhan (%) \pm SD				
	F I	F II	F III	K-	K+
1	0,00 \pm 0,20	0,00 \pm 0,10	0,00 \pm 0,13	0,00 \pm 0,09	0,00 \pm 0,19
2	2,67 \pm 0,25	1,33 \pm 0,08	10,28 \pm 0,22	2,48 \pm 0,07	13,78 \pm 0,27
3	15,33 \pm 0,25	11,66 \pm 0,13	21,10 \pm 0,19	6,09 \pm 0,11	23,29 \pm 0,36
4	26,00 \pm 0,39	22,56 \pm 0,18	36,58 \pm 0,28	9,62 \pm 0,11	40,49 \pm 0,36
5	37,11 \pm 0,52	40,22 \pm 0,27	55,84 \pm 0,33	16,57 \pm 0,18	55,65 \pm 0,29
6	49,11 \pm 0,47	48,11 \pm 0,34	75,00 \pm 0,26	21,05 \pm 0,18	73,29 \pm 0,13
7	60,78 \pm 0,47	63,22 \pm 0,51	88,31 \pm 0,26	30,67 \pm 0,19	92,41 \pm 0,23
8	71,56 \pm 0,51	73,67 \pm 0,51	96,10 \pm 0,17	35,62 \pm 0,19	98,50 \pm 0,24
9	81,22 \pm 0,53	86,56 \pm 0,54	99,03 \pm 0,16	46,95 \pm 0,23	99,79 \pm 0,22
10	89,77 \pm 0,50	95,11 \pm 0,46	99,89 \pm 0,14	54,76 \pm 0,30	100,00 \pm 0,00
11	95,11 \pm 0,47	99,11 \pm 0,33	99,98 \pm 0,09	59,62 \pm 0,33	-
12	98,44 \pm 0,33	99,67 \pm 0,25	-	69,14 \pm 0,35	-
13	99,44 \pm 0,29	99,88 \pm 0,14	-	76,19 \pm 0,38	-
14	99,88 \pm 0,22	-	-	81,33 \pm 0,45	-
15	-	-	-	87,62 \pm 0,42	-
16	-	-	-	92,95 \pm 0,42	-
17	-	-	-	97,24 \pm 0,43	-
18	-	-	-	98,48 \pm 0,29	-
19	-	-	-	99,71 \pm 0,13	-
20	-	-	-	99,90 \pm 0,08	-
21	-	-	-	-	-

Keterangan:

- Formula I (F I) : gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 2%.
 Formula II (F II) : gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 4%.
 Formula III (F III) : gel kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle 8%.
 Kontrol negatif (k-) : basis gel tanpa kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle.
 Kontrol positif (k+) : Ketoconazol gel 2%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pengobatan dengan sediaan gel kombinasi minyak atsiri rimpang lengkuas merah dan bangle pada konsentrasi 8% (formula III) memberikan aktivitas paling baik, terlihat dari kesembuhan hewan uji setelah $10,6 \pm 0,89$ hari pengobatan, dengan persentase $99,98\% \pm 0,09$, sedangkan pada formula I sembuh sekitar $14,0 \pm 1,22$ hari pengobatan, dengan persentase $99,88\% \pm 0,22$. Namun pada kontrol positif menunjukkan rata-rata penyembuhan lebih cepat dibanding formula III, dapat dilihat dari kesembuhan hewan uji $9,4 \pm 0,55$ hari setelah pengobatan dengan persentase kesembuhan $100,00\% \pm 0,00$. Pada formula II rata-rata kesembuhan terjadi selama $12,6 \pm 1,34$ hari dengan persentase kesembuhan $99,88\% \pm 0,14$. Pada daerah yang diberikan kontrol negatif, memiliki kesembuhan paling lama yaitu sekitar $20,0 \pm 1,73$ hari, dengan persentase kesembuhan $99,90\% \pm 0,08$. Kontrol negatif memberikan waktu kesembuhan terlama dari yang lainnya, dikarenakan dalam kontrol negatif tidak mengandung tambahan bahan aktif apapun (basis gel).

Selain berdasarkan hari, kesembuhan infeksi juga dilihat dari penurunan skor eritema yang dapat dilihat pada lampiran 21. Hasil penelitian menunjukkan secara umum terjadi penurunan skor eritema setelah dilakukan pengobatan. Penghitungan skor eritema pada hari pertama menunjukkan data yang bervariasi antara masing-masing hewan uji. Setiap kelinci memiliki skor yang berbeda terkait eritema, hal ini tergantung dari perlakuan awal serta respon tubuh kelinci dan lingkungan. Namun rata-rata luka infeksi menunjukkan skor eritema 3 atau eritema kuat dengan diameter antara 30,10-35,00 mm. Setelah dilakukan pengobatan skor eritema berangsur turun hingga tidak ada eritema sama sekali (menandakan kesembuhan).

Parameter kesembuhan lain adalah kultur pada media SGA. Kultur dilakukan pada satu dari lima kelinci yang digunakan untuk penelitian. Hal ini dilakukan hanya untuk melihat apakah sediaan berpengaruh terhadap jamur yang diinfeksi pada kulit kelinci yang dilukai. Kultur dilakukan dengan cara aseptik dengan peralatan steril untuk mencegah kontaminasi. Hasil menunjukkan terjadi penurunan koloni jamur setelah dilakukan pengobatan baik dengan formula I, II, III, kontrol positif dan kontrol negatif.

Data kesembuhan berdasar hari dan formula diuji secara statistik, dengan uji normalitas dan dilanjutkan dengan uji ANOVA jika hasil uji normalitas terdistribusi normal. Berdasarkan uji statistik, dengan menggunakan uji normalitas kolmogorov-smirnov untuk mengetahui apakah variasi terdistribusi normal. Hasil uji normalitas didapatkan signifikansi $0,319 > 0,05$, maka dapat disimpulkan data variasi terdistribusi normal. Selanjutnya data dianalisis dengan uji ANOVA, hasil uji levene's didapatkan signifikansi 0,454. Kemudian dilanjutkan uji post hoc menggunakan LSD diperoleh kesimpulan bahwa waktu kesembuhan dari formula III tidak berbeda signifikan dengan kontrol positif. Sehingga sediaan gel kombinasi minyak atsiri rimpang lengkuas merah dan bangle pada formula III (8%) merupakan formula yang paling efektif dibandingkan sediaan gel kombinasi minyak atsiri rimpang lengkuas merah dan bangle pada formula I (2%) dan formula II (4%).

Formula III merupakan sediaan gel dengan kandungan kombinasi minyak atsiri rimpang lengkuas merah dan bangle sebesar 8%. Sedangkan kontrol positif

merupakan ketoconazol gel 2%. Ketoconazol merupakan jenis antijamur golongan imidazol, dimana mekanisme kerjanya dengan melemahkan struktur dan fungsi membran sel jamur. Pada formula II waktu kesembuhan tidak berbeda signifikan dengan formula I. Formula II merupakan sediaan gel dengan konsentrasi kombinasi minyak atsiri sebesar 4%, sedangkan formula I dengan konsentrasi 2%. Kontrol negatif memiliki perbedaan waktu kesembuhan yang signifikan dengan formula I, II, III dan kontrol positif. Adanya perbedaan waktu kesembuhan infeksi jamur setelah pemberian sediaan uji, sangat bergantung pada tingkat ketahanan tubuh dan respon imun hewan uji, serta penahanan zat aktif (minyak atsiri) dari basis.

Aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* dapat disebabkan oleh adanya kandungan biokimia (golongan terpenoid) dari minyak atsiri, yang telah diketahui pada beberapa penelitian memiliki aktivitas antimikroba. Mekanisme minyak atsiri sebagai antimikroba adalah menghambat atau mematikan pertumbuhan sel jamur *Candida albicans* dengan mengganggu proses terbentuknya dinding sel, sehingga dinding sel tersebut tidak dapat terbentuk atau dapat terbentuk namun tidak sempurna.

Menurut Nurchayati (2018), kemampuan minyak atsiri rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata* K. Schum) yang memiliki sifat antijamur adalah eugenol. Aktivitas antijamur dari senyawa eugenol yaitu dengan merusak membran sitoplasma dan menonaktifkan atau menghambat sintesis dari enzim intraselular dan ekstraselular. Eugenol merupakan komponen bioaktif yang menyebabkan aroma pedas menyengat pada lengkuas merah dan telah terbukti memiliki aktivitas antijamur.

Aktivitas antijamur yang terdapat pada minyak atsiri rimpang bangle adalah senyawa terpenoid seperti terpinen-4-ol. Aktivitas antijamur ini dimungkinkan memiliki kesamaan mekanismenya dengan antibiotik golongan imidazol, dimana akan berinteraksi dengan menghambat pembentukan ergosterol. Ergosterol memiliki fungsi pertahanan integritas membran sel jamur. Dengan adanya penghambatan ini akan mengganggu fungsi dan permeabilitas membran sel jamur. Sehingga sel jamur rusak dan tidak dapat berkembang dan terjadi kematian pada sel jamur *Candida albicans*.