

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

1. Determinasi tanaman

Determinasi tanaman beluntas ini dilakukan di unit Laboratorium Morfologi Sistematika Tumbuhan Universitas Sebelas Maret Surakarta. Determinasi ini bertujuan untuk mencocokkan ciri morfologi yang ada pada tanaman yang diteliti dengan kunci determinasi, mengetahui kebenaran tanaman yang diambil, menghindari terjadinya kesalahan dalam pengumpulan bahan serta menghindari tercampurnya bahan dengan tanaman lain. Hasil determinasi dapat dilihat pada kunci determinasi dibawah ini :

1b-2b-3b-4b-12b-14b-15b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-2316 _____ 166 Asteraceae
1b-3b-33b-41b-82b-85b-96b-100b-102b-112b-114b-115b _____ 29. Pluchea
1 _____ Pluchea indica (L.) Less

2. Hasil pengumpulan bahan

Daun beluntas yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari daerah Sambung Macan, Sragen, Jawa Tengah yang diambil pada bulan Januari 2019. Bobot basah daun beluntas yaitu 9000 gram. Daun beluntas disortasi basah kemudian dicuci dengan air mengalir agar bebas dari pengotor, ditiriskan, kemudian dikeringkan dibawah sinar matahari secara tidak langsung dengan ditutup dengan kain hitam. Dan diperoleh bobot kering sebelum diserbuk 1100 gram. Hasil persentase bobot kering dapat dilihat pada lampiran 10.

Tabel 2. Persentase bobot kering terhadap bobot basah daun beluntas

Bobot basah (gram)	Bobot kering (gram)	Rendemen %
9000	1100	12,22%

3. Pembuatan serbuk

Simplisia yang sudah dikeringkan kemudian diserbuk dengan menggunakan alat penggiling. serbuk yang dihasilkan kemudian diayak menggunakan ayakan no 60. Tujuan pengayakan adalah untuk memperbesar ukuran partikel sehingga mempunyai luas permukaan yang besar. Serbuk yang didapat sebelum diayak yaitu 1100 gram kemudian setelah diayak yaitu 1000 gram. Serbuk yang di gunakan untuk maserasi 750 gram.

4. Penetapan susut pengeringan

Susut pengeringan adalah pengukuran sisa zat setelah pengeringan yang dinyatakan dalam nilai persen atau sampai berat konstan yang dinyatakan sebagai nilai persen (Depkes 2000). Penetapan susut pengeringan menggunakan alat *Moisture Balance*. Pada suhu 105⁰C. Dengan hasil sebagai berikut:

Tabel 3. Kadar kandungan lembab serbuk daun beluntas

Bobot awal (gram)	Kadar lembab (%)
2,00	9,3
2,00	9,3
2,00	9,5
Rata-rata	9,36

Berdasarkan hasil pada tabel 3 diketahui bahwa rata-rata kadar lembab serbuk daun beluntas adalah 9,36%. Persyaratan kadar lembab serbuk daun beluntas menurut Farmakope Herbal Indonesia adalah tidak boleh lebih dari 10%, karena jika lebih dari 10% maka serbuk dengan mudah mengalami reaksi enzimatik atau jamur dapat tumbuh dengan mudah sehingga akan mempengaruhi stabilitas ekstrak. Hasil perhitungan kadar lembab serbuk dapat dilihat pada lampiran 12.

5. Hasil pembuatan ekstrak daun beluntas

Serbuk daun beluntas sebanyak 750 gram diekstrak dengan metode maserasi menggunakan etanol 80% sebanyak 11250 ml. Hasil ekstrak kental yang didapat 180 gram

Tabel 4. Persentase rendemen ekstrak daun beluntas

Berat serbuk (gram)	Berat ekstrak (gram)	Rendemen (%)
750	180	24%

Dari hasil pada tabel 4 menunjukkan persentase rendemen ekstrak etanol daun beluntas yang diperoleh sebanyak 24%. Semakin tinggi nilai rendemen menandakan jumlah metabolit yang terekstraksi semakin banyak. Efektivitas ekstraksi dipengaruhi oleh jenis pelarut yang digunakan sebagai penyari, ukuran partikel simplisia, metode dan lamanya ekstraksi. Besar kecilnya rendemen ekstrak juga menunjukkan banyaknya komponen aktif yang terkandung didalam ekstrak (Purnawati 2008). Perhitungan dapat dilihat pada lampiran 11.

6. Uji bebas etanol

Ekstrak daun beluntas dilakukan uji bebas etanol dengan esterifikasi alkohol. Hasil uji bebas etanol ekstrak daun beluntas dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 5. Uji bebas etanol ekstrak daun beluntas

Pustaka	Hasil pengamatan
Tidak tercium bau khas dari etil asetat	Tidak tercium bau ester yang khas dan etil asetat

Uji bebas etanol bertujuan untuk membuktikan bahwa tidak ada kandungan etanol yang terdapat dalam ekstrak etanol daun beluntas. Pelarut yang tertinggal dalam ekstrak menyebabkan bakteri terbunuh bukan karena ekstrak, tetapi oleh sisa pelarut yang tertinggal (Kurniawati 2015). Dengan demikian hasil pada aktivitas antibakteri murni karena pengaruh peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun beluntas. Hasil uji menunjukkan hasil tidak adanya bau ester yang khas.

7. Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun beluntas

Tabel 6. Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun beluntas

No	Kandungan	Hasil uji	Hasil uji Pustaka
1	Alkaloid	-	Terbentuk kekeruhan atau endapan coklat pada reagen dragendrof dan terbentuk endapan putih kekuningan pada reagen Mayer (Depkes 1977)
2	Flavonoid	+	Reaksi positif jika terbentuk warna merah, kuning atau jingga pada amil alkohol (Robinson 1995)
3	Saponin	+	Terbentuk buih selama tidak kurang dari 10 menit (Depkes 1977)

Berdasarkan tabel 3 menunjukkan ekstrak daun beluntas mengandung senyawa flavonoid, dan saponin, sedangkan untuk uji alkaloid hasil yang didapatkan negatif dikarenakan tidak terbentuk kekeruhan dan endapan coklat pada reagen dragendrof dan tidak terbentuk endapan putih kekuningan pada reagen mayer. Pengujian telah dibuktikan di laboratorium Fitokimia Universitas Setia Budi Surakarta. Hasil identifikasi ekstrak daun beluntas dilihat pada lampiran 5.

8. Pembuatan suspensi bakteri uji

Pembuatan suspensi bakteri dilakukan untuk pengendalian jumlah sel bakteri. Pembuatan suspensi bakteri uji *Staphylococcus aureus* menggunakan tabung yang berisi media BHI (*Brain Heart Infusion*). Hasil suspensi bakteri uji disetarakan kekeruhannya dengan standar *Mc Farland* 0,5 yang menunjukkan

konsentrasi bakteri sama dengan 10^8 (CFU)/ml. Hasil pembuatan suspensi dapat dilihat pada lampiran 8.

9. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus*

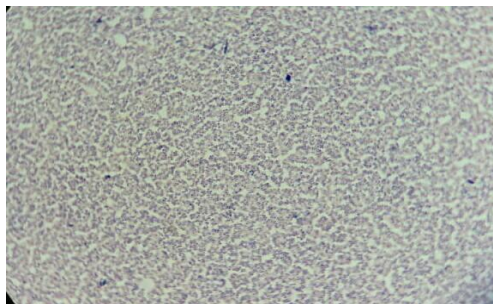
9.1. Identifikasi morfologi *Staphylococcus aureus*. Identifikasi morfologi *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan media *Vogel Johnson Agar*. Identifikasi dilakukan dengan cara menggoreskan inokulasi suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada media *Vogel Johnson Agar* yang telah ditetesi dengan kalium telurit 1% sebanyak 2-3 tetes. Media yang telah berisi dengan bakteri kemudian diinkubasi selama 18-24 jam. Hasil setelah diinkubasi selama 18 jam adalah timbul koloni berwarna hitam dengan media disekitarnya berwarna kuning muda. Warna hitam pada bakteri karena koloni mereduksi kalium telurit, sedangkan warna kuning pada media disebabkan adanya fermentasi manitol sehingga dalam kondisi asam media menghasilkan pigmen yang bervariasi dari putih sampai kuning tua (Jawetz *et al* 2007). Hasil identifikasi dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 6. Identifikasi morfologi *Staphylococcus aureus*

9.2. Pewarnaan Gram. Identifikasi bakteri dengan pewarnaan gram dilakukan dengan membuat preparat oles *Staphylococcus aureus*, hasil identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan secara mikroskopis dengan pewarnaan gram. dimana hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol seperti buah anggur. Warna ungu terbentuk disebabkan lapisan peptidoglikan bakteri gram positif lebih tebal daripada bakteri gram negatif sehingga dapat menahan lebih kuat atau mempertahankan zat kristal violet. Hasil gram negatif ditandai dengan terbentuknya warna merah karena gram negatif

kehilangan kristal violet saat dilakukan pencucian dengan alkohol. Hasil penelitian identifikasi mikroskopis dengan pewarnaan gram menunjukkan bakteri yang akan dipakai benar gram positif dilihat dari terbentuknya warna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol seperti buah anggur (Radiji 2011). Hasil penelitian dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 7. Identifikasi pewarnaan gram

9.3. Hasil uji katalase. Hasil yang diperoleh dari uji katalase pada bakteri *Staphylococcus aureus* adanya gelembung dan oksigen setelah ditetesi dengan H_2O_2 3% sebanyak 2 tetes. Hal ini terjadi karena bakteri *Staphylococcus aureus* menghasilkan enzim katalase, uji katalase juga dapat digunakan untuk membedakan bakteri *Staphylococcus* dengan bakteri *Streptococcus* karena bakteri *Streptococcus* tidak menghasilkan enzim katalase (Radiji 2011). Gambar hasil identifikasi dapat dilihat pada gambar 5.



Gambar 8. Uj katalase

9.4. Hasil uji koagulase. Dilakukan dengan cara menginokulasi koloni bakteri *Staphylococcus aureus* ke dalam BHI 10 ml kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu $37^{\circ}C$. Inokulum tersebut dipindahkan sejumlah 0,2-0,3 ml kedalam tabung reaksi yang sudah disterilkan kemudian ditambahkan 0,5 ml koagulase plasma kemudian disentrifugasi dan diinkubasi pada suhu $37^{\circ}C$. Diamati tiap jam sampai 4 jam pertama dan dilanjutkan sampai 24 jam. Hal ini dimaksudkan

untuk melihat atau mengecek koagulasi yang terbentuk. Koagulan yang terbentuk secara padat atau solid serta tidak jatuh apabila tabung di miringkan dinyatakan positif bahwa bakteri tersebut memang *Staphylococcus aureus* (Jawetz *et al* 2001). Hasil identifikasi pada penelitian ini menunjukkan positif terjadi perubahan plasma darah yang terdenaturasi oleh *Staphylococcus aureus* sehingga terjadi penggumpalan putih. Tes koagulasi ini digunakan untuk membedakan antara bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidi*. Karna *Staphylococcus epidermidis* tidak membentuk gumpalan-gumpalan putih. Hasil gambar identifikasi secara koagulase dapat dilihat pada gambar 6.



Gambar 9. Uji koagulase

10. Formulasi sediaan gel *hand sanitizer*

Formulasi gel *hand sanitizer* menghasilkan 4 formula dimana F1 merupakan sediaan yang tidak mengandung ekstrak, FII mengandung 12% ekstrak daun beluntas, FIII mengandung 24% ekstrak daun beluntas, dan FIV mengandung 36% ekstrak daun beluntas. Dimana kontrol positif menggunakan sediaan gel *hand sanitizer* merek “Detol”. Hasil pembuatan sediaan gel *hand sanitizer* dapat dilihat pada lampiran 7.

11. Hasil pengujian sifat fisik gel

Uji sifat fisik gel yang dilakukan adalah pengamatan organoleptis, uji homogenitas gel, uji viskositas, uji daya sebar, uji daya lekat, dan uji pH

11.1. Hasil uji organoleptis gel. Pengamatan 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.

Tabel 7. Hasil uji organoleptis sediaan gel *hand sanitizer*

Pemeriksaan	Waktu	F I	F II	F III	F IV
Warna	Hari ke-0	B	H	H	H
	Hari ke-7	B	H	H	H
	Hari ke-14	B	H	H	H
	Hari ke-21	B	H	H	H
Bau	Hari ke-0	*	***	***	***
	Hari ke-7	*	***	***	***
	Hari ke-14	*	***	***	***
	Hari ke-21	*	***	***	***
Konsistensi	Hari ke-1	SE	SE	SE	SE
	Hari ke-7	SE	SE	SE	SE
	Hari ke-14	SE	SE	SE	SE
	Hari ke-21	SE	SE	SE	SE

Keterangan :

H : hijau kehitaman

B : bening

SE : sedikit encer

K : kental

* : tidak berbau

*** : menunjukkan bau aromatis ekstrak daun beluntas yang lebih intensif

** : menunjukkan bau aromatis daun beluntas yang sudah berkurang

F I : gel tanpa ekstrak

F II : gel dengan ekstrak daun beluntas 12%

F III : gel dengan ekstrak daun beluntas 26%

F IV : gel dengan ekstrak daun beluntas 36%

Sediaan gel *hand sanitizer* ekstrak daun beluntas yang dihasilkan menunjukkan pada hari pertama setelah pembuatan sediaan memiliki bau khas aromatis ekstrak daun beluntas yang lebih intensif, bau khas aromatis ekstrak daun beluntas tetap intensif setelah penyimpanan selama 21 hari, hal ini dapat diartikan ekstrak daun beluntas yang digunakan dapat bertahan lama dalam campuran basis dalam jumlahnya yang lebih besar. Sedangkan warna pada setiap formulasi berbeda-beda. *Hand sanitizer* tanpa penambahan ekstrak daun beluntas (F I) tidak berwarna. Sedangkan formula *hand sanitizer* dengan ekstrak daun beluntas berwarna hijau kehitaman, dan tingkat kepekatan warnanya bertambah seiring dengan penambahan ekstrak. Sedangkan konsistensi pada pada semua formula gel *hand sanitizer* didapatkan hasil yaitu sedikit encer. Bau, warna, dan konsistensi dari masing-masing formula diatas tidak mengalami perubahan setelah penyimpanan selama 21 hari, artinya sediaan gel *hand sanitizer* daun beluntas yang dibuat relatif stabil secara fisik.

11.2. Hasil uji homogenitas. Tujuan uji homogenitas sediaan untuk mengetahui apakah ekstrak daun beluntas dalam sediaan sudah homogen atau belum, hal ini penting dilakukan karena homogenitas berpengaruh terhadap efektivitas terapi sediaan tersebut. Uji homogenitas dapat dilakukan dengan melihat keseragaman warna dan basis secara visual, jika warna dan basis sudah tersebar merata maka sediaan tersebut dapat dikatakan homogen. Hasil uji homogenitas sediaan gel ekstrak etanol daun beluntas dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Hasil uji homogenitas sediaan gel *hand sanitizer*

Formula	Hari ke-0	Hari ke-7	Hari ke-14	Hari ke-21
Formula I	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
Formula II	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
Formula III	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
Formula IV	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen

Keterangan :

- F I : gel tanpa ekstrak
 F II : gel dengan ekstrak daun beluntas 12%
 F III : gel dengan ekstrak daun beluntas 24%
 F IV : gel dengan ekstrak daun beluntas 36%

Hasil pengujian homogenitas gel menunjukkan bahwa keempat formula sediaan gel *hand sanitizer* ekstrak daun beluntas dinyatakan homogen pada hari 1 sampai hari ke 21. Semua sediaan memiliki warna yang tersebar merata. Hal ini disebabkan karena pencampuran ekstrak daun beluntas dengan sediaan gel yang sudah homogen.

11.3. Hasil uji pH. Pengujian pH dilakukan untuk mengetahui bahwa sediaan gel *hand sanitizer* ekstrak daun beluntas sesuai dengan pH kulit. Hal ini penting dilakukan agar sediaan gel *hand sanitizer* dapat digunakan dengan baik pada kulit sehingga menghasilkan efektivitas terapi yang baik pula. Hasil uji pH gel *hand sanitizer* ekstrak daun beluntas dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 9. Hasil uji pH sediaan gel *hand sanitizer*.

Formula	Nilai ph \pm SD			
	Hari ke-0	Hari ke-7	Hari ke-14	Hari ke-21
Formula I	7,14 \pm 0,05	7,13 \pm 0,01	6,91 \pm 0,05	6,89 \pm 0
Formula II	5,32 \pm 0,05	5,32 \pm 0,05	5,21 \pm 0,05	5,12 \pm 0,05
Formula III	4,86 \pm 0,05	4,85 \pm 0,05	4,74 \pm 0,05	4,71 \pm 0,05
Formula IV	4,65 \pm 0	4,64 \pm 0,05	4,51 \pm 0	4,47 \pm 0,05

Keterangan :

- F I : gel tanpa ekstrak
 F II : gel dengan ekstrak daun beluntas 12%
 F III : gel dengan ekstrak daun beluntas 24%
 F IV : gel dengan ekstrak daun beluntas 36%

Hasil pengujian pH dilakukan pada minggu 1, 2, 3, dan 4 menunjukkan hasil yang berbeda-beda pada setiap formula, pada formula dengan 0% ekstrak (FI) menunjukkan pH netral (pH 7) pada minggu ke-1 dan 2, kemudian stabil pada (pH=6) stabil pada minggu ke 3 dan ke 4. Formula *hand sanitizer* dengan 12% ekstrak dari daun beluntas (FII) mengalami penurunan pH dari 7 menjadi 5 dan stabil pada minggu ke-1 sampai minggu ke-4. Formula *hand sanitizer* dengan 24% ekstrak beluntas (FIII) stabil pada (pH 4,8) pada minggu ke ke-1 dan ke-2 kemudian mengalami penurunan pH pada minggu ke-3 dan minggu ke-4 menjadi 4,7. Formula *hand sanitizer* dengan 36% ekstrak beluntas (FIV) stabil pada minggu ke-1 dan minggu ke-2 yaitu (pH 4,6) kemudian mengalami penurunan pada minggu ke-3 menjadi (pH 4,5) dan minggu ke-4 menjadi (pH 4,4). Uji pH selama 4 minggu tersebut menunjukkan terjadinya penurunan pH seiring dengan penambahan ekstrak daun beluntas. Hal ini dikarenakan pH ekstrak daun beluntas adalah (pH=5) sehingga dengan meningkatnya kadar ekstrak maka pH semakin menurun, tetapi dari ketiga formulasi dengan penambahan ekstrak daun beluntas, tidak ada yang lebih rendah dari rentang pH kulit yaitu 4,5-6,5 (Rini, *et al.* 2017). Artinya, sediaan memiliki nilai pH yang bagus dan masih aman diaplikasikan pada kulit.

Data hasil uji pH yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan program SPSS. Analisis menggunakan metode *Kolmogrov Smirnov* terlihat nilai sig 0,187 >0,05 yang artinya data tersebut terdistribusi normal. Selanjutnya untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh variasi ekstrak dari setiap formula terhadap pH. Dilakukan uji *Oneway Anova*. Hasil analisis *Anova* menunjukkan nilai sig 0,000 yang berarti < 0,05 sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat ada perbedaan pH yang signifikan dari setiap formula sediaan. Hal ini disebabkan karena ada variasi konsentrasi ekstrak daun beluntas. Selanjutnya dilakukan uji *Post Hoc* untuk mengetahui lebih lanjut perbedaan yang terjadi antar kelompok variabel. Perbedaan yang signifikan ditandai dengan tanda (*) pada *Mean difference* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar formula.

Selanjutnya untuk melihat ada tidaknya perbedaan terhadap kestabilan pH formula sediaan pada waktu sebelum penyimpanan dan sesudah penyimpanan selama 21 hari menggunakan uji *paired samples t-test* dengan taraf kepercayaan

95%. Berdasarkan analisis *paired samples correlations* menunjukkan hubungan antara waktu sebelum dan sesudah penyimpanan. Hasil korelasi sig > 0,05 pada sediaan FII dan FIII menyatakan bahwa korelasi nilai pH sebelum dan sesudah penyimpanan tidak ada hubungan secara nyata sedangkan pada FI dan FIV korelasi sig < 0,05 yang berarti ada hubungan secara nyata. Artinya sediaan formula II dan formula III stabil dalam penyimpanan selama 21 hari.

11.4. Hasil uji viskositas. Uji viskositas ditunjukkan untuk mengetahui tingkat kekentalan suatu sediaan. Pada sediaan gel *hand sanitizer* ekstrak daun beluntas perlu dilakukan uji viskositas untuk mengetahui kekentalan sediaan gel. Sediaan gel yang bagus tidak boleh terlalu kental dan tidak boleh terlalu encer. Jika suatu sediaan gel *hand sanitizer* terlalu kental maka dapat mengurangi kenyamanan pengguna saat menggunakan, karena akan terasa sangat lengket namun jika sediaan gel *hand sanitizer* terlalu encer maka sediaan tersebut tidak dapat bertahan lama pada kulit sehingga efektivitas terapi yang diinginkan tidak tercapai. Hasil pengamatan uji viskositas sediaan gel *hand sanitizer* ekstrak daun beluntas dapat dilihat pada tabel 10.

Tabel 10. Uji viskositas sediaan gel *hand sanitizer*

Formula	Viskositas			
	Hari ke-0	Hari ke-7	Hari ke-14	Hari ke-21
Formula I	3,24 ± 0,01	3,27 ± 0,01	3,06 ± 0,05	3,00 ± 0
Formula II	3,32 ± 0,01	3,35 ± 0,05	3,23 ± 0,05	3,06 ± 0,05
Formula III	3,54 ± 0,01	3,42 ± 0,02	3,33 ± 0,03	3,13 ± 0
Formula IV	3,62 ± 0,01	3,56 ± 0,05	3,45 ± 0,11	3,33 ± 0,05

Keterangan :

- F I : gel tanpa ekstrak
- F II : gel dengan ekstrak daun beluntas 12%
- F III : gel dengan ekstrak daun beluntas 24%
- F IV : gel dengan ekstrak daun beluntas 36%

Berdasarkan hasil uji viskositas pada tabel 10, didapatkan nilai viskositas formula gel *hand sanitizer* pada formula I=3,24 dPas, formula II=3,32 dPas, formula III=3,54 dPas, dan formula IV=3,62 dPas. Hal ini mengalami peningkatan nilai viskositas yang dipengaruhi oleh ekstrak, karena semakin banyak ekstrak yang ditambahkan maka jumlah air semakin sedikit, sehingga menyebabkan sediaan gel *hand sanitizer* semakin kental. Namun, pada pengujian stabilitas minggu ke 0 sampai minggu ke 3 dari formula I sampai formula IV menunjukkan nilai viskositas yang semakin menurun karena hal ini dipengaruhi oleh penyimpanan. Selama

proses penyimpanan, cmc Na mengalami suatu kerusakan yang menyebabkan perubahan pada viskositas gel. Hal ini disebabkan oleh suhu dan kemasan yang kurang kedap sehingga gel dapat menyerap uap air dari luar dan menyebabkan volume air dalam gel bertambah. Selain itu penambahan propilen glikol dengan konsistensi yang cair dapat menurunkan viskositas sediaan gel (Nutrisia 2015). Hal ini dapat dikatakan bahwa hasil pengujian viskositas tersebut memenuhi syarat. Pada pengujian viskositas menunjukkan viskositas paling baik adalah pada formula II, tetapi pada formula II tersebut zona hambatnya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* lebih kecil dibanding formula IV dikarenakan pada formula II konsentrasi ekstraknya lebih kecil dibandingkan formula IV.

Data hasil uji viskositas yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan program SPSS. Analisis menggunakan metode *Kolmogorov Smirnov* terlihat nilai sig $0,496 > 0,05$ yang artinya data tersebut terdistribusi normal. Selanjutnya untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh variasi konsentrasi ekstrak daun beluntas pada setiap formula terhadap viskositas dilakukan uji *Oneway Anova*. Hasil analisis anova menunjukkan nilai sig $0,000$ yang berarti sig $< 0,05$ sehingga dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan viskositas yang signifikan dari setiap formula sediaan. Hal ini disebabkan karena adanya variasi konsentrasi ekstrak pada setiap formula sediaan. Selanjutnya dilakukan uji *Post Hoc* untuk mengetahui lebih lanjut perbedaan yang terjadi antar kelompok variabel. Perbedaan yang signifikan ditandai dengan adanya tanda bintang (*) pada *mean difference* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar formula.

Selanjutnya untuk melihat ada tidaknya perbedaan terhadap kestabilan viskositas formula sediaan pada waktu sebelum penyimpanan dan sesudah penyimpanan selama 21 hari menggunakan uji *paired samples t-test correlations* menunjukkan hubungan antara waktu sebelum dan sesudah penyimpanan. Hasil korelasi sig di atas $0,05$ pada sediaan FI dan FII. Menyatakan bahwa korelasi nilai viskositas sebelum dan sesudah tidak ada hubungan secara nyata. Pengambilan keputusan berdasarkan hasil *paired samples t-test* menyatakan bahwa FIII dan FIV menunjukkan nilai sig $< 0,05$ sehingga dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan

signifikan terhadap kestabilan viskositas sebelum dan sesudah penyimpanan. Hasil uji statistik dapat dilihat pada lampiran 12.

11.5. Hasil uji daya sebar. Pengujian daya sebar gel bertujuan untuk mengetahui seberapa besar kemampuan suatu sediaan gel untuk menyebar pada permukaan kulit. Sediaan gel yang baik adalah sediaan gel yang memiliki daya sebar yang luas, mudah dicuci dan dapat diabsorpsi oleh kulit. Hasil pengukuran daya sebar gel dapat dilihat pada tabel 11.

Tabel 11. Uji daya sebar

Formula	Beban	Diameter daya sebar (cm \pm SD)			
		Hari ke-0	Hari ke-7	Hari ke-14	Hari ke-21
1	49,3008	4,94 \pm 0,02	5,05 \pm 0,02	4,97 \pm 0,00	5,07 \pm 0,00
	99,3008	6,16 \pm 0,03	6,45 \pm 0,23	6,26 \pm 0,02	6,33 \pm 0,01
	149,3008	6,83 \pm 0,02	7,01 \pm 0,01	6,88 \pm 0,02	0,93 \pm 0,05
	199,3008	6,62 \pm 0,00	6,74 \pm 0,03	6,74 \pm 0,01	6,79 \pm 0,01
2	49,3008	4,91 \pm 0,07	5,07 \pm 0,02	5,13 \pm 0,01	5,24 \pm 0,01
	99,3008	5,76 \pm 0,06	6,11 \pm 0,01	6,10 \pm 0,02	6,20 \pm 0,04
	149,3008	6,54 \pm 0,02	6,65 \pm 0,01	6,67 \pm 0,04	6,74 \pm 0,02
	199,3008	6,65 \pm 0,03	6,75 \pm 0,13	6,80 \pm 0,03	6,84 \pm 0,02
3	49,3008	4,20 \pm 0,02	4,00 \pm 0,01	4,09 \pm 0,02	4,19 \pm 0,02
	99,3008	4,35 \pm 0,05	4,49 \pm 0,03	4,54 \pm 0,03	4,61 \pm 0,02
	149,3008	4,62 \pm 0,00	4,71 \pm 0,01	4,72 \pm 0,05	4,79 \pm 0,06
	199,3008	4,72 \pm 0,02	5,05 \pm 0,04	5,15 \pm 0,05	5,22 \pm 0,02
4	49,3008	4,20 \pm 0,00	4,20 \pm 0,02	4,24 \pm 0,01	4,29 \pm 0,03
	99,3008	4,05 \pm 0,13	4,45 \pm 0,05	4,54 \pm 0,01	4,69 \pm 0,03
	149,3008	4,62 \pm 0,00	5,00 \pm 0,02	5,07 \pm 0,02	5,16 \pm 0,01
	199,3008	4,74 \pm 0,01	5,10 \pm 0,02	5,18 \pm 0,01	5,22 \pm 0,02

Keterangan :

F I : gel tanpa ekstrak

F II : gel dengan ekstrak daun beluntas 12%

F III : gel dengan ekstrak daun beluntas 24%

F IV : gel dengan ekstrak daun beluntas 36%

Berdasarkan hasil uji daya sebar pada tabel 11, dapat diketahui bahwa nilai rata-rata daya sebar formula gel *hand sanitizer* yang dibuat pada formula 1 sampai dengan formula 4 dengan nilai rata-rata= 4,05 cm – 6,84 cm. Artinya sediaan gel *hand sanitezer* ekstrak daun beluntas memiliki daya sebar yang baik dan dinyatakan memenuhi syarat uji daya sebar karena persyaratan uji daya sebar berkisar antara 5-7 cm (Wasiaturrahmah & Raudhatul 2018). Pada pengujian minggu ke 1 sampai minggu ke 3 viskositas gel semakin rendah artinya gel semakin encer yang dipengaruhi oleh penyimpanan sehingga menyebabkan daya sebar semakin besar. Berdasarkan hasil uji daya sebar menunjukkan nilai daya sebar paling baik adalah pada formula II, tetapi pada formula II tersebut zona hambatnya

terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* lebih kecil dibanding formula IV dikarenakan pada formula II konsentrasi ekstraknya lebih kecil dibandingkan formula IV

Data hasil uji daya sebar yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan program SPSS. Analisis menggunakan metode *Kolmogrov Smirnov* terlihat nilai sig $0,302 > 0,05$ yang artinya data tersebut terdistribusi normal. Selanjutnya untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh variasi konsentrasi dari setiap formula terhadap daya sebar dilakukan uji *Oneway Anova*. Hasil analisis Anova selanjutnya nilai sig $0,002$ yang berarti sig $< 0,05$ sehingga dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan daya sebar yang signifikan dari setiap formula sediaan. Hal ini disebabkan karena adanya variasi ekstrak daun beluntas yang cukup besar pada setiap formula sediaan. Selanjutnya dilakukan uji *Post hoc* untuk mengetahui lebih lanjut perbedaan yang terjadi antar kelompok variabel. Perbedaan yang signifikan ditandai dengan dengan tanda (*) pada *mean difference* menunjukkan perbedaan yang signifikan antar formula. Hasil uji statistik dapat dilihat pada lampiran 12

11.6. Hasil uji daya lekat. uji daya lekat dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kemampuan gel melekat dikulit. Gel yang memiliki daya lekat yang tinggi akan melekat lama dikulit, sebaliknya gel yang memiliki daya lekat yang rendah akan cepat hilang dari kulit. Semakin besar daya lekat gel maka akan semakin lama gel tersebut melekat pada kulit sehingga semakin bagus dan efektif dalam penghantaran zat aktif ke dalam kulit. Dilakukan pengujian daya lekat pada minggu ke-0 atau hari dimana gel tersebut dibuat kemudian diuji pada hari pertama kemudian diuji lagi pada minggu ke-3. Hasil uji daya lekat sediaan gel *hand sanitizer* ekstrak daun beluntas dapat dilihat pada tabel 10.

Tabel 12. Hasil uji daya lekat

Formula	Beban (gram)	Rata-rata daya lekat (detik \pm SD)			
		Hari ke-0	Hari ke-7	Hari ke-14	Hari ke-21
Formula I	100 gr	5 \pm 1	5 \pm 1	4,3 \pm 0,5	4 \pm 0
Formula II	100 gr	6 \pm 0	5,6 \pm 0,5	4,6 \pm 0,5	4,3 \pm 0,5
Formula III	100 gr	5,6 \pm 0,5	5,6 \pm 0,5	4 \pm 0	4,3 \pm 0,5
Formula IV	100 gr	5,3 \pm 0,5	6 \pm 1	4,3 \pm 0,5	4,6 \pm 0,5

Keterangan :

- F I : gel tanpa ekstrak
- F II : gel dengan ekstrak daun beluntas 12%
- F III : gel dengan ekstrak daun beluntas 24%
- F IV : gel dengan ekstrak daun beluntas 36%

Hasil pengujian daya lekat menunjukkan bahwa formula sediaan *gel hand sanitizer* yang telah dibuat memiliki rentang nilai 4,3 – 6 detik dan memenuhi kriteria daya lekat gel. daya lekat gel yang baik tidak kurang dari 4 detik (Wasiaturrahmah & Raudhatul 2018). Pengujian daya lekat pada waktu penyimpanan hari ke 14 dan hari ke 21 terjadi penurunan daya lekat namun masih memenuhi kriteria *range* daya lekat terjadinya penurunan daya lekat dari masing-masing formula sediaan kemungkinan disebabkan oleh pengaruh lingkungan seperti kemasan yang kurang kedap sehingga gel dapat menyerap uap air dari luar selama proses pembuatan, pengujian mutu fisik, maupun selama penyimpanan dalam waktu yang telah ditentukan.

12. Hasil pengujian aktivitas antibakteri *gel hand sanitizer* ekstrak daun beluntas

Pengujian aktivitas antibakteri formula gel *hand sanitizer* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan metode difusi. Pengujian aktivitas antibakteri formula gel *hand sanitizer* ekstrak daun beluntas dengan berbagai konsentrasi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan metode difusi cakram yang dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi. Pengujian antibakteri dengan tingkat konsentrasi yang berbeda bertujuan untuk melihat pengaruh setiap konsentrasi formula *hand sanitizer* ekstrak daun beluntas pada bakteri uji. Semakin besar suatu konsentrasi maka semakin besar pula diameter zona hambat yang terbentuk (Haryati *et al.* 2015). Konsentrasi formula gel *hand sanitizer* yang digunakan yaitu 0%, 12%, 24%, 36%, kontrol positif yang digunakan yaitu gel *hand sanitizer* “detol” dan DMSO 3% sebagai kontrol negatif.

Tabel 13. Uji aktivitas antibakteri

Sampel	Diameter zona hambat (mm ± SD)			Rata-rata ± SD
	Replikasi			
	I	II	III	
FI	0	0	0	0 ± 0
FII	9,5	9	9,5	9,33 ± 0,28
FIII	10	9,5	10	9,83 ± 0,28
FIV	14,75	13,75	15,5	14,66 ± 0,87
K(+)	20	20	20	20 ± 0
K(-)	0	0	0	0 ± 0

Keterangan :

F I : gel tanpa ekstrak

F II : gel dengan ekstrak daun beluntas 12%

- F III : gel dengan ekstrak daun beluntas 24%
 F IV : gel dengan ekstrak daun beluntas 36%
 K(+) : sediaan gel *hand sanitizer* “detol”
 K(-) : DMSO 3%

Berdasarkan hasil pengamatan uji aktivitas antibakteri formula gel *hand sanitizer* ekstrak daun beluntas dengan konsentrasi 0%, 12%, 24%, 36% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara difusi cakram menunjukkan adanya zona hambat. Area jernih disekeliling cakram menandakan adanya zona hambat terhadap *Staphylococcus aureus*. Formula gel *hand sanitizer* dengan konsentrasi 36% memiliki zona hambat lebih aktif dari formula gel *hand sanitizer* 12%, dan 24%, terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Tabel 13 menjelaskan hasil tiap formula gel *hand sanitizer* yang menunjukkan diameter zona bunuh, yakni tiap formula memiliki, diameter zona hambat yang berbeda. Semakin besar konsentrasi ekstrak daun beluntas pada formula gel *hand sanitizer* maka semakin besar pula diameter zona hambatnya.

Hasil pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi secara statistik dengan ANOVA *one way*. ANOVA *one way* bertujuan untuk membandingkan sampel pada tiap konsentrasi. Data yang dianalisis dengan ANOVA *one way* adalah konsentrasi 0%, 12%, 24%, 36% dari formula gel *hand sanitizer* ekstrak daun beluntas. Kontrol positif diikuti sertakan dalam analisis ANOVA *one way*. Hasil data uji statistik bertujuan untuk membandingkan hubungan antara formula I, II, III, IV, dan kontrol positif guna mendapatkan ada atau tidaknya perbedaan yang signifikan.

Analisis pertama dengan *test Kolmogrov-smirnov* diperoleh nilai signifikansi $0,596 > 0,05$ maka H_0 diterima, data tersebut terdistribusi normal sehingga dapat dianalisis ANOVA *one way*. Nilai probabilitas *Levene Statistic* adalah $0,032 < 0,05$ yang artinya kelima sampel tidak memiliki varian yang sama. Hasil signifikansi dari data uji ANOVA adalah $0,000 < 0,05$ yang artinya kelima sampel ada perbedaan dalam diameter zona hambat.

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa formula IV dengan konsentrasi ekstrak daun beluntas 36% terbukti paling aktif terhadap aktivitas antibakteri, karena memiliki daya hambat yang paling besar. Dibandingkan formula gel *hand*

sanitizer I, II, dan III dengan konsentrasi ekstrak daun beluntas 0%, 12%, 24%. Sedangkan formulasi sediaan gel *hand sanitizer* pada formula II memiliki uji mutu fisik yang paling baik, hal ini dapat dilihat dari beberapa parameter pengujian yaitu uji homogenitas, organoleptis, dan daya sebar. Tetapi pada formula II tersebut zona hambatnya lebih kecil dibandingkan formula IV dikarenakan pada formula II konsentrasi ekstrak lebih kecil dari formula IV. Untuk melihat adanya perbedaan yang signifikan digunakan uji Tukey. Berdasarkan tabel uji Tukey terdapat tanda * pada *Mean Difference*, tanda tersebut menunjukkan bahwa adanya perbedaan daya bunuh berbagai konsentrasi ekstrak daun beluntas signifikan. Apabila tidak terdapat tanda * maka daya bunuh ekstrak daun beluntas tidak signifikan yang artinya tidak memiliki perbedaan. Pada *Homogeneous Subsets* terlihat bahwa formula IV dengan konsentrasi 36% berada pada subsets ke 3 dari 4 subsets, yang artinya paling aktif dalam membunuh pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil analisis uji ANOVA *one way* dapat dilihat pada lampiran.

Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak daun beluntas mengandung senyawa flavonoid dan saponin yang dapat memiliki aktivitas antibakteri. Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol. Flavonoid terdapat pada unsur polifenol (Robinson 1995). Senyawa flavonoid memiliki mekanisme kerja dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara menginaktivasi protein (enzim) pada membran sel. Selain itu, flavonoid juga mempunyai mekanisme kerja sebagai antibakteri yaitu dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa yang ada didalam sel (Ngajow *et al.* 2013)