

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI *SPRAY GEL* EKSTRAK ETANOLIK
DAUN ASHITABA (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) TERHADAP
Staphylococcus aureus ATCC 25923 SECARA *in vivo***



Oleh :

Helmy Azhuri

20144072 A

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI SPRAY GEL EKSTRAK ETANOLIK
DAUN ASHITABA (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) TERHADAP
Staphylococcus aureus ATCC 25923 SECARA *in vivo***



SKRIPSI

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
derajat Sarjana Farmasi (S.Farm.)*

*Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

Oleh :

Helmy Azhuri

20144072 A

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

PENGESAHAN SKRIPSI

berjudul

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI *SPRAY GEL* EKSTRAK ETANOLIK DAUN ASHITABA (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 SECARA *in vivo*

Oleh :

Helmy Azhuri

20144072 A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada Tanggal : 21 Juli 2018

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Prof. Dr. R.A. Oefari, SU., MM., MSc., Apt

Pembimbing Utama,

Opstaria Saptarini, S.Farm.,M.Si., Apt.

Pembimbing Pendamping,

Dewi Ekowati, S.Si.,M.Sc.,Apt.

Penguji :

1. Dra. Suhartinah, M.Sc.,Apt.
2. Fransiska Leviana, S.Farm.,M.Sc.,Apt.
3. Desi Purwaningsih, S.Pd.,M.Si.
4. Opstaria Saptarini, S.Farm.,M.Si.,Apt.

1.
2.
3.
4.

PERSEMBAHAN



Bacalah dengan menyebut nama Tuhanmu

Dia telah menciptakan manusia dari segumpal darah Bacalah, dan Tuhanmulah yang maha mulia

Yang mengajar manusia dengan penah,

Dia mengajarkan manusia apa yang tidak diketahuinya (QS: Al-'Alaq 1-5)

Maka nikmat Tuhanmu yang manakah yang kamu dustakan ? (QS: Ar-Rahman 13)

Sesuatu yang belum dikerjakan, seringkali tampak mustahil; kita baru yakin kalau kita telah berhasil melakukannya dengan baik."

Bukanlah suatu aib jika kamu gagal dalam suatu usaha, yang merupakan aib adalah jika kamu tidak bangkit dari kegagalan itu

Kupersembahkan Skripsi ini untuk :

- ◆ Allah Yang Maha Kuasa, yang memberikan kekuatan agar terus semangat menyelesaikan skripsi meskipun banyak halangan.
- ◆ Keluarga saya (Ibuk dan Adikku), dek linda yang selalu mendukung agar tak mudah menyerah, dan mendukung menjadi orang yang bertanggung jawab. Sebagai tanda bakti, hormat, dan rasa terima kasih yang tiada terhingga kupersembahkan karya kecil ini kepada keluarga yang telah memberikan kasih sayang, segala dukungan, dan cinta kasih yang tiada terhingga.
- ◆ Dosen pembimbingku Ibu Opstaria Saptarini, S.Farm.,M.Si.,Apt dan Ibu Dewi Ekowati M.Sc.,Apt. Selaku dosen pembimbing tugas akhir saya, terima kasih banyak sudah mau membimbing dan meluangkan waktu untuk membagikan ilmunya padahal diri ini masih penuh kekurangan.
 - ◆ Terimakasih untuk rekan-rekan PEJANTAN TANGGUH yang selalu menyemangati dan memberi motivasi saya.
 - ◆ Serta teman-teman KONTRAKAN KUKAR, SAMARINDA, dan KOST JABOR
 - ◆ Teman-temanku yang tidak bisa disebutkan satu persatu terima kasih banyak atas segala bantuan selama proses pengerjaan skripsi ini
- ◆ Almamater Kebanggaanku Fakultas Farmasi USB 2014.
 - ◆ Agama, Bangsa dan Negara ku Indonesia.

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, Juni 2018

Tanda tangan



Helmy Azhuri

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan Skripsi yang berjudul “UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI *SPRAY GEL* EKSTRAK ETANOLIK DAUN ASHITABA (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 SECARA *invivo*”. Penyusunan Skripsi ini untuk memenuhi persyaratan guna mencapai derajat S-1 dalam Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.

Dalam penyusunan Skripsi tidak lepas berkat bantuan, bimbingan serta dukungan dari berbagai pihak. Penulis mengucapkan terima kasih kepada yang terhormat :

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta
2. Prof. Dr. R. A Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Ibu Opstaria Saptarini, S.Farm.,M.Si.,Apt, selaku Pembimbing Utama yang telah banyak memberikan bimbingan serta arahan dalam pembuatan Skripsi ini.
4. Ibu Dewi Ekowati M.Sc.,Apt., selaku Pembimbing Pendamping yang telah banyak memberikan bimbingan serta arahan dalam pembuatan Skripsi ini.
5. Tim penguji skripsi yang telah menyediakan waktu untuk menguji dan memberikan masukan kepada peneliti untuk penyempurnaan Skripsi ini.
6. Staff laboratorium dan Staff perpustakaan Universitas Setia Budi yang banyak membantu dalam pelaksanaan praktek Skripsi ini.
7. Ibukku Suwarni dan Adikku Wibi Azhuri yang selalu memberikan semangat, motivasi, dan doa yang tiada hentinya untuk masa depan dan kesuksesanku.
8. Teruntuk Brelian Odra Faulinda yang telah selalu memberikan motivasi, doa menyemangati serta membantu dalam segala aspek.
9. Semua sahabat dan teman yang tidak dapat saya sebutkan semua yang selalu memberikan semangat dan membuat tawa dan canda untuk jangan menyerah.

10. Terimakasih jas laboratorium yang sangat berjasa menemani perjuangan.
11. Semua teman angkatan 2014 S-1 Farmasi Universitas Setia Budi.
12. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan Skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan Skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan, untuk itu maka penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun demi kelengkapan Skripsi ini. Penulis berharap Skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis, pembaca serta untuk perkembangan ilmu kesehatan.

Surakarta, Juni 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
PERSEMBAHAN.....	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
INTISARI.....	xvi
ABSTRACT.....	xvii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar belakang masalah.....	1
B. Perumusan masalah.....	3
C. Tujuan penelitian.....	3
D. Kegunaan penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
A. Tanaman ashitaba.....	4
1. Sistematika tanaman.....	4
2. Nama lain	4
3. Morfologi tanaman	5
4. Kandungan kimia	5
5. Khasiat.....	6
B. Simplisia.....	7
1. Pengertian simplisia	7
2. Pengumpulan simplisia.....	7
C. Ekstraksi.....	7

1.	Pengertian ekstraksi.....	7
2.	Metode ekstraksi simplisia	8
D.	Infeksi.....	8
E.	<i>Staphylococcus aureus</i>	9
1.	Sistematika <i>Staphylococcus aureus</i>	9
2.	Morfologi dan sifat	9
3.	Patogenesis	10
F.	Antibakteri.....	11
1.	Mekanisme kerja	11
1.1	Antimikroba yang menghambat metabolisme sel mikroba	12
1.2	Antimikroba yang menghambat sintesis dinding sel mikroba.....	12
1.3	Antimikroba yang mengganggu keutuhan membran sel mikroba	12
1.4	Antimikroba yang menghambat sintesis protein sel mikroba.....	12
1.5	Antimikroba yang menghambat sintesis asam nukleat sel mikroba ...	13
G.	Gel semprot (<i>Spray gel</i>)	13
H.	Monografi Bahan	15
1.	Carbopol 940 (Polyacrylic acid).....	15
2.	CMC Na	16
3.	Propilen glikol	16
4.	Triethanolamin	17
5.	Metil paraben (Nipagin)	17
6.	Akuadest.....	17
7.	Gentamisin.....	17
I.	Uji Mutu Fisik <i>Spray gel</i>	18
1.	Pemeriksaan organoleptik	18
2.	Pemeriksaan homogenitas	18
3.	Pengukuran viskositas	18
4.	Pengukuran pH	18
5.	Pemeriksaan pola penyemprotan	18
6.	Pengujian daya sebar lekat	18
J.	Uji Stabilitas <i>Spray gel</i>	19

1. Freeze Thaw	19
K. Hewan percobaan	19
L. Landasan teori	20
M. Hipotesa	22
BAB III METODE PENELITIAN.....	23
A. Populasi dan sampel.....	23
B. Variabel penelitian	23
1. Identifikasi variabel utama	23
2. Klasifikasi variabel utama	23
3. Definisi operasional variabel utama	24
C. Bahan dan Alat.....	25
1. Bahan.....	25
2. Alat	25
D. Jalannya penelitian	26
1. Determinasi dan identifikasi.....	26
2. Pemilihan bahan daun ashitaba	26
3. Pembuatan serbuk.....	26
5. Pembuatan ekstrak etanol daun ashitaba (<i>Angelica keiskei</i> (Miq.) Koidz).....	26
6. Uji bebas alkohol ekstrak etanol daun ashitaba.....	27
7. Identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol daun ashitaba	27
8. Formula <i>spray gel</i>	28
9. Pembuatan sediaan <i>spray gel</i>	28
10. Pembuatan kontrol	29
11. Pengujian sifat fisik sediaan <i>spray gel</i>	29
Pengujian sifat fisik sediaan <i>spray gel</i>	29
12. Identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	31
12.1. Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 dengan media selektif.....	31
12.2 . Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 dengan pewarnaan Gram	31

12.3. Identifikasi bakteri dengan uji biokimia	31
13. Pembuatan suspensi bakteri	32
E. Pengujian efek antibakteri	32
F. Pengamatan pengujian efek antibakteri	33
G. Perhitungan koloni bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 dari nanah	33
H. Analisis data	33
I. Skema penelitian	35
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	40
A. Hasil Penelitian	40
1. Determinasi tanaman	40
3. Hasil pembuatan serbuk	41
4. Penetapan susut pengeringan daun ashitaba	41
5. Pembuatan ekstrak etanol daun ashitaba (<i>Angelica keiskei</i> (Miq.) Koidz)	42
6. Uji bebas alkohol ekstrak etanol daun ashitaba	43
7. Identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol daun ashitaba	43
8. Pengujian sifat fisik sediaan <i>spray gel</i>	44
9. Identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	56
10. Hasil pengujian aktivitas antibakteri secara <i>in vivo</i>	60
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	67
Kesimpulan	67
Saran	67
DAFTAR PUSTAKA	68
LAMPIRAN	72

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Daun Ashitaba (Sumber dokumen pribadi, 2017).....	4
Gambar 2. Ekstraksi daun ashitaba (<i>Angelica keiskei</i> (Miq.) Koidz).....	35
Gambar 3. Skema kerja pembuatan formulasi <i>spray gel</i> ekstrak daun ashitaba (<i>Angelica keiskei</i> (Miq.) Koidz)	36
Gambar 4. Skema pembuatan <i>spray gel</i> ekstraksi daun ashitaba (<i>Angelica keiskei</i> (Miq.) Koidz)	37
Gambar 5. Skema pengujian <i>spray gel</i> ekstraksi daun ashitaba (<i>Angelica keiskei (Miq.) Koidz</i>).	38
Gambar 6. Diagram hasil uji pH <i>spray gel</i> ekstrak daun ashitaba.....	47
Gambar 7. Diagram viskositas <i>spray gel</i> ekstrak daun ashitaba.....	48
Gambar 8. Diagram pola penyemprotan <i>spray gel</i> ekstrak etanol daun ashitaba ..	50
Gambar 9. Diagram hasil uji kestabilan pH <i>spray gel</i> ekstrak daun ashitaba.....	54
Gambar 10. Diagram hasil uji kestabilan viskositas <i>spray gel</i> ekstrak daun ashitaba.....	55
Gambar 11. Hasil uji media selektif.....	57
Gambar 12. Hasil pewarnaan gram bakteri.....	58
Gambar 13. Hasil uji katalase	59
Gambar 14. Hasil uji koagulase	60
Gambar 15. Diagram hasil uji aktivitas antibakteri <i>spray gel</i> ekstrak daun ashitaba.....	63
Gambar 16. Diagram pertumbuhan koloni	65

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Formula Standar Antibacterial Hand Gel Minyak Atsiri Galanga Acuan (100 ml)	28
Tabel 2. Rancangan formula <i>Spray gel</i> yang telah dimodifikasi	28
Tabel 3. Hasil rendemen serbuk daun ashitaba	40
Tabel 4. Hasil rendemen serbuk terhadap berat daun kering	41
Tabel 5. Hasil penetapan kandungan lembab serbuk daun ashitaba	41
Tabel 6. Rendemen ekstrak etanol daun ashitaba	43
Tabel 7. Hasil uji bebas alkohol ekstrak etanol daun ashitaba.....	43
Tabel 8. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstra etanol daun ashitaba	44
Tabel 9. Hasil organoleptis formula <i>spray gel</i> ekstrak daun ashitaba	44
Tabel 10. Hasil I homogenitas sediaan ekstrak etanol daun ashitaba dengan berbagai konsentrasi	45
Tabel 11. Hasil pemeriksaan pH <i>spray gel</i> ekstrak daun ashitaba dengan berbagai konsentrasi.....	46
Tabel 12. Hasil viskositas sediaan <i>spray gel</i> ekstrak daun ashitaba dengan berbagai konsentrasi	48
Tabel 13. Hasil pengukuran diameter semprot sediaan <i>spray gel</i> ekstrak daun ashitaba dengan berbagai konsentrasi	50
Tabel 14. Hasil pengukuran daya sebar <i>spray gel</i> ekstrak daun ashitaba dengan berbagai konsentrasi.....	51
Tabel 15. Hasil pengukuran daya sebar lekat <i>spray gel</i> ekstrak daun ashitaba dengan berbagai konsentrasi	52
Tabel 1. Hasil uji organoleptis stabilitas <i>spray gel</i> ekstrak daun ashitaba dengan berbagai konsentrasi dengan menggunakan metode <i>freeze thaw</i>	53
Tabel 2. Hasil pengukuran pH <i>spray gel</i> ekstrak daun ashitaba sebelum dan setelah uji kestabilan dengan metode <i>freeze thaw</i>	54
Tabel 3. Hasil pengukuran viskositas <i>spray gel</i> ekstrak daun ashitaba sebelum dan setelah uji kestabilan dengan metode <i>freeze thaw</i>	55

Tabel 4. Pengamatan gejala klinis pada kulit punggung kelinci yang diinfeksi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	61
Tabel 5. Waktu penyembuhan infeksi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 pada kulit punggung kelinci	62
Tabel 21. Perhitungan jumlah koloni bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 pada media VJA	64

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat keterangan determinasi daun ashitaba.....	74
Lampiran 2. Surat keterangan hewan uji.....	75
Lampiran 3. Tanaman ashitaba dan maserasi	76
Lampiran 4. Gambar identifikasi kandungan tanaman	77
Lampiran 5. Gambar alat uji <i>spray gel</i> & sediaan <i>spray gel</i>	78
Lampiran 6. Alat dan bahan uji mikrobakteri	79
Lampiran 7. Perhitungan rendemen daun ashitaba kering	81
Lampiran 8. Perhitungan rendemen serbuk terhadap daun kering.....	81
Lampiran 9. Perhitungan rendemen serbuk terhadap daun kering.....	82
Lampiran 10. Hasil formulasi uji bakteri ekstrak daun ashitaba.....	83
Lampiran 11. Hasil uji pH <i>spray gel</i> ekstrak daun ashitaba.....	84
Lampiran 12. Uji statistik Kolmogorov-Smirnov, analisis two way anova pH <i>spray gel</i>	84
Lampiran 13. Hasil uji viskositas <i>spray gel</i> ekstrak daun ashitaba.....	88
Lampiran 14. Uji statistik Kolmogorov - Smirnov, analisis two way anova viskositas <i>spray gel</i> ekstrak daun ashitaba	89
Lampiran 15. Uji statistik Kolmogorov-Smirnov, analisis two way anova pH stabilitas <i>spray gel</i> ekstrak daun ashitaba	93
Lampiran 16. Hasil uji viskositas stabilitas <i>spray gel</i> ekstrak daun ashitaba	96
Lampiran 17. Uji statistik Kolmogorov- Smirnov, analisis two way anova viskositas stabilitas <i>spray gel</i> ekstrak daun ashitaba	97
Lampiran 18. Data pola penyemprotan <i>spray gel</i> ekstrak daun ashitaba.....	100
Lampiran 19. Uji statistik kolmogorov-Smirnov, analisis twoway anova diameter semprot <i>spray gel</i> ekstrak daun ashitaba.....	101

Lampiran 20. Data pengukuran daya sebar sediaan <i>spray gel</i>	105
Lampiran 21. Uji statistic Kolmogorov - Smirnov, analisis two way anova daya sebar <i>spray gel</i> ekstrak daun ashitaba	106
Lampiran 22. Data koloni bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 pada punggung kelinci	111
Lampiran 23. Uji statistik Kolmogorov - Smirnov, analisis two way anova jumlah koloni bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	112
Lampiran 24. Hasil Punggung kelinci yang diinfeksi <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 2592	118
Lampiran 25. Komposisi media	122

INTISARI

AZHURI, H., 2018, UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI *SPRAY GEL* EKSTRAK ETANOLIK DAUN ASHITABA (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 SECARA *in vivo*, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI SURAKARTA.

Daun ashitaba diketahui memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Penggunaan secara langsung kurang efektif dan tidak praktis, sehingga dibuat *spray gel*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri *spray gel* ekstrak etanol daun ashitaba terhadap infeksi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara *in vivo*.

Daun ashitaba diesktraksi dengan metode maserasi selama 5 hari dengan pelarut etanol 70%. Ekstrak etanol daun ashitaba diformulasi menjadi 3 formula dengan perbedaan dengan konsentrasi 0,1%, 0,5% dan 1%. Kemudian diuji mutu fisik dan stabilitas. Uji antibakteri *spray gel* dengan mengamati waktu penyembuhan infeksi berdasarkan hilangnya eritema, nanah dan penurunan jumlah koloni bakteri yang dilakukan dengan menggunakan metode *Plate count*. Data yang diperoleh diolah dengan statistik *Analysis of Variance* metode dua jalan.

Ekstrak etanol daun ashitaba dapat dibuat sediaan *spray gel* dengan mutu fisik yang baik dan stabilitas yang baik pada konsentrasi 0,1% dan 0,5%. Hasil uji aktivitas antibakteri *spray gel* ekstrak etanol daun ashitaba dengan berbagai konsentrasi memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diinfeksi pada kelinci. Berdasarkan uji Kolmogorov Smirnov, signifikansinya $0,138 > 0,05$, *spray gel* ekstrak etanol daun ashitaba dengan konsentrasi 1% memiliki efek penyembuhan paling optimal terhadap bakteri *Staphylococcus aureus aureus* ATCC 25923 yang diinfeksi pada kelinci.

Kata kunci : *Angelica Keiskei*, ekstrak etanol, *spray gel*, antibakteri, *Staphylococcus aureus*

ABSTRACT

AZHURI, H., 2018, ANTIBACTERATE TEST OF *SPRAY GEL* EXTRACT ETHANOLIC LEAF ASHITABA (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) TO ATTRACTIVE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 IN vivo, SKRIPSI, PHARMACEUTICAL FACTS, UNIVERSITY OF SETIA BUDI SURAKARTA.

Ashitaba leaves are known to have antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* bacteria. Direct use is less effective and impractical, resulting in spray gel. This study aims to determine the antibacterial activity of spray gel ethanol extract of ashitaba leaves against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 infection in vivo.

Ashitaba leaves were extracted with a maceration method for 5 days with 70% ethanol solvent. The ethanol extract of ashitaba leaves was formulated into 3 formulas with the difference with concentrations of 0.1%, 0.5% and 1%. Then tested the physical quality and stability. An antibacterial test of spray gel by observing the time of infection healing based on loss of erythema, pus and decreasing the number of bacterial colonies performed using Plate Count method. The data obtained were processed with two way statistical Analysis of Variance method.

Ashitaba leaves ethanol extract can be prepared spray gel preparations with good physical quality and good stability at concentrations of 0.1% and 0.5%. The result of antibacterial activity of spray gel of ethanol extract of ashitaba leaves with various concentrations has antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 infected on rabbit. Based on Kolmogorov Smirnov test, the significance of $0.138 > 0.05$, the spray gel ethanol extract of ashitaba leaves with 1% concentration has the most optimum healing effect on *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 bacteria infected on rabbits.

Keywords : *Angelica Keiskei*, ethanol extract, spray gel, antibacterial, *Staphylococcus aureus*

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Indonesia sangat terkenal dengan keanekaragaman tanaman yang sebagian besar dapat dimanfaatkan sebagai obat. Tanaman obat bukan hanya diolah secara tradisional saja, namun banyak tanaman obat yang diolah secara modern untuk terbentuknya suatu sediaan obat baru yang lebih memudahkan masyarakat. Dalam dunia kesehatan, infeksi merupakan suatu ancaman yang besar. Salah satu penyebab infeksi adalah kurangnya menjaga kebersihan. Terutama menjaga kebersihan kulit.

Infeksi yang disebabkan oleh bakteri dapat menimbulkan iritasi yang berkepanjangan. Infeksi bakteri dapat terjadi oleh siapa saja, kapan saja, dan dimana saja. Salah satu bakteri yang menyebabkan infeksi adalah bakteri *Staphylococcus aureus*. Bakteri ini umumnya hidup pada kulit dan membran mukosa manusia. Terutama *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang hampir setiap orang akan mengalami beberapa tipe infeksi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 sepanjang hidupnya, dari infeksi kulit ringan, keracunan makanan, sampai infeksi berat. Antibakteri digunakan untuk mencegah ataupun mengobati infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Antibakteri merupakan suatu zat yang dapat menghambat atau bahkan mematikan bakteri dengan jalan menghambat dan mengganggu metabolisme dari bakteri. Ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) merupakan tanaman yang kaya akan vitamin, mineral, asam amino maupun zat aktif lainnya sehingga sering disebut dengan tanaman multifungsi. Ashitaba merupakan suatu jenis tanaman obat baru di Indonesia yang mengandung flavonoid, alkaloid, saponin dan tanin yang tertinggi terdapat pada daun (Sembiring dan Manoi, 2011).

Penelitian sebelumnya bahwa ekstrak etanol 70% daun ashitaba memiliki perbedaan daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada konsentrasi 0,1-1,0g/mL dan nilai MIC adalah 0,1g/ML (Suhartiati dan Virgianti, 2015).

Berdasarkan aktivitas antibakteri yang dimiliki daun ashitaba maka perlu dikembangkan suatu sediaan farmasi untuk mempermudah penggunaannya. Salah satu sediaan farmasi yang dapat mempermudah penggunaannya ialah *spray gel*. Salah satu sediaan untuk antiseptik adalah gel dan spray. Gel semprot atau *spray gel* menurut Holland (2002) mengatakan istilah “gel atau hidrogel” mengacu pada bahan yang memiliki fase berair dengan setidaknya 10% sampai 90% dari berat sediaan, dan istilah spray mengacu pada komposisi yang dikabutkan, seperti terdiri dari tetesan cairan berukuran kecil atau besar, yang diterapkan melalui aplikator aerosol atau pompa semprot. *Spray gel* dibuat dengan menyesuaikan *gelling agent* karbopol untuk mendapatkan sediaan gel yang dapat disemprotkan langsung ke luka. Sediaan topikal dengan teknik semprot lebih disukai dibandingkan salep atau gel yang dioleskan, terutama untuk luka di kulit (Jauregui 2009). Bentuk ini memiliki keuntungan dimana dengan teknik semprot memungkinkan sediaan yang akan dihantarkan ke luka tanpa kontak dengan kapas swab, sehingga dapat meminimalkan limbah, mengurangi kemungkinan kontaminasi atau infeksi dan trauma pada pasien (Suyudi 2014).

Berdasarkan latar belakang diatas, maka peneliti ingin mengetahui potensi sediaan *spray gel* antibakteri ekstrak daun ashitaba terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Hasil penelitian ini diharapkan dapat dimanfaatkan untuk mencegah dan mengobati infeksi yang disebabkan aktivitas bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang masalah diatas, maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

Pertama, mengetahui apakah formulasi sediaan ekstrak daun ashitaba dapat dibuat dalam bentuk sediaan *spray gel* yang stabil?

Kedua, pada konsentrasi berapakah penyembuhan paling optimal dari sediaan *spray gel* ekstrak daun ashitaba terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diinfeksi pada kelinci?

Ketiga, apakah ekstrak daun ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) dapat dibuat menjadi sediaan *spray gel* yang mempunyai aktivitas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diinfeksi pada kelinci?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

Pertama, mengetahui ekstrak daun ashitaba dapat dibuat dalam bentuk sediaan *spray gel* yang baik dan stabil

Kedua, mengetahui konsentrasi penyembuhan paling optimal dari sediaan *spray gel* ekstrak daun ashitaba terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diinfeksi pada kelinci.

Ketiga, mengetahui sediaan *spray gel* ekstrak daun ashitaba memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diinfeksi pada kulit kelinci..

D. Kegunaan Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat bagi mahasiswa dan masyarakat pada umumnya dan dalam pengembangan ilmu kefarmasian bahwa tanaman obat Ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) dapat pula dikembangkan menjadi sediaan *spray gel* yang digunakan sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diinfeksi pada kelinci dan diharapkan dapat menjadi referensi tambahan serta dapat memberikan landasan ilmiah bagi penelitian selanjutnya.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Ashitaba

1. Sistematika tanaman



Gambar 7. Daun Ashitaba (Sumber dokumen pribadi, 2017)

Ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) merupakan sebuah tanaman dengan kedudukan taksonomi sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Tracheophyta
Kelas	: Eudicotyledonae
Bangsa	: Apiales
Suku	: Apiaceae
Marga	: Angelica
Jenis	: <i>Angelica keiskei</i> (Koidzumi, 1930)

2. Nama lain

Tanaman ashitaba memiliki nama ilmiah “*Angelica Keiskei*” yang berarti daun malaikat, karena daun ashitaba dipercaya dapat menyembuhkan beberapa meacam penyakit. Tanaman ashitaba di Indonesia sering di sebut dengan “Seledri Jepang”. Tanaman ashitaba juga sering disebut “Harta Karun” atau “Raja Sayur Mayur”. Tanaman ashitaba dalam bahasa jepang sering di sebut “*Angelica Keiskei* Koidzumi” (Sembiring dan Manoi, 2011).

3. Morfologi tanaman

Ashitaba merupakan suatu jenis tanaman tahunan yang abadi. Ashitaba tumbuh dengan baik di daerah dataran tinggi dengan jenis tanah yang cukup lembab. Ashitaba termasuk tanaman monokotil dan termasuk lengkap yang terdiri dari pelepah (upih), tangkai dan helaian. Daun ashitaba termasuk daun majemuk karena mulai pelepah sampai ujung tangkai daun tumbuh anak daun yang berjumlah 3 atau lebih. Anak daun ashitaba mempunyai anak tangkai yang seolah-olah seperti tangkai daun untuk daun yang melekat padanya. Ujung daun ashitaba meruncing dengan pangkal daun yang tumpul (Soepomo 1997).

Susunan tulang daun tanaman ashitaba ada dua macam, yaitu menjari dan menyirip. Hal ini dilihat dari dua sudut pandang yang berbeda, pertama jika dilihat dari bagian tempat melekatnya daun tanaman tersebut tulang daunnya menjari, sedangkan daun ashitaba dikatakan sebagai susunan tulang daun menyirip karena pada helaian dari hasil torehan daun tersebut tulang daunnya tersusun menyirip. Daun ashitaba yang masih muda berwarna hijau kekuningan sehingga daun yang sudah dewasa berwarna hijau tua. Tepi daun ashitaba yaitu bergerigi dengan duri berwarna putih yang tidak terlalu keras dan kaku (Soepomo 1997)

4. Kandungan kimia

Hasil penapisan fitokimia, tanaman Ashitaba banyak mengandung senyawa golongan alkaloid, saponin, triterfenoid, flavonoid dan glikosida, kecuali tanin yang banyak terdapat pada daun. Unsur mineral kalsium dan besi cukup kuat terdapat pada daun dan batang (Suhartati 2015)

4.1 Alkaloid. Alkaloid adalah senyawa organik yang terdapat di alam bersifat basa atau alkali dan sifat basa ini disebabkan karena adanya atom N (Nitrogen) dalam molekul senyawa tersebut dalam struktur lingkaran heterosiklik atau aromatis, dan dalam dosis kecil dapat memberikan efek farmakologis pada manusia dan hewan. Terdapat beberapa pengecualian, dimana termasuk golongan alkaloid tapi atom N (Nitrogen)nya terdapat di dalam rantai lurus atau alifatis (Cholifah 2014)

4.2 Saponin. Saponin memiliki sifat yang menyerupai sabun. Merupakan senyawa aktif permukaan yang kuat, menimbulkan busa jika dikocok dengan air dan pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah dan beberapa saponin bekerja sebagai antibakteri (Robinson 1995).

4.3 Tanin. Tanin merupakan sejenis kandungan tumbuhan yang bersifat fenol mempunyai rasa sepat, yang aktifitasnya mampu mendenaturasi protein dan mempunyai kemampuan menyamak kulit. Tanin terhidrolisis biasanya berupa senyawa amorf, higroskopis, berwarna coklat kuning yang larut dalam air (terutama air panas), dan dalam pelarut organik polar tetapi tidak larut dalam pelarut organik nonpolar seperti benzen atau kloroform (Robinson 1995).

4.4 Flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa tumbuhan yang digambarkan sebagai deretan senyawa C₆-C₃-C₆, artinya kerangka karbonnya terdiri atas 2 gugus C₆ mempunyai aktivitas sebagai anuakteri karna mekanisme kerjanya dengan merusak permeabilitas mikroorganismenya, juga berfungsi sebagai antioksidan (Robinson 1995).

4.5 Glikosida. Glikosida adalah senyawa yang menghasilkan satu atau lebih gula (kon) diantara produk hidrolisisnya dan sisanya berupa senyawa bukan gula (aglikon). Apabila gula yang terbentuk adalah glukosa maka golongan senyawa itu disebut glukosida, sedangkan bila terbentuk gula lainnya disebut cilikosida. Di alam ada O- glikosida, C-glikosida, N-glikosida, dan S-glikosida (Akiyama 2001)

5. Khasiat

Daun ashitaba mengandung alkaloid, saponin, tanin, fenolik, flavonoid, triterpenoid, glikosida, dan steroid (Sembiring dan Manoi 2011). Flavonoid mempunyai bermacam-macam di antara senyawa-senyawa tersebut yaitu efek antitumor, imunostimulan, antioksidan, analgesik, antiradang (antiinflamasi) antivirus, antibakteri, antifungi, antidiare, antihepatotoksik, antihiperlipidemik, dan sebagai vasodilator (Sumastuti & Sonlimar 2002).

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain berupa bahan yang dikeringkan (Dirjen POM 1999). Simplisia dapat digolongkan dalam tiga kategori, yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, simplisia mineral (Depkes RI, 1995).

Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Eksudat adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau isi sel yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya dan belum berupa zat kimia. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan atau bagian hewan zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia mineral adalah simplisia yang berupa bahan-bahan pelican (mineral) yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia (Mulyani dan Gunawan 2004)

2. Pengumpulan simplisia

Simplisia yang digunakan adalah simplisia nabati dimana bagian yang digunakan adalah bagian daun dari tanaman ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz). Daun yang diambil adalah daun yang masih berwarna hijau dan tidak rusak.

C. Ekstraksi

1. Pengertian ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Proses ekstraksi selesai, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Ekstrak awal sulit dipisahkan melalui teknik pemisahan tunggal untuk mengisolasi senyawa tunggal. Ekstrak awal perlu dipisahkan ke dalam fraksi yang memiliki polaritas dan ukuran molekul yang sama (Mukhriani 2014)

2. Metode ekstraksi simplisia

Penelitian ini menggunakan metode maserasi. Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Cara ini sesuai, baik untuk skala kecil maupun skala industri (Agoes 2007). Metode ini pada prinsipnya dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Proses ekstraksi selesai, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Keuntungan utama metode ekstraksi maserasi yaitu, prosedur dan peralatan yang digunakan sederhana, metode ekstraksi maserasi tidak dipanaskan sehingga bahan alam tidak menjadi terurai sedangkan kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak. Beberapa senyawa mungkin saja sulit diekstraksi pada suhu kamar. Metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (Lachman 1994).

D. Infeksi

Infeksi merupakan suatu kolonisasi yang dilakukan oleh spesies asing terhadap organisme inang, dan bersifat paling membahayakan inang. Organisme penginfeksi, atau patogen, menggunakan sarana yang dimiliki inang. Patogen mengganggu fungsi normal inang dan dapat berakibat pada luka kronik, gangrene, kehilangan organ tubuh, dan bahkan kematian. Respon inang terhadap infeksi disebut peradangan. Secara umum, patogen umumnya dikategorikan sebagai organisme mikroskopik, meskipun sebenarnya mencakup bakteri, parasit, fungsi, virus, dan viroid.

Setelah patogen menembus jaringan, patogen dapat berkembang diluar sel tubuh sebagai inangnya (intraseluler). Jaringan yang ditembus dapat mengalami kerusakan karena infeksi patogen tergantung pada replikasinya di dalam inangnya dan kemudian menyebar ke dalam inang yang baru dengan proses infeksi (Syahrurachman dkk 1994).

E. *Staphylococcus aureus*

1. Sistematika *Staphylococcus aureus*

Sistematika bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menurut Garrity *et al* (2007) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Class	: Bacili
Ordo	: Bacillales
Famili	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>

2. Morfologi dan sifat

Staphylococcus berasal dari perkatan *staphyle* yang berarti kelompok buah anggur dan kokus yang berarti benih bulat. Kuman ini merupakan gram positif yang berbentuk sferis, tidak bergerak, berspora dan menggerombol dalam susunan yang tidak teratur dengan diameter masing-masing antara 0,8-1,0 mikron (Brooks *et al.*2001).

Staphylococcus aureus ATCC 25923 biasa terdapat pada kulit, mulut, tenggorokan, dan hidung manusia. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat masuk kedalam tubuh melalui kerusakan kulit atau melalui rusaknya folikel rambut dan saluran pada jaringan penghasil keringat. Selain dapat menyebabkan intoksikasi, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 juga dapat menyebabkan bermacam-macam infeksi seperti jerawat, bisul, meningitis, osteomielitis, pneumonia dan mastitis pada manusia dan hewan (Brooks *et al.*2001).

Staphylococcus aureus ATCC 25923 mempunyai warna khas kuning keemasan hanya intensitas warnanya dapat bervariasi, koloni yang masih sangat muda tidak berwarna, tetapi dalam pertumbuhannya terbentuk pigmen yang larut dalam alkohol, eter, kloroform, dan benzol. Pigmen ini termasuk dalam golongan lipolirum dengan alam tetap dalam koloni tidak meresap dalam pembenihan, tetapi larut dalam eksudat jaringan-jaringan sehingga nanah berwarna sedikit kuning keemasan yang merupakan petunjuk tentang adanya infeksi oleh kuman

ini. Setiap jaringan atau alat tubuh dapat diinfeksi oleh bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan menyebabkan timbulnya penyakit dengan tanda-tanda khas yaitu peradangan dan pembentukan abses (Brooks *et al.* 2001).

Staphylococcus aureus ATCC 25923 dapat meragikan banyak karbohidrat dengan lambat, menghasilkan asam laktat tapi tidak menghasilkan gas. Aktivitas proteolitik sangat bervariasi, tetapi katalase dihasilkan secara tetap. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 relatif resisten terhadap pengeringan dan terhadap panas (tahan pada suhu 90°C selama 30 menit). Banyak strain resisten terhadap penisilin karena membentuk beta-laktamase, suatu enzim yang merusak penisilin dengan memecahkan cincin beta-laktam. Pembentukannya diatur oleh plasmid yang dapat dipindahkan oleh bakteriofage (transduksi). Plasmid juga membawa kontrol genetik resistensi terhadap antibiotik lainnya, misalnya tetrasiklin dan eritromisin. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 tumbuh dengan mudah pada sebagian besar media bakteriologis dengan kondisi aerob atau mikroaerofilik, tumbuh paling cepat pada 37°C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada temperatur ruang (20-25°C). Koloni pada media solid berbentuk bulat, halus, timbul, dan mengkilat (Jawetz *et al.* 2012).

3. Patogenesis

Staphylococcus aureus ATCC 25923 merupakan penyebab infeksi yang bersifat *pyogenes* (pembentuk pus/nanah). Bakteri ini masuk ke dalam tubuh melalui folikel rambut, *sebaceous gland* (kelenjar keringat) atau luka-luka kecil. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 patogen mempunyai sifat dapat menghemolisa darah, menghasilkan koagulasi, membentuk pigmen berwarna kuning emas, dan dapat memecah manitol menjadi asam. Infeksi yang ditimbulkan oleh *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat meluas ke jaringan sekitarnya melalui darah dan limfe. Pernanahan yang bersifat menahun atau timbul radang yang disebut *osteomyelitis*. Perluasan lain juga dapat sampai ke paru-paru, selaput otak dan sebagainya (Suryono 2009).

Staphylococcus aureus ATCC 25923 terdapat dihidung pada 20-50% manusia. Kapasitas patogenik suatu galur *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

adalah efek kombinasi faktor ekstraseluler dan toksin bersama dengan sifat invasif galur itu. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang invasif dan patogenik menghasilkan koagulase dan cenderung menghasilkan pigmen kuning serta bersifat hemolitik. Sekitar 50% galur *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat menghasilkan satu atau lebih jenis enterotoksin, seperti TSST-1, enterotoksin merupakan antigen super. Enterotoksin bersifat stabil panas dan resisten terhadap kerja enzim usus (Jawetz *et al.* 2012).

F. Antibakteri

Antibakteri adalah zat atau senyawa kimia yang digunakan untuk memusnahkan bakteri, khususnya bakteri yang merugikan manusia. Definisi ini kemudian berkembang menjadi senyawa yang dalam konsentrasi tertentu mampu menghambat bahkan membunuh proses kehidupan suatu mikroorganisme (Jawetz *et al.* 2001).

Secara umum kemungkinan situs suatu zat antibakteri dapat diduga dengan mengenali struktur serta sel bakteri. Kerusakan pada salah satu situs dapat mengawali terjadinya perubahan-perubahan yang menunjukkan kepada matinya sel tersebut. Perubahan-perubahan yang terjadi yaitu kerusakan pada dinding sel dengan cara menghambat pembentukannya atau setelah selesai terbentuk (Jawetz *et al.* 2001), perubahan permeabilitas sel, perubahan molekul protein dan asam nukleat dengan mendenaturasikan protein dan asam-asam nukleat sehingga merusak sel tanpa dapat diperbaiki lagi, penghambatan kerja enzim, penghambatan sintesis asam nukleat dan protein (Jawetz *et al.* 2001).

1. Mekanisme kerja

Mekanisme antibakteri merupakan peristiwa penghambatan bakteri oleh antibakteri. Suatu zat antibakteri dapat bersifat bakteriostatik (hanya menghambat) atau dapat bersifat bakterisid (membunuh bakteri) perbedaan dari kedua sifat tersebut didasarkan dosis yang digunakan. Suatu antibakteri yang ideal memiliki toksisitas selektif yang berarti obat antibakteri tersebut hanya berbahaya bagi bakteri tetapi tidak relative membahayakan bagi hospes atau manusia (Gunawan 1995).

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antibakteri dibagi dalam lima kelompok

1.1 Antimikroba yang menghambat metabolisme sel mikroba.

Antimikroba yang termasuk dalam kelompok ini adalah sulfonamida, trimethoprim, asam p-aminosalisilat (PAS) dan sulfon memberikan mekanisme efek bakteriostatik. Kuman patogen mensintesis sendiri asam folat dari asam amino benzoate (PABA) untuk kebutuhan hidupnya. Apabila sulfonamida atau sulfon dapat menang kompetitif dengan PABA untuk diikuti sertakan dalam pembentukan asam folat yang nonfungsional. Akibatnya, kehidupan mikroba akan terganggu.

1.2 Antimikroba yang menghambat sintesis dinding sel mikroba.

Obat yang termasuk dalam kelompok ini adalah penisilin, sefalosporin, bacitrasin, vankomisin, dan sikloserin. Obat-obat tersebut menghambat reaksi sintesis dinding sel yang tersusun atas peptidoglikan. Oleh karena tekanan osmotik dalam sel kuman lebih tinggi daripada diluar sel sehingga kerusakan dinding sel kuman akan menyebabkan terjadinya lisis, yang merupakan dasar efek bakterisidal pada kuman yang peka.

1.3 Antimikroba yang mengganggu keutuhan membran sel mikroba.

Obat yang termasuk kelompok ini adalah polimiksin, golongan polien, dan berbagai antimikroba kemoterapeutik seperti antiseptic surface active agents. Polimiksin sebagai senyawa ammonium-kuartener dapat merusak membrane sel setelah bereaksi dengan fosfat pada fosfolipid membrane sel mikroba. Antibiotik polien bereaksi dengan struktur sterol yang terdapat pada membran sel fungus sehingga mempengaruhi permeabilitas selektif membran tersebut. Antiseptik yang mengubah tegangan permukaan dapat merusak permeabilitas selektif dari membrane sel mikroba sehingga menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel mikroba.

1.4 Antimikroba yang menghambat sintesis protein sel mikroba.

Obat yang termasuk dalam kelompok ini adalah aminoglikosida, makrolida, linkomisin, tetrasiklin, dan kloramfenikol. Sintesis protein berlangsung di ribosom, dengan bantuan Mrna dan tRNA. Pada bakteri, ribosom terdiri atas dua subunit, yang berdasarkan konstanta sedimentasi dinyatakan sebagai ribosom 30S dan 50S yang

berfungsi pada sintesis protein, kedua komponen ini akan bersatu pada pangkal rantai mRNA menjadi ribosom 70S. Obat-obat tersebut menghambat sintesis sel mikroba dengan berkaitan dengan salah satu ribosom diatas.

1.5 Antimikroba yang menghambat sintesis asam nukleat sel mikroba.

Antimikroba yang termasuk dalam kelompok ini adalah rifampisin dan golongan kuinolon. Rifampisin berkaitan dengan enzim polimerase-RNA sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA oleh enzim tersebut. Golongan kuinolon menghambat enzim DNA gyrase pada kuman yang fungsinya menyusun kromosom yang sangat penting menjadi bentuk spiral sehingga muat dalam sel kuman yang kecil.

G. Gel semprot (*Spray gel*)

Gel didefinisikan sebagai suatu sistem setengah padat yang terdiri dari suatu dispersi yang tersusun baik dari partikel anorganik yang kecil atau molekul organik yang besar dan saling diresapi cairan. Suatu gel yang makro molekulnya disebarkan ke seluruh cairan sampai tidak terlihat ada batas di antaranya disebut gel satu fase. Gel dua fase adalah suatu massa gel yang terdiri dari kelompok-kelompok partikel kecil yang berbeda (Ansel 1989).

Berdasarkan basis yang digunakan sediaan gel dapat dibedakan menjadi 2 yaitu hidrogel dan lipogel. Hidrogel merupakan sediaan yang dapat dioleskan yang terbentuk melalui pembengkakan terbatas bahan makromolekul organik atau senyawa anorganik dan tergolong dalam kelompok besar heterogel kaya kandungan air (kandungan air 80-90%)(Voigt 1994). Sediaan gel dengan basis hidrogel lebih dipilih karena lebih banyak keuntungannya daripada sediaan gel dengan basis lipogel. Mendispersikan bahan pembentuk gel sedemikian rupa sehingga tidak terjadi penggumpalan ketika ditambah air untuk memperoleh gel yang homogen. Beberapa teknik yang dapat dilakukan antara lain dengan penambahan sejumlah kecil bahan pendispersi seperti alkohol atau gliserin, dan trituration. Teknik lain adalah dengan meneteskan bahan pembentuk gel ke dalam air yang diaduk (Sulaiman *et al* 2008).

Daya sebar merupakan karakteristik penting dalam formulasi gel karena daya sebar mempengaruhi kemudahan saat sediaan diaplikasikan pada kulit. Daya sebar suatu sediaan biasanya berbanding terbalik dengan nilai viskositas. Semakin tinggi nilai viskositas, daya sebar akan semakin rendah (Grag *et al* 2002).

Gel semprot atau *spray gel* (Hollan 2002) mengatakan istilah “gel atau hidrogel” mengacu bahan yang memiliki fase berair dengan setidaknya 10% sampai 90% dari berat sediaan dan istilah “semprot atau spray” mengacu pada komposisi yang dikabutkan, seperti terdiri dari tetesan cairan berukuran kecil atau besar, yang diterapkan melalui aplikator aerosol atau pompa semprot.

Sediaan dalam bentuk semprot yang diketahui selama ini adalah aerosol dengan menggunakan hidrokarbon fluoride (seperti freon) sebagai propelan, menggunakan tangan mengoperasikan alat yang berisi larutan dengan zat aktif tertentu dengan cara disemprotkan. Namun, kekurangan aerosol yang mengandung propelan adalah kurang maksimalnya penghantaran obat ke kulit serta terkadang terdapat zat aktif yang kurang larut dalam sediaan aerosol, serta penggunaan propelan yang dapat berpengaruh secara serius terhadap lapisan stratosphere ozon. Sedangkan kekurangan spray yang berisi larutan tanpa propelan adalah sifat lekatnya yang tidak baik di kulit dan zat aktif yang larut dalam lemak belum dapat digunakan dalam sediaan ini. Gel semprot dapat mengatasi masalah aerosol dan larutan semprot karena mengandung bahan pengental yang dapat bertahan ketika di aplikasikan serta tidak mengandung propelan yang berbahaya (Kamishita, Takuzo *et al.*, 1992).

Teknik semprot merupakan salah satu sediaan baru yang memiliki keuntungan dimana dengan teknik semprot memungkinkan sediaan yang akan dihantarkan ke luka tanpa melalui kontak dengan kapas swab, sehingga dapat meminimalkan limbah, mengurangi kemungkinan kontaminasi atau infeksi dan trauma pada pasien. Sediaan topikal dengan teknik semprot lebih disukai dibandingkan salep atau gel, terutama untuk luka di kulit (Jauregui, 2009) spray delivery dapat meningkatkan penetrasi polimer ke area luka sehingga membuat potensi pengiriman zat aktif semakin efisien. Spray dapat diaplikasikan ke luka berukuran kecil atau besar menggunakan alat yang sama.

Gel semprot dapat diformulasikan dengan obat yang larut maupun tidak larut dalam air. Ketika menggunakan obat tidak larut dalam air maka zat aktif terlebih dahulu dilarutkan atau didispersikan dalam pelarut organik atau pelarut yang dapat melarutkan zat aktif namun dapat larut dalam air (water-soluble organic solvent). Contoh pelarut tersebut adalah surfaktan, alkohol dengan rumus molekul rendah (etanol, isopropanol), dan golongan glikol (propilen glikol, 1-2 butilen glikol, polietilen glikol dengan berat molekul 300-500). (Kamishita 1992) gel

H. Monografi Bahan

1. Carbopol 940 (Polyacrylic acid)

Carbopol adalah resin polyacrylic acid sintetis yang tersusun dari 0,75-2 % polialkil sukrosa maka dispersi carbopol harus dilindungi dari pertumbuhan mikroba. Carbopol disusun oleh kelompok asam karboksilat dengan berat molekul tinggi. Bentuk gel pada pH 5-10 dinetralkan dengan metalhidroksida atau amina seperti diisopropilamin dan triethanolamin. Carbopol berwarna putih, serbuk halus, bersifat asam, higroskopik, dengan sedikit karakteristik bau. Carbopol dapat larut dalam air, dalam etanol (95 %) dan gliserin, dapat terdispersi di dalam air untuk membentuk larutan koloid bersifat asam, sifat merekatnya rendah (Rowe *et al* 2006).

Carbopol bersifat stabil, higroskopik, penambahan temperatur berlebih dapat mengakibatkan kekentalan menurun sehingga mengurangi stabilitas. Carbopol 934 dan 940 mempunyai berat molekul berturut-turut 3×10^6 dan 4×10^6 yang biasa digunakan untuk industri farmasi. Keduanya baik digunakan untuk penggunaan secara topikal. Carbopol dalam serbuk kering tidak mengandung pertumbuhan jamur dan kapang. Gel dapat diformulasikan dengan alkohol tapi akan menurunkan kekentalan. Carbopol 940 menunjukkan kejernihan yang lebih besar dibandingkan dengan Carbopol 934 (Allen 2002). Carbopol 940 digunakan untuk bahan pengemulsi pada konsentrasi 0,1-0,5 %, bahan pembentuk gel pada konsentrasi 0,5-2,0 %, bahan suspensi pada konsentrasi 0,5-1,0 % dan bahan perekat sediaan tablet pada konsentrasi 5-10% (Rowe *et al* 2006).

2. CMC Na

Nama lain natrium karboksimetilselulosa adalah sellulose gum, CMC sodium, sodium carboxymethyl sellulose, sodium sellulose glycolate, sodium CMC. Berat molekul CMC-Na sebesar 90.000-700.000 (Rowe *et al* 2006). Natrium karboksimetilselulosa adalah garam natrium polikarboksimetil eter selulosa yang larut dalam air serta stabil pada pH antara 5-10, jadi larutan ini memiliki pH netral. Keuntungan CMC adalah stabil pada suhu 100⁰C dalam waktu yang lama tanpa mengalami koagulasi (Voigt 1994). CMC-Na larut dalam air dan campuran air gliserin. Gel dengan medium air stabil pada Ph 2-10, tetapi rentan terhadap pertumbuhan mikroba (Depkes 1979). Beberapa kelemahan dari CMC-Na adalah zat tersebut tidak tercampurkan sejumlah elektrolit dan senyawa-senyawa amonium kuartener, dan zat tersebut membentuk kompleks dengan surfaktan tersebut (Lachman *et al* 1986). Aplikasi pada formulasi farmasetikal dan teknologi, pada sediaan oral dan topikal, biasanya CMC-Na digunakan untuk suspending atau meningkatkan viskositas sediaan, CMC-Na juga digunakan sebagai bahan pengisi tablet dan penstabil pada sediaan emulsi. Konsentrasi yang tinggi sekitar 3-6% digunakan untuk membentuk gel yang dapat digunakan sebagai dasar untuk aplikasi pembuatan pasta, digunakan untuk mencegah terjadinya pengeringan pada sediaan gel (Rowe *et al* 2006).

3. Propilen glikol

Propilen glikol berupa cairan kental, jernih, tidak berwarna, peraktis tidak berbau, rasa khas, menyerap air pada udara lembab. Dapat bercampur dengan air, dengan aseton dan kloroform; larut dalam eter dan berupa minyak esensial; tetapi tidak bercampur dengan minyak lemak (Anonim 1995).

Propilen glikol mempunyai sifat yang hampir sama dengan gliserin, hanya saja propilenglikol lebih mudah melarutkan berbagai zat. Fungsi propilen glikol adalah sebagai *humectant*, pelarut dan plasticizer. Fungsi lain propilen glikol adalah sebagai penghambat fermentasi dan pertumbuhan jamur, *hygroscopic agent* desinfektan, stabilizer vitamin, pelarut pengganti yang dapat campur dengan ai, bisa sebagai pengganti gliserin (Anonim 1983).

4. Triethanolamin

Triethanolamin yang lebih sering disingkat TEA merupakan komponen kimia organik yang mengandung gugus amino tersier dan sebuah tri-alkohol. Triethanolamin mempunyai berat molekul 149,19 dengan rumus molekul $C_6H_{15}NO_3$ (Rowe *et al* 2006). Pemerian triethanolamin meliputi cairan kental, tidak berwarna hingga kuning pucat, bau lemah mirip amoniak, higroskopis dan mudah larut dalam air, dalam ethanol 95% dan larut dalam kloroform (Anonim 1979). Zat tambahan ini digunakan untuk menstabilkan pH pada pembuatan kosmetik dengan jenis produk yang beraneka ragam dari lotion untuk kulit, gel mata, pelembab, shampo, busa untuk mencukur dan lainnya (Rowe *et al* 2006).

5. Metil paraben (Nipagin)

Metil paraben atau lebih dikenal dengan nama nipagin memiliki berat molekul 152,15 dengan rumus molekul $C_8H_8O_3$. Pemerian metil paraben meliputi serbuk hablur halus, putih, hampir tidak berbau, tidak mempunyai rasa, agak terasa membakar diikuti rasa tebal. Larut dalam 500 bagian air, 2 bagian air mendidih. Kegunaan sebagai bahan pengawet sediaan topikal pada konsentrasi 0,02-0,3% (Rowe *et al* 2006).

6. Akuadest

Akuadest adalah air suling yang dibuat dengan menyuling air yang dapat diiminum. Akuadest berupa cairan jernih, tidak berwarna, tidak berbau, dan tidak memiliki rasa (Rowe *et al* 2006).

7. Gentamisin

Pemerian serbuk putih sampai kekuning-kuningan, kelarutan yaitu larut dalam air, tidak larut dalam etanol, garam aseton, dalam kloroform, dalam eter dan dalam benzen berkhasiat sebagai antibiotikum. Penyimpanan dalam wadah tertutup rapat pH : 3,5 – 5,5. Stabilitas stabil pada suhu 4°C dan 25°C (Martindale 2005 ed 34, hal.217)

I. Uji Mutu Fisik *Spray gel*

1. Pemeriksaan Organoleptik

Uji organoleptik dilakukan untuk melihat tampilan fisik sediaan dengan cara melakukan pengamatan warna, bau, dan tekstur dari sediaan yang telah dibuat (Djajadisastra *et al* 2009)

2. Pemeriksaan Homogenitas

Sediaan gel diuji homogenitasnya dengan mengoleskannya pada sekeping kaca preparat (transparan). Dilihat ada tidaknya partikel/zat yang belum tercampur secara homogen (Sudjono *et al* 2012)

3. Pengukuran Viskositas

Viskositas memiliki peranan pada beberapa sediaan. Viskositas merupakan faktor penting dalam peningkatan stabilitas gel dan membuat suatu bentuk sediaan mudah di aplikasikan. Seorang farmasis akan mempertimbangkan viskositas untuk meningkatkan stabilitas sediaan yang diformulakan (Allen 2002). Pengujian viskositas dapat dilakukan dengan menggunakan berbagai jenis viskometer berdasarkan kebutuhan formulator (Garg *et al* 2002).

4. Pengukuran pH

Sediaan gel diukur pH nya menggunakan pH meter yang telah dikalibrasi (Sudjono *et al* 2012)

5. Pemeriksaan Pola Penyemprotan

Sediaan disemprotkan pada lembar plastik yang sudah diukur beratnya dan sudah diberi nomor dengan jarak 3 cm, 5 cm, 10 cm, dan 15 cm kemudian diukur waktu pengeringan menggunakan *stopwatch*. Pengujian setiap jarak dilakukan secara triplo, pada uji ini yang diamati adalah pola pembentukan semprotan.

6. Pengujian Daya Sebar Lekat

Metode yang paling sering digunakan untuk pengukuran daya sebar adalah *parallel – plate*. Keuntungan dari metode ini adalah sederhana dan mudah untuk dilakukan dan tidak memerlukan banyak biaya (Garg *et al* 2002). Uji ini dilakukan di kulit dengan cara disemprotkan pada bagian lengan atas dari jarak 30 mm atau 3 cm. setelah disemprotkan di hitung selama 10 detik untuk melihat

sediaan menempel atau tetesan dari hasil semprot menetes ke bawah (Kamishita T *et al* 1992).

J. Uji Stabilitas *Spray gel*

1. Freeze Thaw

Freeze thaw merupakan salah satu metode uji stabilitas yang memungkinkan peneliti untuk menentukan apakah formula yang dihasilkan merupakan formula yang stabil pada berbagai jenis kondisi penyimpanan. Cara pengujiannya adalah menyimpan formula pada berbagai kondisi perubahan suhu yang tergolong ekstrim (Ba 2009). Suhu ruangan dikategorikan menjadi 5 bagian, yaitu suhu lemari pembeku ($-20^{\circ}\text{C} - 0^{\circ}\text{C}$), suhu rendah ($0^{\circ}\text{C} - 8^{\circ}\text{C}$), suhu ruangan terkendali ($15^{\circ}\text{C} - 30^{\circ}\text{C}$), suhu hangat ($30^{\circ}\text{C} - 40^{\circ}\text{C}$), suhu tinggi ($\geq 40^{\circ}\text{C}$) (Syamsuni, 2006). Uji stabilitas freeze thaw dianjurkan untuk sediaan berbasis cairan. Karena uji ini dapat melihat kemungkinan perubahan (pemisahan) yang terjadi selama proses freeze thaw berlangsung. *Freeze* merupakan kondisi penyimpanan suhu rendah pada $\leq 0^{\circ}\text{C}$ dan *thaw* merupakan kondisi penyimpanan pada suhu ruangan ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) selama masing – masing 24 jam (Ba 2009).

K. Hewan Percobaan

1. Sistematika Hewan Uji

Klasifikasi kelinci menurut Lebas *et al* (1986) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animal
Filum	: Chordata
Sub Filum	: Vertebrata
Ordo	: Logomorph
Famili	: Lepotidae
Sub Famili	: Leporine
Genus	: <i>Oryctolagus</i>
Spesies	: <i>Oryctolagus cuniculus</i>

Kelinci *New Zealand White* ini digunakan untuk penelitian karena memiliki beberapa keunggulan antara lain : sifat produksi tinggi, dalam pemeliharaan tidak dibutuhkan banyak biaya, siklus hidup pendek, kuatnya pertahanan tubuh terhadap penyakit, pada lingkungan yang baru bersifat adaptif, dan tidak memerlukan tempat tinggal yang luas (Irfandi HA 2010).

2. Data Biologi

Kelinci memiliki bobot lahir 30-100 g dan bobot dewasa 4,5-5 kg untuk jantan serta 4,5-6,5 kg untuk betina. Biasanya kelinci memiliki usia hidup 5-7 tahun. Konsumsi pakan perhari kelinci 100-200 g dengan memulai makan pakan kering pada usia 16 atau 18 hari. Konsumsi air minum perhari 200-500 ml volume ekskresi perhari 30-35 ml. Kelinci memiliki volume darah antara 55 sampai 65 ml/kg, suhu rectal kelinci 39,5⁰C, laju respirasi 51 kali menit dan denyutjantung 200-300 kali/menit (Smith 1988).

3. Cara Handling

Kadang kelinci mempunyai kebiasaan untuk mencakar atau menggigit bila penanganan kurang baik. Kelinci sering berontak dan mencakar kuku kaki dari kaki belakang kelinci sedikit kedepan dari bagian tubuh, dimana bagian tersebut kulitnya agak longgar. Kemudian angkat kelinci dan bagian bawahnya disangga (Smith 1988).

L. Landasan Teori

Ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) adalah salah satu jenis tanaman obat, merupakan tanaman baru yang belum banyak dikenal di Indonesia sedangkan di Jepang tanaman ashitaba dikonsumsi sebagai sayuran yang populer di Jepang, berpotensi sebagai antibakteri, antijamur, antitumor, antiinflamasi (Bove 2013). Tanaman ini mirip dengan seledri hanya memiliki perawakan lebih besar, sehingga di Indonesia khususnya di Jawa Barat dikenal dengan nama seledri Jepang atau seledri Raja.

Ashitaba mengandung zat aktif yang memiliki fungsi sebagai obat (Ogawa *et al.* 2005) menyatakan ashitaba memiliki kemampuan sebagai antihipertensi dan antistroke. Batang, daun maupun umbi tanaman ashitaba jika dipotong akan

mengeluarkan getah berwarna kuning disebut *chalcone* yang termasuk golongan senyawa flavonoid. *Chalcone* mempunyai fungsi sebagai antitumorigenik. Zat aktif yang terdapat dalam *chalcone* bermanfaat untuk meningkatkan produksi sel darah merah, serta meningkatkan pertahanan tubuh untuk melawan penyakit infeksi, selain itu juga dapat menyembuhkan diabetes, hipertensi, jantung koroner, liver dan sebagai antibakteri (Bauman 2008).

Ekstraksi daun ashitaba menggunakan metode ekstraksi maserasi. Pelarut yang digunakan dipilih etanol 70% karena pelarut ini masih mengandung air yang bersifat polar untuk menarik senyawa antibakteri yang terdapat dalam daun dan etanol dapat menekan kontaminasi mikroba pada saat pembuatan ekstrak sehingga dapat meminimalisasi kerusakan senyawa antibakteri dan kontaminasi mikroba lain pada saat pengujian (Virgianti 2015)

Penggunaan ekstrak etanol daun ashitaba tidak efektif untuk digunakan secara langsung pada kulit karena masih berbentuk ekstrak yang lengket, selain itu penggunaannya tidak praktis, sehingga untuk meningkatkan efektifitas penggunaan ekstrak etanol daun ashitaba stabil dibuat dalam bentuk sediaan. Salah satu sediaan ekstrak daun ashitaba untuk mengobati infeksi adalah gel dan spray. Gel merupakan sistem semipadat terdiri dari suspensi yang dibuat dari partikel anorganik yang kecil atau molekul organik yang besar, terpenetrasi oleh suatu cairan (Dirjen POM Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995). Bentuk gel mempunyai beberapa keuntungan diantaranya tidak lengket, gel mempunyai aliran tiksotropik dan pseudoplastik yaitu gel berbentuk padat apabila disimpan dan akan segera mencair bila dikocok, konsentrasi bahan pembentuk gel yang dibutuhkan hanya sedikit untuk membentuk massa gel yang baik, viskositas gel tidak mengalami perubahan yang berarti pada suhu penyimpanan. Sediaan *spray* merupakan sediaan larutan yang dimasukkan dalam sebuah alat sprayer sehingga pemakaiannya dengan cara disemprot. Larutan adalah campuran homogen dari dua atau lebih macam zat yang terdiri dari zat yang terlarut (solut) dan zat pelarut (solven) (Marzuki *et al.*, 2010).

Berdasarkan studi literatur sediaan dapat dikatakan memiliki stabilitas yang baik apabila mampu melewati 3 siklus uji *freeze thaw*. Pada penelitian sebelumnya digunakan lima kali uji siklus *freeze thaw*. Hal ini bertujuan untuk lebih mendalami pengaruh siklus *freeze thaw* terhadap stabilitas fisik sediaan. Sediaan *spray gel* pada penelitian ini digunakan pada punggung kelinci yang telah terinfeksi bakteri *Staphylococcus aureus*. Kelinci yang digunakan adalah kelinci jantan putih (New Zealand White) dengan berat badan kurang lebih 1-3 kg. Kelinci merupakan hewan yang mudah diperiksa, relatif jinak, dan memiliki luas permukaan kulit punggung yang luas daripada hewan uji seperti mencit, tikus, dan marmut.

M. Hipotesa

Berdasarkan landasan teori maka hipotesa yang dapat disusun dalam penelitian ini adalah :

Pertama, Ekstrak etanol daun ashitaba dapat dibuat dalam bentuk sediaan *spray gel* yang stabil.

Kedua, Kadar 1% digunakan untuk penyembuhan paling optimal dari sediaan *spray gel* ekstrak etanol daun ashitaba terhadap *Staphylococcus aureus* yang diinfeksi pada kelinci.

Ketiga, Sediaan *spray gel* ekstrak etanol daun ashitaba memiliki daya aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diinfeksi pada kelinci.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun ashitaba yang diambil dari kebun ashitaba, desa Trawas, kabupaten Mojokerto, Jawa Timur

2. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun ashitaba yang dibuat sediaan *spray gel* dengan kadar 0,1%;0,5%;1% diambil dari kebun ashitaba, desa Trawas, kabupaten Mojokerto, Jawa Timur pada bulan november 2017. Daun yang digunakan adalah daun yang masih hijau, segar dan bebas dari penyakit

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama pada penelitian ini adalah ekstrak etanol daun ashitaba terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diinfeksi pada punggung kelinci.

Variabel utama kedua pada penelitian ini adalah *spray gel* daun ashitaba dengan kadar 0,1%;0,5%;1%

Variabel utama ketiga pada penelitian ini adalah aktivitas antibakteri pada sediaan *spray gel* daun ashitaba dengan kadar 0,1%;0,5%;1% terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama diklasifikasikan ke dalam beberapa variabel yang bermacam-macam yaitu variabel bebas, variabel tergantung, dan variabel terkontrol.

Variabel bebas adalah variabel yang sengaja dapat dirubah dan direncanakan untuk diketahui pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel

bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi *spray gel* ekstrak daun ashitaba dalam *spray gel* berbasis carbomer 940.

Variabel tergantung adalah variabel yang dapat berubah karena variabel bebas. Variabel tergantung pada penelitian ini adalah adanya aktivitas antibakteri pada kulit kelinci yang dapat dilihat dari proses kesembuhan lukanya dan jumlah bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dari nanah.

Variabel terkontrol adalah variabel yang berpengaruh terhadap variabel tergantung. Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah kemurnian ekstrak daun ashitaba bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, pembuatan sediaan *spray gel*, pemilihan hewan uji kelinci dengan kondisi (berat badan, kesehatan, kebersihan) yang sehat, tempat tumbuh tanaman, sterilisasi, suhu, kondisi peneliti, kondisi laboratorium.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun ashitaba yang diambil dari kebun ashitaba, desa Trawas, kabupaten Mojokerto, Jawa Timur yang masih hijau, segar dan bebas dari penyakit

Kedua, daun ashitaba di cuci dengan menggunakan air mengalir yang bertujuan untuk membersihkan kotoran yang masih menempel, setelah itu dikeringkan dalam alat pengering (Oven) pada suhu 50°C selama 2 hari, kemudian setelah kering dibuat serbuk dan diayak dengan menggunakan mesh no 60.

Ketiga, ekstrak etanol daun ashitaba adalah hasil maserasi antara daun ashitaba dengan pelarut etanol 70% dengan kadar 0,1%;0,5%;1%. Keempat, kelinci percobaan adalah kelinci jantan putih (New Zealand White) berumur \pm 3-5 bulan, berat kelinci 1,5-2 kg dan kulit punggung kelinci adalah bagian punggung kelinci yang telah dicukur.

Kelima, bakteri uji dalam penelitian ini adalah bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Universitas Setia Budi.

Keenam, uji aktivitas antibakteri secara *in vivo* adalah uji daya penyembuhan terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang di infeksi secara subkutan, kemudian dibalut perban steril dan dibiarkan

selama 48 jam hingga terjadi infeksi kemudian disemprotkan sediaan *spray gel* ekstrak daun ashitaba

Ketujuh, kesembuhan adalah proses sembuhnya kelinci dari hilangnya eritema, tidak terbentuknya nanah dan keringnya luka dalam hitungan hari.

Kedelapan, perhitungan jumlah bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dari nanah adalah perhitungan jumlah koloni secara makroskopis dilakukan dengan cara menghitung jumlah pertumbuhan bakteri menggunakan metode *Plate count*.

C. Bahan dan Alat

1. Bahan

1.1 Bahan Sampel. Daun yang digunakan adalah daun yang masih hijau, segar dan bebas dari penyakit

1.2 Bahan Kimia. Bahan kimia yang digunakan yaitu Natrium Klorida fisiologis (NaCl), carbomer 940, TEA, propilen glikol, metil paraben, propil paraben, aquades, dan kontrol positif, Vogel Johnson Agar (VJA), kalium tellurit, H₂O₂, Na₂SO₄ eksikatus, alkohol, cat kristal violet, lugol iodine, etanol aseton,

1.3 Bakteri Uji. Bakteri uji. yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

1.4 Hewan Uji. Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah kelinci jantan putih (New Zealand White) berumur \pm 3 bulan, berat 1,5-2 kg yang diperoleh dari laboratorium Farmakologi Universitas Setia Budi.

2. Alat

Alat yang digunakan yaitu timbangan digital, gelas ukur (5ml/50 ml/100ml), beaker glass 100 ml, beaker glass 2000 ml, erlenmeyer 250 ml, batang pengaduk, corong kaca, kertas saring, sudip, botol spray, botol vial, mortar dan stamfer, pipet volume, pipet tetes, sarung tangan, masker, *rotary evaporator*, dan pompa vakum, GC – MS, autoklaf, oven, kapas lidi steril / swab, lampu spiritus, jarum ose, tabung reaksi, rak tabung reaksi, cawan petri, inkubator

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi dan identifikasi

Identifikasi tanaman yang pertama kali dilakukan adalah determinasi tanaman, dimana determinasi tanaman pada tahap ini adalah menetapkan kebenaran sampel daun ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) dengan cara mencocokkan ciri dan morfologi tanaman yang akan diteliti dengan kunci determinasi untuk menghindari kesalahan dari tanaman yang digunakan untuk penelitian. Determinasi daun ashitaba ini dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Sebelas Maret Surakarta.

2. Pemilihan bahan daun ashitaba

Daun ashitaba dibersihkan dari kotoran-kotoran yang menempel dengan cara mengalirkannya dengan air mengalir. Hal ini dilakukan untuk menghilangkan kotoran-kotoran yang melekat pada daun ashitaba tersebut. Daun yang telah dibersihkan tersebut kemudian dilanjutkan dengan proses pengeringan. Pengeringan dilakukan dengan memasukkan daun ke dalam oven pada suhu 50 °C selama dua hari. Pengeringan dilakukan untuk mengurangi kadar air pada daun ashitaba sehingga dapat mengurangi bahkan mencegah pembusukan yang disebabkan oleh mikroorganisme. Bahan yang sudah dikeringkan lebih mudah dihaluskan menjadi serbuk.

3. Pembuatan serbuk

Daun ashitaba yang sudah kering kemudian diblender lalu diayak dengan ayakan no 60 dan disimpan dalam wadah yang kering kemudian di tutup rapat.

4. Penetapan kandungan lembab serbuk daun ashitaba

Sebanyak 2 gram serbuk daun ashitaba dimasukkan dalam wadah yang ada pada alat Moisture Balance. Pengoperasian alat telah selesai jika alat tersebut berbunyi, kemudian hasil susut pengeringan dicatat (dalam satuan %). (Hanifah *et al*, 2014).

5. Pembuatan ekstrak etanol daun ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz)

Maserasi dilakukan dengan cara memasukkan 10 bagian simplisia ke dalam sebuah bejana, dengan 75 bagian cairan penyari, tutup, biarkan selama 5 hari

terlindung dari cahaya sambil sering diaduk. Setelah 5 hari serkai, peras, cuci ampas dengan cairan penyari secukupnya hingga diperoleh 100 bagian. Maserat diuapkan pada tekanan rendah pada suhu tidak lebih dari 50°C (Anonim, 2010).

6. Uji bebas alkohol ekstrak etanol daun ashitaba

Uji bebas alkohol ekstrak etanol daun ashitaba dilakukan untuk mengetahui bahwa ekstrak yang akan digunakan untuk penelitian benar-benar bebas dari etanol, karena etanol diketahui mempunyai aktifitas antiseptik yang dapat membunuh bakteri. Uji ini dilakukan dengan cara ekstrak diteteskan pada tabung reaksi kemudian ditambahkan reagen H₂SO₄ pekat dan CH₃COOH lalu dipanaskan. Hasil uji bebas etanol dari ekstrak tersebut ditandai dengan tidak adanya bau ester yang khas dari etanol.

7. Identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol daun ashitaba

Identifikasi kandungan kimia yang dimaksud adalah untuk menetapkan kebenaran kandungan kimia yang terkandung dalam serbuk dan ekstrak etanol daun ashitaba. Identifikasi yang dilakukan berupa identifikasi senyawa alkaloid, fenol, flavonoid, saponin, tannin yang terkandung dalam ekstrak etanol daun ashitaba. Pengujian fitokimia menurut Habrone (1987) dan Trevor (1995) adalah sebagai berikut:

7.1 Identifikasi senyawa alkaloid. Ekstrak etanol daun ashitaba dibasakan dengan larutan ammonia 10%, larutan basa diekstraksi dengan kloroform, ekstrak kloroform diasamkan dengan HCL 1N, kemudian asam dipisahkan dengan filtrat diuji dengan preaksi dragen dorf, endapan putih atau kuning menyatakan adanya alkaloid.

7.2 Identifikasi senyawa flavonoid. Ekstrak etanol daun ashitaba dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi butiran logam Mg dan larutan HCL 2N, campuran ini dipanaskan selama 5-10 menit, setelah dingin dan disaring, dalam filtrat ditambahkan amil alkohol, dikocok kuat, warna merah atau jingga pada lapisan amil alkohol menunjukkan adanya flavonoid.

7.3 Identifikasi golongan senyawa saponin. Ekstrak etanol daun ashitaba dididihkan dalam penanggas air selama 5 menit, setelah dingin kemudian disaring, filtrate dikocok kuat dengan arah vertikal selama 1-2 menit, senyawa saponin

dapat ditunjukkan dengan adanya busa setinggi 1 cm yang stabil setelah dibiarkan selama 1 jam atau pada penambahan 1 tetes HCl 0,1 N.

7.4 Identifikasi golongan senyawa tanin. Ekstrak daun ashitaba sebanyak 1 g ditambahkan 100 ml air panas, kemudian didinginkan dan disaring. Filtrat sebanyak 5 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambahkan 3 tetes FeCl₃ 1%. Perubahan warna menjadi hitam menunjukkan adanya senyawa polifenol. Terbentuknya warna hijau violet atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin (Prameswari *et al.* 2014)

8. Formula *Spray gel*

Formulasi dirancang dengan variasi konsentrasi ekstrak sama pada tiap formula.

Tabel 1. Formula standar antibakterial hand gel minyak atsiri galanga (100 ml)

Bahan (%)	Formula
Karbopol	0,4
HPMC	0,4
Trietanolamin	8 tetes
Propylene Glikol	15
Methyl paraben	0,18
Propyl paraben	0,02
Etanol	20
Aquades ad	100 mL

Sumber: Wijayanto, Kurniawan, Sobri (2012)

Tabel 2. Rancangan Formula *Spray gel* yang telah Dimodifikasi

Bahan	Satuan	Kontrol basis	Positif	FI	FII	FIII
Karbopol	Gram	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Gentamisin	gram	0,00	0,10	0,00	0,00	0,00
Ekstrak etanol daun ashitaba	gram	0,00	0,00	0,10	0,50	1,00
Gliserin	mL	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Trietanolamin	mL	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80
Metil Paraben	gram	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Air ad	mL	100	100	100	100	100

Sumber: Lubrizol (2010)

9. Pembuatan Sediaan *Spray gel*

Cara pembuatan gel adalah: Karbopol didispersikan dalam aquadest, kemudian diaduk hingga terdispersi seluruhnya dan ditambahkan TEA, diaduk sehingga membentuk gel yang bening. Diwadah lain, Metilparaben dan

Propilparaben didispersikan dalam etanol 96%. Jika sudah terdispersi seluruhnya lalu masukan karbopol yang sudah didispersikan menggunakan TEA, lalu aduk menggunakan homogenizer. Sediaan yang telah homogen, tambahkan ekstrak didispersikan dalam etanol 96%, lalu aduk hingga terdispersi seluruhnya. kemudian ditambahkan dengan sisa aquadest yang sudah ditimbang sediaan mencapai bobot yang sudah ditentukan sebelumnya. Gel semprot yang dihasilkan kemudian ditempatkan dalam wadah yang tertutup rapat dan disimpan pada suhu ruang.

10. Pembuatan kontrol

10.1 Kontrol negatif. Kontrol negatif yang digunakan adalah gel yang tidak mengandung ekstrak etanol daun ashitaba

10.2 Kontrol positif. Kontrol positif yang digunakan adalah gentamisin.

10.3 Kontrol normal. Kontrol normal adalah kulit punggung kelinci tanpa pelakuan.

11 Pengujian sifat fisik sediaan *spray gel*

Pengujian sifat fisik sediaan *spray gel*

11.1 Pemeriksaan Organoleptik. Uji organoleptik dilakukan untuk melihat tampilan fisik sediaan dengan cara melakukan pengamatan bau, warna, dan tekstur dari sediaan yang telah dibuat (Djajadisastra 2009)

11.2 Pemeriksaan Homogenitas. Sediaan gel diuji homogenitasnya dengan mengoleskannya pada sekeping kaca preparat (transparan). Dilihat dari partikel/zat yang dapat tercampur secara homogen atau memisah (Sudjono 2012).

11.3 Pengukuran pH. Sediaan gel diukur pH nya menggunakan pH meter yang telah dikalibrasi (Sudjono 2012).

11.4 Pengukuran Viskositas. Viskositas merupakan faktor penting dalam peningkatan stabilitas gel dan membuat suatu bentuk sediaan mudah di aplikasikan. Seorang farmasis akan mempertimbangkan viskositas untuk meningkatkan stabilitas sediaan yang diformulakan (Allen 2002). Pengujian viskositas dapat dilakukan dengan menggunakan berbagai jenis viskometer berdasarkan kebutuhan formulator (Garg *et al* 2002).

11.5 Pemeriksaan Pola Penyemprotan. Sediaan disemprotkan pada lembar plastik yang sudah diukur beratnya dan sudah diberi nomor dengan jarak 3 cm, 5 cm, 10 cm, dan 15 cm kemudian diamati pola pembentukan semprotan, diameter dari pola semprot yang terbentuk setiap semprotnya dengan jarak yang sama. Pengujian setiap jarak dilakukan secara triplo (Suyudi. 2014).

11.6 Uji daya sebar gel. Pengujian daya sebar gel dilakukan dengan cara gel sebanyak 0,5 gram diletakkan ditengah alat (kaca bulat), kaca bulat bagian atas ditimbang terlebih dahulu dan diletakkan diatas massa gel, biarkan selama 1 menit, diukur diameter gel yang menyebar (ambil panjang rata-rata diameter di beberapa sisi), ditambah 50 gram, 100 gram, 150 gram, dan 200 gram, sebagai beban tambahan secara bertahap, setiap penambahan beban didiamkan selama 1 menit dan catat diameter gel yang menyebar seperti sebelumnya. Pengujian dilakukan sebanyak tiga kali tiap formulanya. Pengujian pertama dilakukan dihari pertama gel dibuat, dan diuji kembali pada hari ke-1, dan ke-21 setelah pembuatan (Sharon *et al* 2013).

11.7 Pengujian Daya Sebar Lekat. Metode yang paling sering digunakan untuk pengukuran daya sebar adalah *parallel – plate*. Keuntungan dari metode ini adalah sederhana dan mudah untuk dilakukan dan tidak memerlukan banyak biaya (Garg *et al* 2002). Uji ini dilakukan di kulit dengan cara disemprotkan pada bagian lengan atas dari jarak 30 mm atau 3 cm. Setelah disemprotkan dihitung selama 10 detik untuk melihat sediaan menempel atau tetesan dari hasil semprot menetes ke bawah (Kamishita *et al* 1992)

11.8 Uji stabilitas sediaan *spray gel*. Pengujian dilakukan dengan metode *freeze thaw* yaitu dengan menyimpan sediaan pada suhu 4°C selama 48 jam kemudian dipindahkan ke suhu 40°C selama 48 jam (1 siklus). Setelah itu dilanjutkan sampai lima siklus. Setiap satu siklus selesai, dilihat ada tidaknya pemisahan fase atau perubahan, uji pH dan uji viskositas gel (Priani *et al* 2014).

12 Identifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 2592

12.1 Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan media selektif. Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 diinokulasi pada media Vogel Johnson Agar (VJA) yang telah ditetesi 3 tetes kalium telurit 1% dalam cawan petri dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil pengujian ditunjukkan dengan warna koloni hitam dan warna medium di sekitar koloni kuning. Kemampuan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat memfermentasi manitol membentuk suasana asam dan fenol red maka medium di sekitar koloni berwarna kuning (Jawetz et al. 2007).

12.2 Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan pewarnaan Gram. Pewarnaan Gram positif *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menggunakan Gram A (cat Kristal violet sebagai cat utama), Gram B (lugol iodine sebagai mordan), Gram C (etanol aseton = 1 : 1 sebagai peluntur), dan Gram D (cat sarfianian sebagai cat lawan atau penutup). Pewarnaan gram dilakukan dengan cara buat preparat ulas yang telah difiksasi kemudian ditetesi dengan Gram A sampai semua ulasan terwarnai, diamkan selam kurang lebih 1 menit. Cuci dengan aquadestilata mengalir dan dikering anginkan, preparat dilunturkan dengan Gram C dan didiamkan selama kurang lebih 30 detik, dicuci dengan aquadestilata mengalir kemudian ditetesi Gram D dan diamankan selam kurang lebih 1 menit. Cuci dengan aquadestilata mengalir kemudian keringkan preparat. Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dinyatakan positif apabila berwarna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol seperti buah anggur ketika diamati dibawah mikroskop.

12.3 Identifikasi bakteri dengan uji biokimia . Identifikasi dengan uji biokimia ada dua cara yaitu dengan uji koagulase dan uji katalase. Uji koagulase dilakukan dengan cara plasma darah kelinci yang diberi sitrat, diencerkan (1:5) dicampur dengan biakan kaldu sama banyaknya dan dieramkan pada suhu 37°. Suatu tabung plasma dicampur dengan dengan kaldu steril yang dieramkan sebagai kontrol. Tabung – tabung sering diperiksa dengan melihat pembentukan massa 1 - 4 jam. Hasilnya positif kuat jika tabung test dibalik, gumpalan plasma tidak terlepas dan tetap melekat pada dinding tabung.

Uji katalase *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, koloni bakteri pada kaca objek ditambah 2 tetes hydrogen peroksida 3 % hasil dinyatakan positif bila terlihat pembentukan gelembung udara di sekitar koloni (Radji 2011).

13 Pembuatan suspensi bakteri

Pembuatan suspensi untuk difusi dengan mengambil biakan murni kurang lebih 2 ose *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Suspensi dibuat dalam tabung yang berisi media *Brain Heart Infusion* (BHI) dan kekeruhannya disesuaikan dengan kekeruhan standar Mc Farland 0,5 setara dengan jumlah $1,5 \times 10^8$ cfu/mL. Tujuan disesuaikannya suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan standar Mc Farland 0,5 yaitu agar jumlah bakteri yang digunakan sama selama penelitian dan mengurangi kepadatan bakteri saat pengujian.

E. Pengujian efek antibakteri

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah kelinci jantan putih sebanyak 5 ekor dengan umur \pm 3 bulan dengan berat \pm 1,5-2 kg. Hewan uji kelinci yang sudah diaklimatisasikan selama 5 hari dicukur bulu pada punggung kelinci kemudian dipilih 5 lokasi penyuntikkan dibagian kiri dengan jarak masing-masing lokasi \pm 5 cm. Suspensi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 diinfeksi secara subkutan sebanyak 0,2 ml pada masing-masing lokasi pada kulit punggung kelinci yang telah disiapkan. *Spray gel* diberikan setelah 48 jam pada daerah yang diinfeksi. *Spray gel* ekstrak etanol daun ashitaba dengan kadar 0,1%;0,5%;1% disemprotkan pada 3 lokasi dibagian kiri punggung kelinci, 2 lokasi dibagian kanan sebagai kontrol negatif disemprotkan dengan basis *spray gel*, kontrol positif dioleskan dengan *spray gel* gentamisin, kontrol normal tanpa perlakuan. Penyemprotan *spray gel* ekstrak daun ashitaba dilakukan 2 kali sehari, pengamatan waktu penyembuhan infeksi berdasarkan hilangnya eritema, nanah dan jumlah koloni bakteri yang berkurang (Naibabo *et al* 2013)

F. Pengamatan pengujian efek antibakteri

Efek antibakteri dapat dilihat secara makroskopis dengan mengamati lamanya waktu penyembuhan dalam hitungan hari dengan ditandai dengan hilangnya eritema dan nanah pada punggung kelinci yang diinfeksi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 setelah pemberian *spray gel* ekstrak etanol daun ashitaba (Naibabo *et al.* 2013).

G. Perhitungan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dari nanah

Pengamatan secara makroskopis. Perhitungan jumlah koloni secara makroskopis dilakukan dengan cara menghitung jumlah pertumbuhan bakteri menggunakan metode *Plate Count* dari nanah yang diambil dari punggung kelinci. Tahap pengenceran dimulai dari larutan sampel sebanyak 10 ml, dimulai dari nanah punggung kelinci diambil dengan kapas lidi steril kemudian diencerkan dalam tabung reaksi yang berisi 1 ml NaCl 0,9% (NaCl fisiologis), dilanjutkan dengan pengambilan 1 ml campuran tadi kemudian dicampurkan dengan 9 ml NaCl, selanjutnya diambil 1 ml dari hasil pencampuran kemudian dituang pada medium VJA dan diinkubasi 24 – 48 jam pada suhu 37⁰C. Setelah diinkubasi jumlah koloni yang tumbuh dihitung dan merupakan perkiraan atau dugaan dari jumlah bakteri dalam suspensi tersebut. Dan dilakukan setiap hari selama 7 hari.

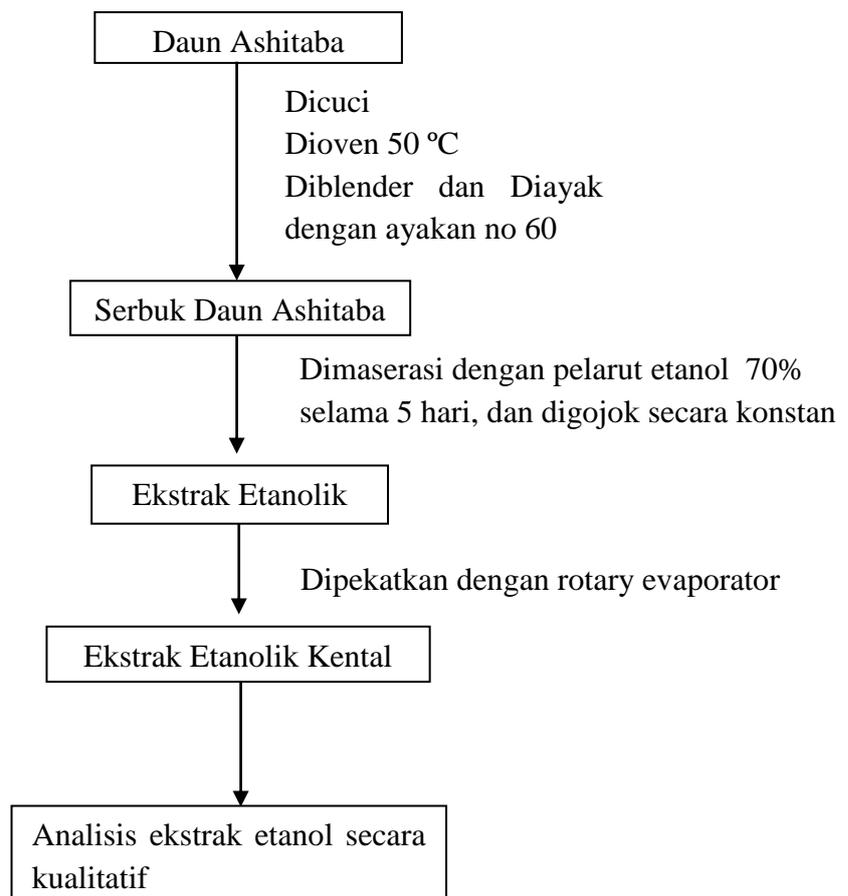
H. Analisis Data

Data hasil pengujian efek sediaan *spray gel* ekstrak etanol daun ashitaba dengan kadar 0,1%;0,5%;1% dengan lamanya waktu penyembuhan dianalisis secara statistik menggunakan Metode Kolmogorv-Smirnov. Hasil yang diperoleh jika terdistribusi normal ($p>0,05$) dilanjutkan dengan metode analysis of varian (ANOVA) dua jalan dengan taraf kepercayaan 95%. Lanjutkan dengan uji Tukey untuk mengetahui konsentrasi mana yang memiliki pengaruh sama atau berbeda antara satu dengan yang lainnya. Hasilnya jika tidak terdistribusi normal ($p<0,05$) maka dilanjutkan uji Kruskal-Wallis dan dilanjutkan uji Mann-Wihitney untuk

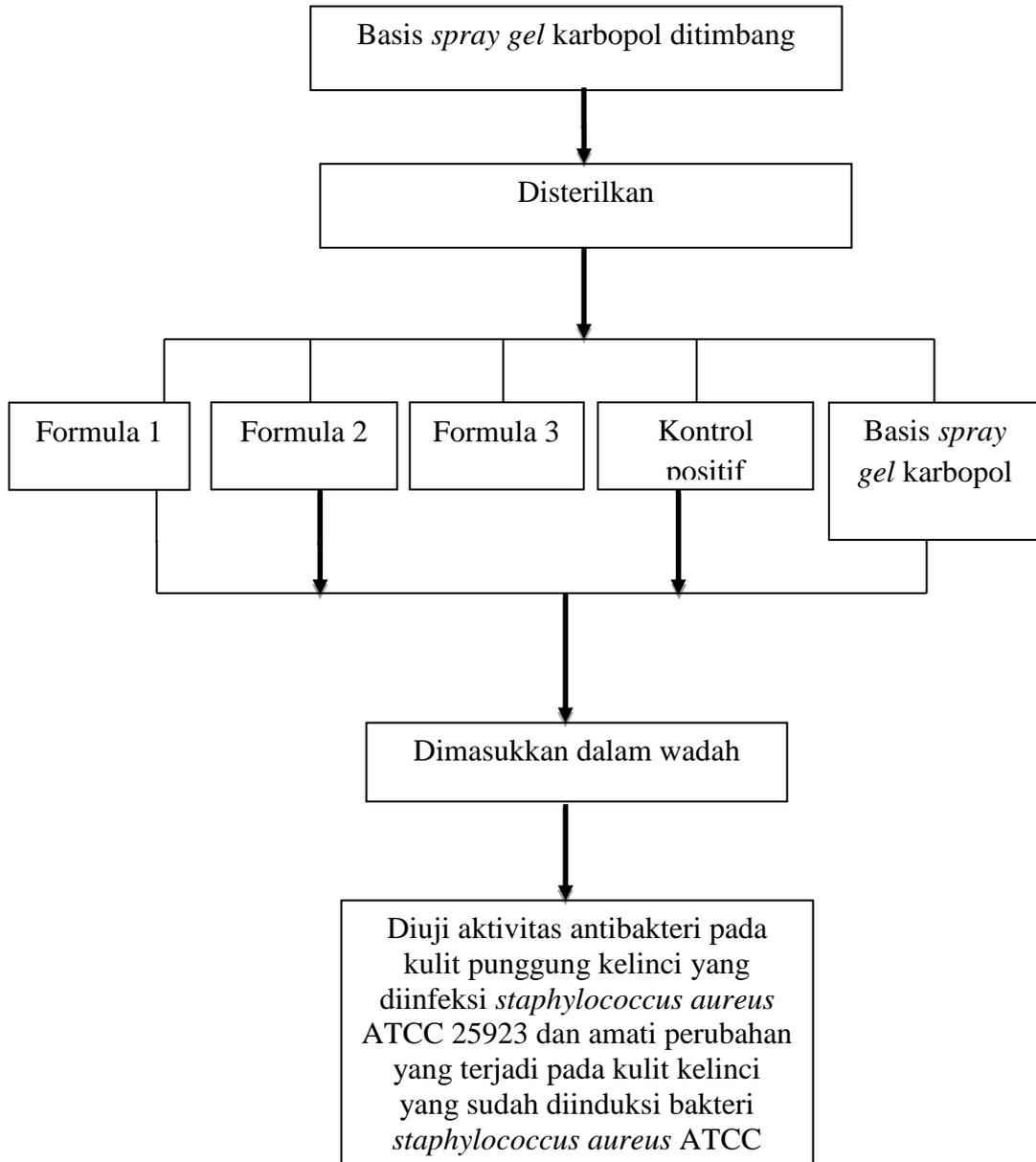
mengetahui konsentrasi mana yang memiliki pengaruh sama atau berbeda antara satu dengan yang lainnya.

Data uji daya sebar, daya lekat, dan daya viskositas dianalisis secara statistik menggunakan uji Kolmogrov-Smirnov, jika terdistribusi normal ($p > 0,05$) dilanjutkan dengan uji ANOVA dua jalan dengan taraf kepercayaan 95%. Hasilnya jika tidak terdistribusi normal ($p < 0,05$) maka dilanjutkan uji Kruskal Wallis dan dilanjutkan uji Mann-Whitney H_0 ditolak atau ($p > 0,05$) (Puspitasari 2014)

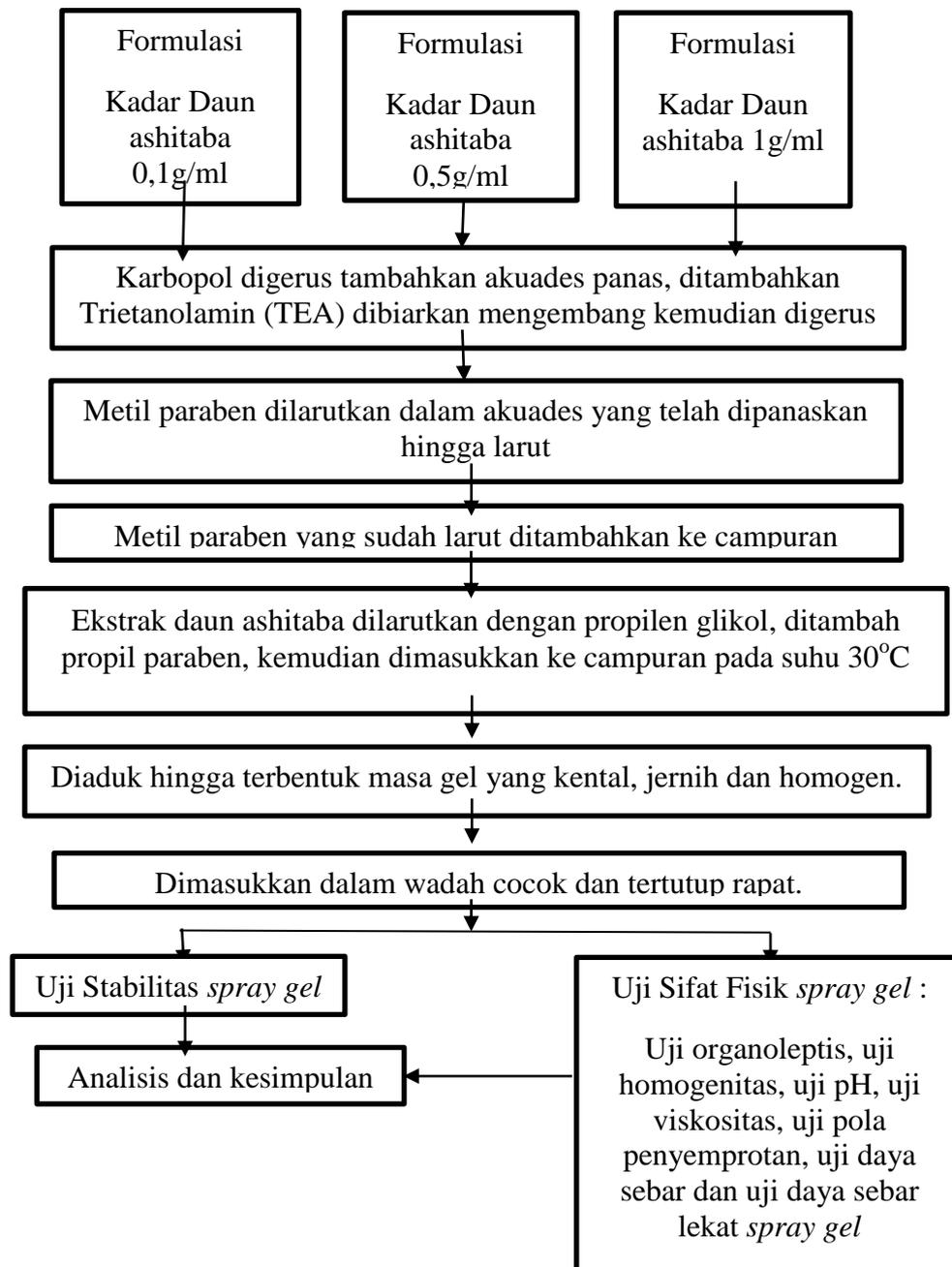
I. Skema penelitian



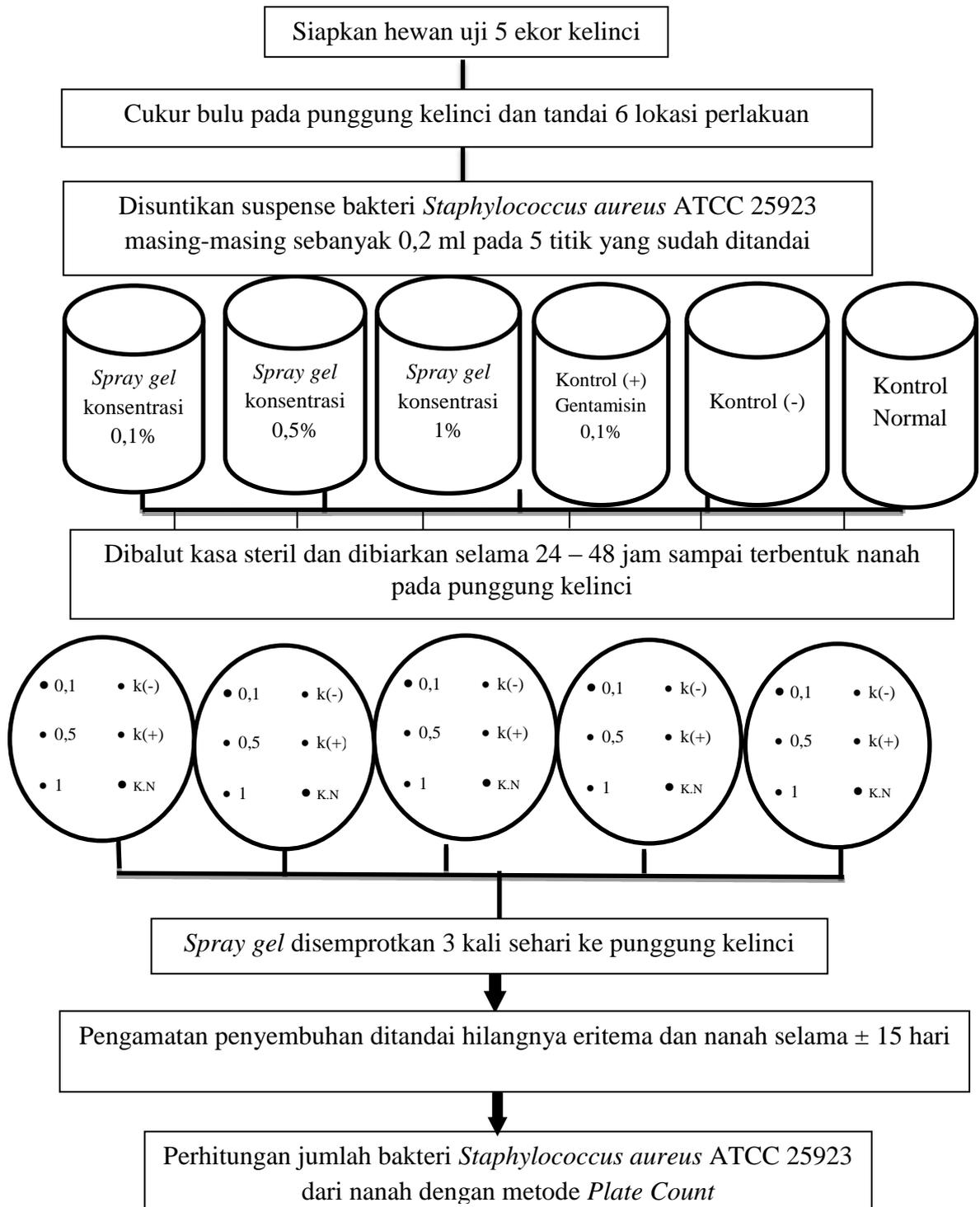
Gambar 8. Ekstraksi daun ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz)



Gambar 9. Skema kerja pembuatan formulasi *spray gel* ekstrak daun ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz)



Gambar 10. Skema pembuatan *spray gel* ekstraksi daun ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz)



Gambar 11. Skema pengujian *spray gel* ekstraksi daun ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz).

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Determinasi tanaman

Determinasi merupakan langkah awal yang harus dilakukan sebelum menggunakan bahan tanaman untuk penelitian. Determinasi tanaman dimaksudkan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang diambil, menyesuaikan morfologi tanaman dan bertujuan untuk menghindari kesalahan pengumpulan tanaman yang akan digunakan untuk penelitian. Determinasi dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Sebelas Maret Surakarta. Hasil kunci determinasi tanaman menurut C.A. Backer & R.C Bkhuizen van den Brink, Jr. (1963:1965) dan she *et al.* (2005).

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31a-32a-33a-34a-35a-36d-37b-38b-39b-41b-42b-44b-45b-46e-50b-51b-53b-54b-56b-57b-58b-59d-72b-73b-74b-631a. **148. Apiaceae** 1b-4b-6b-8b-9b-53a-54b-57b-58b-59b-60b. **82. Angelica**. 1 (*Angelica Keiskei* (Miq.) Koidz.) Hasil determinasi tanaman dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Pemilihan bahan daun ashitaba

2.1 Hasil pemilihan daun ashitaba. Daun ashitaba yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari petani di Trawas, Mojokerto, Jawa timur dalam keadaan masih segar. Daun segar kemudian dicuci dengan menggunakan air mengalir untuk menghilangkan kotoran atau zat lain yang tidak dibutuhkan. Bobot daun segar yang digunakan dalam penelitian ini adalah 3500 gram.

2.2 Hasil pengeringan daun ashitaba. Serbuk daun ashitaba diperoleh dari daun ashitaba segar yang berwarna hijau dengan bobot basah 3500 gram. Daun ashitaba basah kemudian di keringkan dalam oven pada suhu 50°C selama 2 hari sehingga didapatkan bobot kering daun ashitaba sebanyak 720 gram. Hasil rendemen yang diperoleh adalah 20%. Dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil rendemen serbuk daun ashitaba

Berat basah	Berat kering	Persentase rendemen
3500 (gram)	720 (gram)	20 %

Daun ashitaba yang akan dikeringkan dicuci terlebih dahulu sampai bersih, setelah dilakukan proses pencucian lalu dilanjutkan dengan pemilihan ulang daun basah basah yang bertujuan untuk menghilangkan kotoran-kotoran atau bahan asing yang tidak dikehendaki, agar dapat meminimalkan munculnya kontaminan. Setelah pemilihan ulang daun basah, daun ashitaba dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C.

3. Hasil pembuatan serbuk

Daun ashitaba yang sudah kering diserbuk dengan menggunakan mesin penggiling. Tujuan dilakukannya penyerbukan adalah untuk memperluas luas permukaan simplisia sehingga memudahkan simplisia untuk larut dalam zat penyari. Hasil penyerbukan simplisia sebanyak 620 gram. Serbuk yang sudah digiling kemudian diayak dengan menggunakan mesh no 60. Tujuan dilakukannya pengayakan agar didapatkan ukuran serbuk yang seragam sehingga pelepasan zat aktifnya merata. Hasil pengayakan serbuk yang didapatkan yaitu 510 gram serbuk halus. Dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil rendemen serbuk terhadap berat daun kering

Berat kering	Berat serbuk	Persentase rendemen
720 (gram)	510 (gram)	70,8 (%)

4. Penetapan kadar lembab daun ashitaba

Kadar lembab serbuk daun ashitaba diukur dengan menggunakan alat *moisture balance*. Pemeriksaan ini ditujukan agar mengetahui kandungan lembab daun ashitaba yang berpengaruh terhadap kualitas serbuk. Jika kadar lembab tinggi dapat memudahkan tumbuhnya jamur dan organisme aerob lainnya. Kadar lembab serbuk yang baik adalah tidak lebih dari 10%. Dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil penetapan kandungan lembab serbuk daun ashitaba

Serbuk	Penimbangan	Kandungan lembab serbuk (%)
Daun ashitaba	2,0 gram	7,1%
	2,0 gram	7,2%
	2,0 gram	6,9%
Rata-rata		7,06%

Hasil penentuan kadar lembab serbuk daun ashitaba setelah diukur menggunakan alat *moisture balance* adalah 7,06% dengan suhu 115°C selama kisaran waktu ± 8 menit. Hasil kadar lembab serbuk daun ashitaba ini memenuhi syarat yakni kadarnya tidak lebih dari 10%. (Hanifah *et al*, 2014).

5. Pembuatan ekstrak etanol daun ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz)

Pembuatan ekstrak etanol daun ashitaba ini menggunakan bahan serbuk daun ashitaba yang sudah halus dan telah diuji kadar airnya. Pembuatan ekstrak etanol ini menggunakan metode ekstraksi yakni metode maserasi. Maserasi dipilih sebagai metode ekstraksi karena metodenya cukup sederhana, peralatan yang digunakan juga sederhana, mudah dilakukan dan metode ini cocok untuk senyawa yang mudah rusak dengan pemanasan. Pada penelitian ini pelarut yang digunakan adalah etanol 70% karena etanol merupakan pelarut universal, etanol juga lebih murah dibandingkan dengan pelarut lainnya, mudah didapatkan dan selektifitasnya tinggi. Pemilihan konsentrasi pelarut etanol 70% dikarenakan etanol 70% lebih bersifat polar dibandingkan pelarut etanol 96% atau etanol 95%, untuk mengekstraksi senyawa seperti flavonoid, alkaloid, tanin yang bersifat polar maka digunakan pelarut yang bersifat polar juga yakni etanol 70%.

Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk halus daun ashitaba 10 bagian simplisia kedalam sebuah botol maserasi, dengan 75 bagian cairan penyari, tutup, biarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya sambil sering diaduk dalam botol maserasi berwarna gelap untuk menghindari terjainya oksidasi oleh cahaya matahari. Botol maserasi kemudian digojog 3 kali dalam sehari agar tidak terjadi pengendapan dan partikel serbuk dapat bersentuhan langsung dengan pelarut. Proses maserasi dilakukan selama 5 hari, Setelah 5 hari serkai, peras, cuci ampas dengan cairan penyari secukupnya hingga diperoleh 100 bagian, lalu diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak yang didapatkan dari

hasil penguapan dengan *rotary evaporator* belum terlalu pekat, sehingga pemekatan ekstrak dilakukan diatas waterbath. Dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Rendemen ekstrak etanol daun ashitaba

Serbuk daun ashitaba (g)	Ekstrak kental (g)	Rendemen(%)
500	139,88	27,976

6. Uji bebas alkohol ekstrak etanol daun ashitaba

Uji bebas alkohol dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya kandungan alkohol di dalam ekstrak etanol daun ashitaba. Diketahui bahwa alkohol memiliki aktivitas sebagai antibakteri, hal ini dapat mempengaruhi konsentrasi hambat ekstrak etanol daun ashitaba terhadap bakteri *staphylococcus aureus*, oleh karena itu perlu dilakukan uji bebas alcohol untuk mengetahui bahwa efek yang ditimbulkan oleh sediaan *spray gel* dalam penelitian ini berasal dari ekstrak etanol daun ashitaba yang sudah bebas alkohol. Uji bebas alkohol dilakukan dengan uji esterifikasi. Hasil Uji bebas alkohol ekstrak etanol daun ashitaba ini dinyatakan tidak mengandung alkohol karena tidak tercium bau ester yang khas saat dilakukan pemanasan. Dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Hasil uji bebas alkohol ekstrak etanol daun ashitaba

Pustaka	Hasil uji
Positif bila tercium bau ester yang khas	Tidak tercium bau ester yang khas

7. Identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol daun ashitaba

Identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol daun ashitaba dilakukan dengan menggunakan peraksi kimia atau sering disebut dengan reaksi tabung. Kandungan kimia yang diidentifikasi pada penelitian ini adalah alkaloid, flavonoid dan saponin. Berdasarkan hasil uji identifikasi reaksi tabung, ekstrak etanol daun ashitaba positif mengandung alkaloid, flavonoid dan saponin. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol daun ashitaba dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstra etanol daun ashitaba.

No	Nama senyawa	Pustaka	Hasil uji
1	Alkaloid	Terdapat endapan putih atau kuning (Habrone 1987 & Trevor 1995)	Terbentuk endapan putih berubah kekuningan
2	Flavonoid	Terdapat endapan warna merah/kuning/jingga pada amil alkohol (Depkes 1978)	Terbentuk endapan kuning jingga pada lapisan amil alkohol
3	Saponin	Terbentuk buih yang mantab setinggi 1-10 cm, ditambah HCL 2N buih tidak hilang (Depkes 1978)	Terbentuk busa yang stabil
4	Tanin	Terbentuknya warna hijau violet atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin (Prameswari <i>et al.</i> 2014)	Terbentuknya warna hijau kehitaman

8. Pengujian sifat fisik sediaan *spray gel*

8.1 Pemeriksaan Organoleptik. . Pengujian organoleptis dilakukan dengan cara mendeskripsikan warna, bau dan konsistensi dari sediaan gel. Sediaan gel yang bagus seharusnya memiliki warna yang menarik dan bau yang tidak mengganggu dan menyenangkan serta memiliki konsistensi yang stabil sehingga dapat memberikan kenyamanan dalam penggunaan. Hasil uji organoleptis dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 9. Hasil organoleptis formula *spray gel* ekstrak daun ashitaba

Pemeriksaan	Waktu	Formula I	Formula II	Formula III
Warna	Hari ke-0	HK	HK	HK
	Hari ke-1	HK	HK	HK
	Hari ke-10	HK	HK	HK
Bau	Hari ke-0	Khas	Khas	Khas
	Hari ke-1	Khas	Khas	Khas
	Hari ke-10	Khas	Khas	Khas
Konsistensi	Hari ke-0	+++	+++	++
	Hari ke-1	+++	+++	++
	Hari ke-10	++	++	++

Keterangan:

HK : hijau kehitaman

+ : menunjukkan konsistensi gel yang encer

++ : menunjukkan konsistensi gel yang agak encer

+++ : menunjukkan konsistensi gel yang agak kental

Formula I : *spray gel* ekstrak etanolik daun ashitaba 0,1 %Formula II : *spray gel* ekstrak etanolik daun ashitaba 0,5 %Formula III : *spray gel* ekstrak etanolik daun ashitaba 1 %

Sediaan *spray gel* yang dihasilkan menunjukkan bahwa pada hari pertama setelah pembuatan ekstrak etanol daun ashitaba memiliki bau khas seperti daun teh yang lebih intensif, bau ekstrak etanol daun ashitaba berkurang setelah penyimpanan selama 10 hari, hal ini kemungkinan disebabkan ekstrak etanol daun ashitaba yang digunakan tidak bisa bertahan lama dalam campuran basis yang jumlahnya lebih besar.

Konsistensi pada formulasi I dan II lebih kental daripada formulasi III hal ini disebabkan karena kandungan ekstrak etanol daun ashitaba dalam setiap formula berbeda-beda. Semakin besar kandungan ekstrak etanol daun ashitaba yang digunakan, menghasilkan gel dengan konsistensi semakin encer. Formulasi III mengandung paling banyak ekstrak etanol daun ashitaba yaitu 1 g atau 1 g dalam 100 ml sediaan.

8.2 Pemeriksaan Homogenitas. Sediaan gel diuji homogenitasnya dengan cara mengoleskannya pada sekeping kaca preparat (transparan). Tujuan uji homogenitas sediaan untuk mengetahui apakah ekstrak etanol daun ashitaba dalam sediaan sudah homogen atau belum, hal ini penting dilakukan karena homogenitas sangat pengaruh terhadap efektivitas terapi dari sediaan tersebut, jika sediaan telah homogen maka konsentrasi zat aktif diasumsikan pada saat pemakaian atau pengambilan akan selalu sama atau seragam. Hasil pengamatan homogenitas *spray gel* dapat dilihat pada table 10.

Tabel 10. Hasil homogenitas sediaan ekstrak etanol daun ashitaba dengan berbagai konsentrasi

Formula	Hari ke-0	Hari ke-1	Hari ke-10
Formula I	Homogen	Homogen	Homogen
Formula II	Homogen	Homogen	Homogen
Formula III	Homogen	Homogen	Homogen

Keterangan:

Formula I : *spray gel* ekstrak etanolik daun ashitaba 0,1 %
 Formula II : *spray gel* ekstrak etanolik daun ashitaba 0,5 %
 Formula III : *spray gel* ekstrak etanolik daun ashitaba 1%

Hasil pengamatan terhadap homogenitas *spray gel* yang dilakukan dengan cara dioleskan pada sekeping kaca atau objek glass menunjukkan bahwa ketiga formula ekstrak etanol daun ashitaba memiliki homogenitas yang baik dari hari pertama setelah pembuatan sampai hari ke-10, karena tidak terdapat partikel padat yang terdapat di dalam gel serta tidak terdapat pembentuk gel yang masih menggumpal atau tidak merata dalam sediaan.

8.3 Pengukuran pH. Uji ini dilakukan untuk mengetahui apakah kadar pH dalam sediaan gel memenuhi persyaratan untuk sediaan topikal. Hasil penentuan pH sediaan *spray gel* dengan menggunakan pH meter dapat dilihat pada Tabel 11 dan Lampiran

Tabel 11. Hasil pemeriksaan pH *spray gel* ekstrak daun ashitaba dengan berbagai konsentrasi

Waktu pemeriksaan	Formula I	Formula II	Formula III
Hari ke-0	6,26 ± 0,015	6,14 ± 0,015	5,92 ± 0,035
Hari ke-1	6,28 ± 0,015	6,16 ± 0,005	5,95 ± 0,03
Hari ke-10	6,28 ± 0,020	6,19 ± 0,02	6,00 ± 0,032

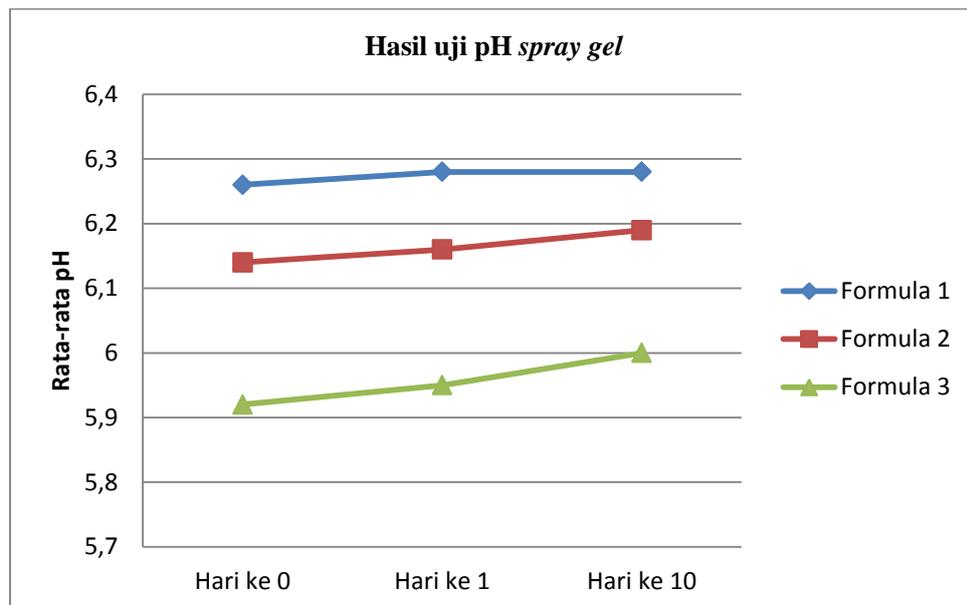
Keterangan:

Formula I : *Spray gel* ekstrak daun ashitaba 0,1%

Formula II : *Spray gel* ekstrak daun ashitaba 0,5%

Formula III : *Spray gel* ekstrak daun ashitaba 1%

Hasil pengamatan uji pH *spray gel* ekstrak daun ashitaba pada tabel 11 menunjukkan bahwa pada penyimpanan selama 10 hari, sediaan gel mengalami penurunan dan kenaikan pH. Kemungkinan disebabkan oleh pengaruh lingkungan seperti gas-gas di udara yang bersifat asam dan masuk ke dalam gel, akan tetapi pada penurunan dan kenaikan pH yang terjadi pada setiap formula tidak terlalu signifikan dan sehingga dapat dikatakan pH sediaan relatif stabil pada penyimpanan, dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 6. Diagram hasil uji pH spray gel ekstrak daun ashitaba

Berdasarkan hasil penelitian diketahui pH sediaan dalam rentang 5,92-6,28, 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 sesuai dengan keadaan fisiologis kulit. Kesesuaian pH kulit dengan pH sediaan topikal mempengaruhi penerimaan kulit terhadap sediaan (Barasa 2016). PH sediaan yang terlalu asam dapat menyebabkan kulit mengkerut dan menjadi rusak, bila pH sediaan terlalu basa maka dapat menyebabkan kulit mengelupas serta kering (Ansari 2009). Hasil menunjukkan bahwa *Spray gel* ekstrak daun ashitaba memiliki nilai pH yang masih berubah pada hitungan hari ke 10, hal ini disebabkan beberapa faktor yang mempengaruhi perubahan pada pH yakni penyimpanan sediaan pada botol tertutup rapat yang berkemungkinan adanya udara masuk yang mengakibatkan perubahan pH, tempat penyimpanan pada tempat terkena sinar matahari dapat mempengaruhi naik dan turunnya pH. Namun, pada hasil penelitian yang diperoleh berada pada kisaran pH normal kulit, sehingga dapat diterima oleh kulit dan tidak menimbulkan iritasi.

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan SPSS pada tes Kolmogorov Smirnov menyatakan sig 0,407 > 0,05 maka data terdistribusi normal, kemudian dilanjutkan dengan analisis anava dua jalan dengan

membandingkan perubahan nilai pH tiap formula dan waktu hari ke-0, hari ke-1, dan hari ke-10. Data statistik menyatakan uji pH hari ke-0 sebanding dengan hari ke-1 karena berada dalam 1 subsets yang sama. Hasil data statistik dapat dilihat pada Lampiran 11.

8.4 Pengukuran Viskositas. Viskositas sangat berpengaruh terhadap efektivitas terapi yang diinginkan serta kenyamanan dan kemudahan dalam penggunaan sehingga tidak boleh terlalu kental dan terlalu encer. Viskositas pada sediaan menunjukkan mudah tidaknya spray gel tersebut dapat dihantarkan melalui aplikator semprot atau dituangkan dalam wadah. Viskositas spray 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 saat sediaan digunakan. Hasil pengamatan viskositas *spray gel* ekstrak daun ashitaba dapat dilihat pada Tabel 12 dan Gambar 6.

Tabel 12. Hasil viskositas sediaan *spray gel* ekstrak daun ashitaba dengan berbagai konsentrasi

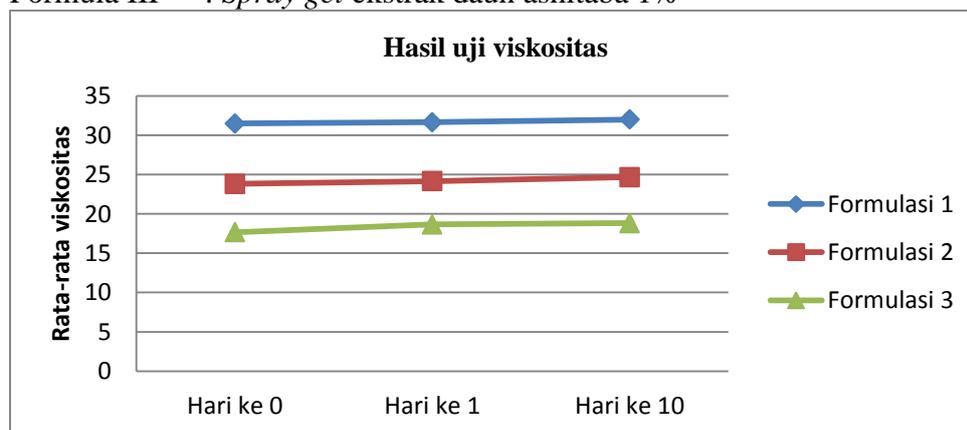
Waktu pemeriksaan	Viskositas (d Pas)		
	Formula I	Formula II	Formula III
Hari ke-0	31,5 ± 0,5	23,83 ± 0,28	17,67 ± 0,76
Hari ke-1	31,6 ± 0,28	24,16 ± 0,57	18,66 ± 0,28
Hari ke-10	32 ± 0,5	24,67 ± 0,28	18,83 ± 0,28

Keterangan:

Formula I : *Spray gel* ekstrak daun ashitaba 0,1%

Formula II : *Spray gel* ekstrak daun ashitaba 0,5%

Formula III : *Spray gel* ekstrak daun ashitaba 1%



Gambar 7. Diagram viskositas *spray gel* ekstrak daun ashitaba

Data di atas menunjukkan bahwa formula 1 lebih kental diantara ketiga formula karena konsentrasi ekstrak daun ashitaba yang paling kecil diantara ketiga formula. Konsentrasi ekstrak daun ashitaba dengan konsentrasi 0, 1% dan 0,5% menghasilkan gel dengan viskositas yang besar. Sedangkan gel ekstrak daun ashitaba konsentrasi 1% menghasilkan viskositas yang lebih encer atau viskositas kecil. Hasil pengamatan terhadap viskositas gel menunjukkan bahwa viskositas dari ketiga formula dari hari ke hari cenderung menurun. Penurunan 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 *et al* 2011).

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan SPSS pada tes Kolmogorov Smirnov menyatakan sig 0,227 > 0,05 maka data terdistribusi normal, kemudian dilanjutkan dengan analisis anava dua jalan dengan membandingkan perubahan nilai viskositas tiap formula dan waktu hari ke-0, hari ke-1, dan hari ke-10. Data statistik menyatakan uji viskositas hari ke-0 sebanding dengan hari ke-1 karena berada dalam 1 subsets yang sama. Hasil data statistik dapat dilihat pada Lampiran 13.

8.5 Pemeriksaan pola penyemprotan. Pengujian dilakukan untuk melihat ukuran dari setiap pola semprotan, sediaan disemprotkan pada lembar plastik yang sudah diukur beratnya dan sudah diberi nomor dengan jarak 3 cm, 5 cm, 10 cm, dan 15 cm. Pengujian setiap jarak dilakukan secara berulang, pada uji ini yang diamati adalah pola pembentukan semprotan, diameter dari pola semprot yang terbentuk setiap semprotnya dengan jarak yang sama. Dapat dilihat pada tabel 13.

Tabel 13. Hasil pengukuran diameter semprot sediaan *spray gel* ekstrak daun ashitaba dengan berbagai konsentrasi

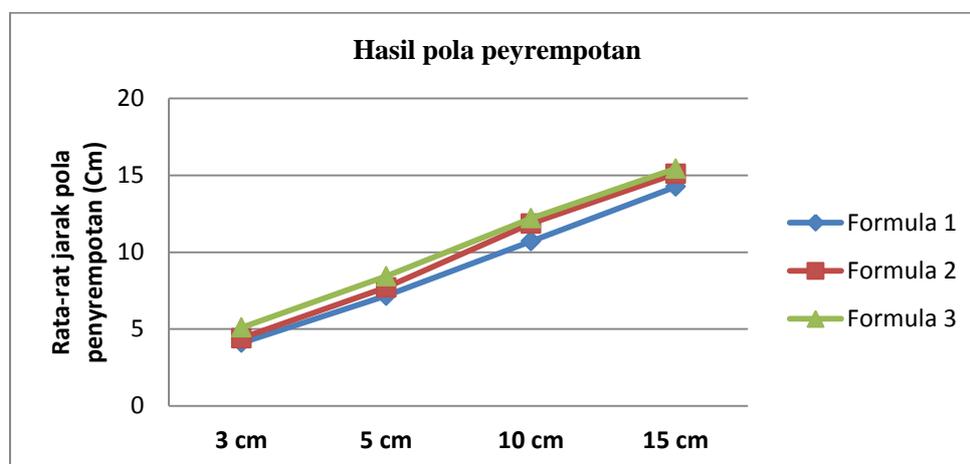
Jarak semprotan	Rata-rata diameter (cm)		
	Formula I	Formula II	Formula III
3 cm	4,1 ± 0,1	4,4 ± 0,1	5,10 ± 0,1
5 cm	7,16 ± 0,06	7,70 ± 0,36	8,43 ± 0,11
10 cm	10,7 ± 0,06	11,86 ± 0,06	12,2 ± 0,34
15 cm	14,26 ± 0,06	15,10 ± 0,1	15,43 ± 0,21

Keterangan:

Formula I : *Spray gel* ekstrak daun ashitaba 0,1%

Formula II : *Spray gel* ekstrak daun ashitaba 0,5%

Formula III : *Spray gel* ekstrak daun ashitaba 1%



Gambar 8. Diagram pola penyemprotan *spray gel* ekstrak etanol daun ashitaba

Tabel 13 dan Gambar 8, menunjukkan pemeriksaan pola penyemprotan dari formula bervariasi, adanya variasi yang terbentuk dari sediaan *spray gel* dipengaruhi oleh jarak penyemprotan serta viskositas dari sediaan (Suyudi 2014). Jarak penyemprotan berbanding lurus terhadap besarnya diameter pola penyemprotan dari sediaan, semakin besar jarak penyemprotan maka semakin besar pula pola penyemprotan yang dihasilkan. Hasil dari pola penyemprotan yang terbentuk bulat menyebar seperti pola ketika air disemprotkan, tekanan yang dibutuhkan untuk menyemprotkan formula III paling sedikit karena viskositas yang tidak terlalu tinggi, sedangkan pada formulasi lain dikarenakan viskositas yang terlalu tinggi sediaan membutuhkan tekanan yang lebih besar.

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan SPSS pada tes Kolmogorov Smirnov terlihat $\text{sig } 0,355 > 0,05$ maka data terdistribusi normal, kemudian dilanjutkan dengan analisis anava dua jalan dengan membandingkan perubahan diameter semprotan tiap formula . Data statistik menyatakan uji pola penyemprotan formula 1% memiliki nilai diameter paling tinggi dibandingkan dengan formula 0,1% dan 0,5% Hasil data statistik dapat dilihat pada Lampiran 19.

8.6 Uji daya sebar gel. Uji daya sebar dilakukan untuk mengetahui kemampuan basis menyebar pada permukaan kulit ketika diaplikasikan. Hasil uji daya sebar dapat dilihat pada Tabel 14

Tabel 14. Hasil pengukuran daya sebar *spray gel* ekstrak daun ashitaba dengan berbagai konsentrasi

Formula	Beban (g)	Diameter penyebaran (cm \pm SD)		
		Hari ke-0	Hari ke-1	Hari ke-10
Formula I	63,023	3,2 \pm 0,1	3,16 \pm 0,05	3,3 \pm 0,1
	113,023	3,43 \pm 0,15	3,46 \pm 0,05	3,5 \pm 0,26
	163,023	3,8 \pm 0,17	4,00 \pm 0,10	4,03 \pm 0,11
	213,023	4,26 \pm 0,15	4,46 \pm 0,15	4,53 \pm 0,15
	263,023	4,53 \pm 0,15	4,46 \pm 0,20	4,67 \pm 0,15
Formula II	63,023	3,26 \pm 0,57	3,4 \pm 0	3,5 \pm 0,1
	113,023	3,7 \pm 0,1	3,7 \pm 0,1	3,86 \pm 0,15
	163,023	4 \pm 0,1	3,96 \pm 0,15	3,93 \pm 0,05
	213,023	4,4 \pm 0,1	4,76 \pm 0,05	4,76 \pm 0,15
	263,023	5,00 \pm 0,26	4,96 \pm 0,37	5,00 \pm 0,1
Formula III	63,023	3,53 \pm 0,11	3,67 \pm 0,25	4,06 \pm 0,06
	113,023	4 \pm 0,1	3,96 \pm 0,20	4,06 \pm 0,06
	163,023	4 \pm 0,26	4,03 \pm 0,11	4,53 \pm 0,25
	213,023	4,96 \pm 0,05	4,67 \pm 0,20	4,97 \pm 0,06
	263,023	5,20 \pm 0,10	5,27 \pm 0,20	5,43 \pm 0,21

Keterangan:

- Formula I : *Spray gel* ekstrak daun ashitaba 0,1%
 Formula II : *Spray gel* ekstrak daun ashitaba 0,5%
 Formula III : *Spray gel* ekstrak daun ashitaba 1%

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 bagus. Tabel 14, menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak daun ashitaba, maka semakin besar daya sebar, karena besarnya konsentrasi ekstrak daun ashitaba didalam 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 yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan SPSS pada tes Kolmogorov Smirnov menyatakan data terdistribusi normal sig $0,111 > 0,05$ kemudian dilanjutkan dengan analisis anava dua jalan dengan membandingkan perubahan nilai diameter penyebaran tiap formula dan waktu hari ke-0, hari ke-1, dan hari ke-10. Data statistik menyatakan uji daya sebar formula 1% idak sebanding dengan formula 0,1 % dan 0,5% pada hari ke-0, hari ke-1 dan hari ke-10 serta pada formula 15 pada hari ke-0 dan hari ke-1 karena berrada dalam 1 subsets yang berbeda dengan nilai yang tinggi dibandingkan formula dan hari yang lain. Hasil data statistik dapat dilihat pada Lampiran 21.

8.7 Hasil Pengujian Daya Sebar Lekat. Uji daya sebar lekat dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kemampuan sediaan menyebar dan melekat pada permukaan kulit ketika diaplikasikan. Hasil pengukuran waktu daya sebar lekat dapat dilihat pada table 15.

Tabel 15. Hasil pengukuran daya sebar lekat *spray gel* ekstrak daun ashitaba dengan berbagai konsentrasi

Formula	Waktu (Detik) \pm SD
Formula I	7,79 \pm 0,55
Formula II	8,07 \pm 0,55
Formula III	8,43 \pm 0,61

Keterangan:

- Formula I : *Spray gel* ekstrak daun ashitaba 0,1%
 Formula II : *Spray gel* ekstrak daun ashitaba 0,5%
 Formula III : *Spray gel* ekstrak daun ashitaba 1%

Sediaan dapat melekat setelah disemprotkan dikulit lengan bagian atas selama 7-9 detik dan membentuk lapisan yang kuat menempel pada kulit. Semakin besar konsentrasi ekstrak daun ashitaba maka semakin besar daya sebar, karena besarnya ekstrak daun ashitaba di dalam gel menyebabkan konsistensi gel menjadi semakin encer, sehingga lebih mudah menyebar dan menyebabkan daya sebar yang semakin besar. Tabel 15, menunjukkan bahwa formulasi III yang mengandung ekstrak daun ashitaba lebih banyak menempel kuat pada kulit karena daya sebar merata dan kontak antara obat dengan kulit menjadi luas, sehingga tidak mudah mengalir dan absorpsi obat ke kulit lebih optimal dibanding formulasi I dan II.

8.8 Uji stabilitas sediaan *spray 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* yaitu dengan menyimpan sediaan pada suhu 4°C selama 48 jam kemudian dipindahkan ke suhu 40°C selama 48 jam (1 siklus). Setelah itu dilanjutkan sampai lima siklus. Parameter yang digunakan dalam penentuan stabilitas gel yaitu organoleptis, pH dan viskositas gel.

8.8.1 Hasil uji organoleptis. Pemeriksaan organoleptis dilakukan secara visual (pengamatan) dengan melihat ada tidaknya perubahan yang terjadi pada gel ekstrak daun ashitaba setelah diuji dengan metode *freeze thaw*. Hasil uji organoleptis stabilitas gel dengan metode *freeze thaw* dapat dilihat pada Tabel 16.

Tabel 6. Hasil uji organoleptis stabilitas *spray gel* ekstrak daun ashitaba dengan berbagai konsentrasi dengan menggunakan metode *freeze thaw*.

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

Keterangan:

- Formula I : *Spray gel* ekstrak daun ashitaba 0,1%
 Formula II : *Spray gel* ekstrak daun ashitaba 0,5%
 Formula III : *Spray gel* ekstrak daun ashitaba 1%

Dari hasil pengamatan secara visual uji stabilitas pada tabel 16 menunjukkan bahwa penyimpanan pada suhu yang berbeda selama lima siklus, hanya gel formula III tidak mengalami perubahan fase/terpisah pada siklus ke-lima. Hal ini dikarenakan sediaan *spray gel* ekstrak daun ashitaba masih terlihat homogen dan menyatu dengan basis.

8.8.2 Hasil uji pH. Indikator lain yang diamati yaitu pH. Pada perlakuan sebelum dan setelah proses uji stabilitas gel dengan metode *freeze thaw* terlihat bahwa terjadi penurunan pH pada semua formula. Hasil pengujian pH sebelum dan setelah uji kestabilan dengan metode *freeze thaw* dapat dilihat pada Tabel 17.

Tabel 7. Hasil pengukuran pH *spray gel* ekstrak daun ashitaba sebelum dan setelah uji kestabilan dengan metode *freeze thaw*.

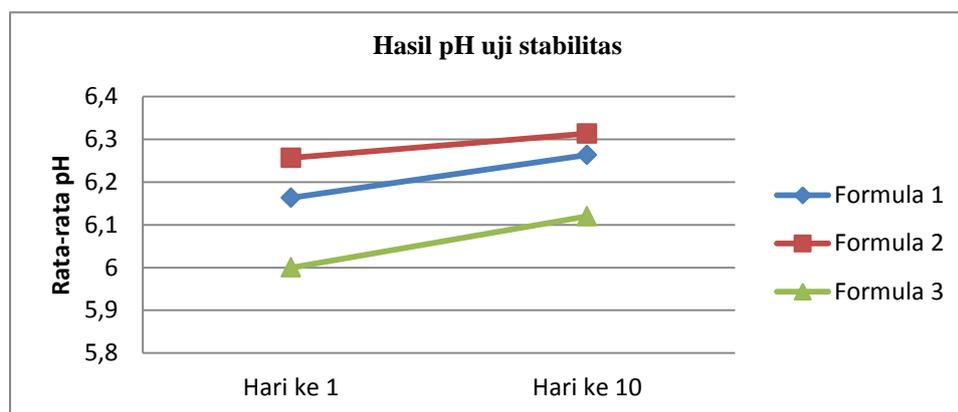
Waktu pemeriksaan	Formula I	Formula II	Formula III
Hari ke-0	$6,16 \pm 0,011$	$6,26 \pm 0,2$	$6 \pm 0,2$
Hari ke-10	$6,26 \pm 0,015$	$6,31 \pm 0,015$	$6,12 \pm 0,108$

Keterangan:

Formula I : *Spray gel* ekstrak daun ashitaba 0,1%

Formula II : *Spray gel* ekstrak daun ashitaba 0,5%

Formula III : *Spray gel* ekstrak daun ashitaba 1%



Gambar 9. Diagram hasil uji kestabilan pH *spray gel* ekstrak daun ashitaba

Dari data tersebut, dapat dilihat hasil pengamatan terhadap pH ketiga formula sebelum dan setelah uji kestabilan dengan *freeze thaw* terlihat adanya kenaikan pH. Penyebabnya bukan karena ekstrak daun ashitaba tetapi karena pengaruh lingkungan seperti gas-gas di udara yang bersifat asam yang masuk dalam sediaan gel. Kenaikan pH yang terjadi pada formula I dan II tidak terlalu

signifikan dan sehingga dapat dikatakan pH sediaan relatif stabil, sedangkan formula III kurang stabil mengalami peningkatan yang signifikan dan menunjukkan formula kurang stabil.

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan SPSS pada tes Kolmogorov Smirnov menyatakan data terdistribusi normal sig $0,310 > 0,05$, kemudian dilanjutkan dengan analisis anava dua jalan dengan membandingkan perubahan pH formula dan waktu hari ke-0 dan hari ke-10. Data statistik menyatakan pH uji stabilitas formula 0,1% sebanding dengan 0,5% karena berada dalam 1 subsets yang sama. Hasil data statistik dapat dilihat pada Lampiran 15.

8.8.3 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 18.

Tabel 8. Hasil pengukuran viskositas *spray gel* ekstrak daun ashitaba sebelum dan setelah uji kestabilan dengan metode *freeze thaw*.

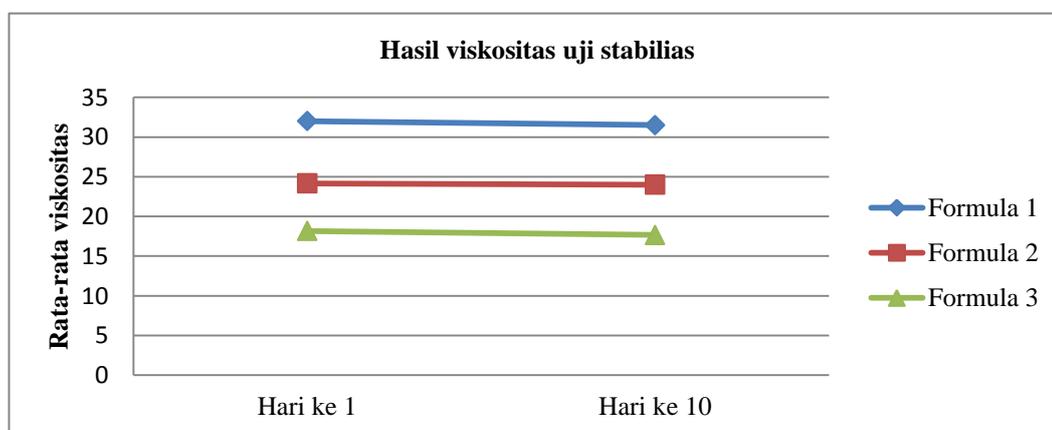
Waktu pemeriksaan	Viskositas (d Pas)		
	Formula I	Formula II	Formula III
Hari ke-0	$32 \pm 0,5$	$24,16 \pm 0,57$	$16,16 \pm 0,28$
Hari ke-10	$31,5 \pm 0,5$	$24 \pm 0,5$	$17,67 \pm 0,76$

Keterangan:

Formula I : *Spray gel* ekstrak daun ashitaba 0,1%

Formula II : *Spray gel* ekstrak daun ashitaba 0,5%

Formula III : *Spray gel* ekstrak daun ashitaba 1%



Gambar 10. Diagram hasil uji kestabilan viskositas *spray gel* ekstrak daun ashitaba

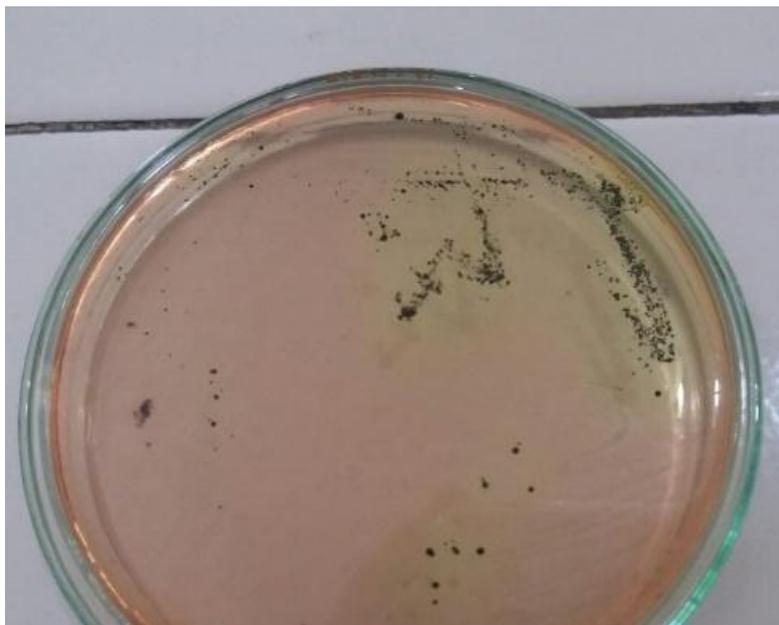
Hasil pengamatan terhadap viskositas gel menunjukkan bahwa viskositas ketiga formula sebelum dan setelah dilakukan pengujian dengan metode *freeze thaw* cenderung menurun pada siklus ke-5. Penurunan viskositas tersebut dapat disebabkan karena pengaruh suhu selama penyimpanan. Adanya kenaikan suhu akan memperbesar jarak antar atom sehingga gaya antar atom akan berkurang, jarak menjadi renggang mengakibatkan viskositas gel menjadi turun. Penyebab lain yaitu terjadinya proses sineresis di dalam sediaan gel. Sineresis terjadi akibat adanya kontraksi di dalam massa gel. Adanya perubahan pada gel akan mengakibatkan jarak matriks berubah, sehingga cairan yang terjatoh keluar dan berada di atas permukaan gel.

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan SPSS pada tes Kolmogorov Smirnov menyatakan data terdistribusi normal sig 0,486 > 0,05, kemudian dilanjutkan dengan analisis anava dua jalan dengan membandingkan perubahan viskositas formula dan waktu hari ke-0 dan hari ke-10. Hasil data statistik dapat dilihat pada Lampiran 23

9. Identifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ATCC 25923

9.1 Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan media selektif

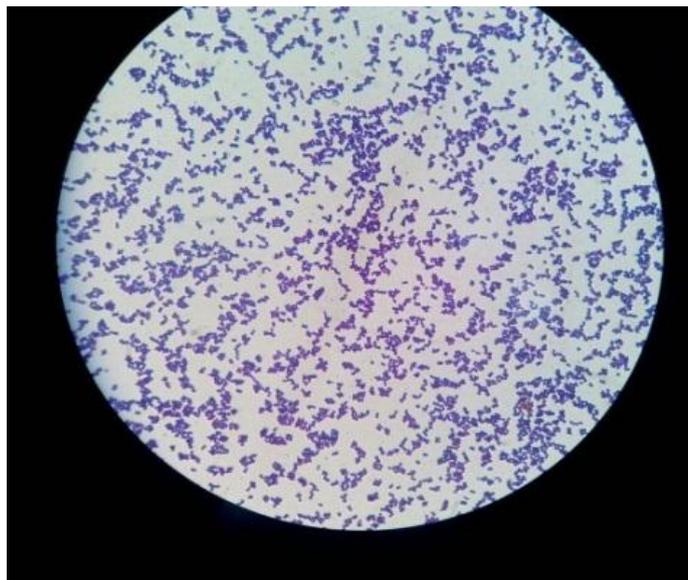
Identifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 berdasarkan koloni dilakukan dengan inokulasi suspensi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada media *Vogel Johnson Agar* (VJA) yang ditambahkan 3 tetes kalium tellurit 1% dalam cawan petri dan diinkubasi selama 48-72 jam pada suhu 37°C. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menghasilkan koloni dengan warna hitam, karena *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat mereduksi 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) (Jawetz *et al* 2012). Hasil identifikasi koloni dapat dilihat pada gambar 11



Gambar 11. Hasil uji media selektif

9.2 Identifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara morfologi.

Staphylococcus aureus ATCC 25923 dapat mempertahankan warna violet dari Gram A (kristal violet) pada pengecatan Gram *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 karena memiliki peptidoglikan yang lebih tebal daripada Gram negatif. Hasil pengamatan dengan melakukan pewarnaan Gram pada mikroskop perbesaran kuat (1000x) akan tampak berwarna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol seperti buah anggur. Tujuan pewarnaan Gram ialah untuk melihat apakah bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 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 (Pelczar & Chan 2007). Hasil identifikasi secara mikroskopis dapat dilihat pada gambar 12



Gambar 12. Hasil pewarnaan gram bakteri

9.3 Hasil Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara biokimia

Identifikasi biokimia bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara biokimia dengan menggunakan uji katalase dan uji koagulase. Uji katalase menggunakan suspensi bakteri uji yang diinokulasi pada medium nutrisi cair dengan H_2O_2 3%. Hasil positif ditandai dengan adanya gelembung udara sebab *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 mempunyai enzim katalase, dimana H_2O_2 yang dituang akan terurai menjadi H_2O (air) dan O_2 (oksigen). Mekanisme enzim katalase memecah H_2O_2 yaitu saat melakukan respirasi, bakteri menghasilkan berbagai macam komponen salah satunya H_2O_2 . Bakteri yang memiliki kemampuan memecah H_2O_2 dengan enzim katalase maka 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 gambar 13.



Gambar 13. Hasil uji katalase

Tes koagulasi digunakan untuk membedakan antara bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Staphylococcus epidermidis*, karena *Staphylococcus epidermidis* tidak membentuk gumpalan-gumpalan putih. Uji koagulase menggunakan plasma darah kelinci yang diberi asam sitrat, diencerkan (1:5) ditambah satu ose biakan bakteri, diinkubasi pada suhu 37°C. Uji koagulase dinyatakan positif kuat, jika gumpalan plasma tidak lepas dan tetap melekat pada dinding tabung saat dimiringkan. Uji ini menunjukkan virulensi dari bakteri itu dimana bakteri dapat melindungi dirinya dari fagositosis dan menghalangi kerja dari sistem imunitas inang. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 mempunyai enzim koagulase yang berfungsi untuk menggumpalkan plasma karena perubahan fibrinogen menjadi fibrin. Hasil identifikasi pada penelitian ini menunjukkan positif terjadi perubahan plasma darah kelinci yang terdenaturasi oleh *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 sehingga terjadi penggumpalan putih dalam waktu 1 jam (Jawetz *et al* 2001). Hasil gambar identifikasi secara koagulase dapat dilihat pada gambar 14.



Gambar 14. Hasil uji koagulase

10. Hasil pengujian aktivitas antibakteri secara *in vivo*

Hewan uji kelinci jantan sebanyak 5 ekor dengan umur ± 3 bulan yang diaklimatisasi selama 1 minggu, dicukur bulu sampai licin didaerah punggung kemudian ditandai 3 lokasi (a, b, c) sebelah kiri dan 3 lokasi (d, e, f) sebelah kanan dengan jarak masing-masing ± 5 cm. Suspensi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 diinfeksi secara subkutan sebanyak 0,2 ml di 5 lokasi pada kulit punggung kelinci selama 24-48 jam ditutup dengan perban steril untuk mencegah kontaminasi. Setelah punggung kelinci terbentuk nanah, pada lokasi sebelah kiri yaitu lokasi a disemprotkan dengan formulasi gel semprot kontrol positif (gentamisin), lokasi b disemprot kontrol negatif (basis sediaan gel semprot), dan lokasi c yaitu kontrol normal kulit punggung kelinci tanpa perlakuan sebagai pembanding kesembuhan yang dapat dilihat dengan jumlah koloni bakteri pada lokasi a, b, d, e, f yang mendekati jumlah koloni bakteri pada lokasi c. Lokasi sebelah kanan diberi sediaan yaitu lokasi d disemprotkan dengan formulasi gel semprot ekstrak daun ashitaba dengan konsentrasi 0,1 lokasi e disemprotkan dengan formulasi gel semprot ekstrak daun ashitaba dengan konsentrasi 0,5, lokasi f disemprotkan dengan formulasi gel semprot ekstrak daun ashitaba dengan konsentrasi 1. Penyemprotan *spray gel* dilakukan selama 3 kali sehari (pagi, siang dan sore) selama 7 hari.

Efek antibakteri dapat diamati secara makroskopis dengan melihat kesembuhan infeksi yang dilihat dengan hilangnya nanah dan luka yang

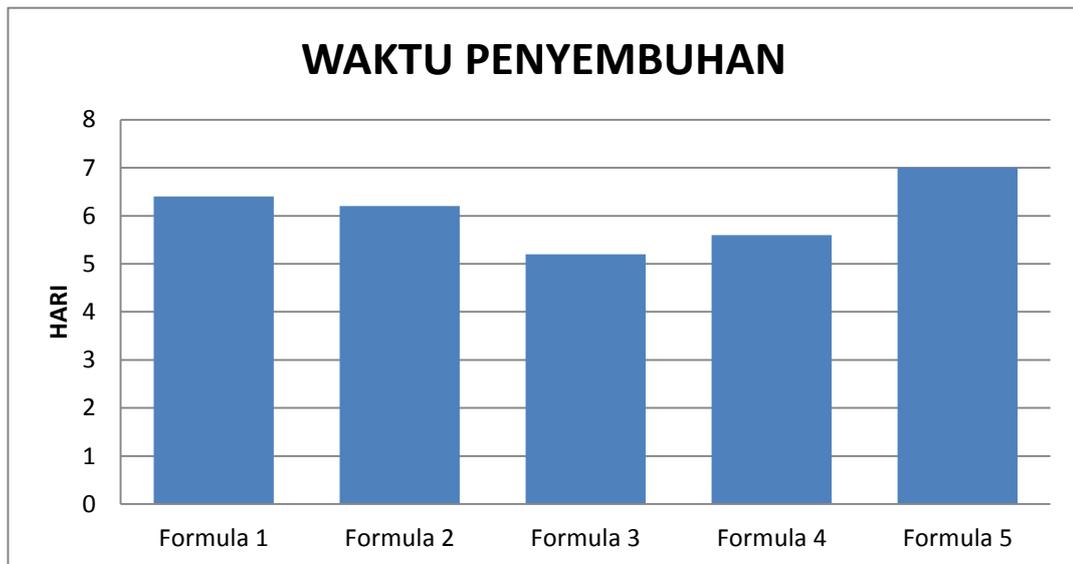
Keterangan:

N	: Nanah
NH	: Nanah Hilang
K	: Kering
S	: Sembuh
Formula I	: <i>Spray gel</i> ekstrak daun ashitaba 0,1%
Formula II	: <i>Spray gel</i> ekstrak daun ashitaba 0,5%
Formula III	: <i>Spray gel</i> ekstrak daun ashitaba 1%
Kontrol positif	: <i>Spray gel</i> gentamisin
Kontrol negatif	: Basis <i>Spray gel</i>
TAP	: Tidak Ada Perubahan

Hasil pengamatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang dilakukan setiap hari sekali menunjukkan pengurangan jumlah koloni bakteri yang signifikan dari hari pertama hingga luka sembuh. Kontrol negatif dari 5 kelinci yang hanya disemprot basis tanpa zat berkhasiat belum sembuh dihari ke 7, sehingga dilanjutkan pengamatan terhadap kontrol negatif saja hingga sembuh. Waktu penyembuhan infeksi pada punggung kelinci dapat dilihat pada tabel 20.

Tabel 10. Waktu penyembuhan infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada kulit punggung kelinci

Kelinci	Waktu penyembuhan infeksi pada punggung kelinci				
	Formula I (0,1%)	Formula II (0,5%)	Formula III (1%)	Kontrol (+)	Kontrol (-)
1	6	6	5	6	7
2	6	7	5	6	7
3	6	6	5	5	7
4	7	6	5	6	7
5	7	6	6	5	7
Rata-rata	6,4	6,2	5,2	5,6	7



Gambar 125. Diagram hasil uji aktivitas antibakteri *spray gel* ekstrak daun ashitaba

Diagram pada gambar, menunjukkan uji aktivitas antibakteri *spray gel* ekstrak daun ashitaba dengan konsentrasi 0,1%, 0,5% dan 1% dilakukan untuk mengetahui konsentrasi mana yang paling efektif sebagai antibakteri. Ketiga konsentrasi sediaan *spray gel* mampu menyembuhkan infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada kulit punggung kelinci menunjukkan hasil penyembuhan tercepat pada konsentrasi 1% dibandingkan dengan konsentrasi 0,1% dan 0,5%. Konsentrasi 1%, memiliki aktivitas antibakteri yang sama seperti gentamicin. Penyembuhan ditandai dengan hilangnya nanah, keringnya luka infeksi serta sembuh pada punggung kelinci dalam hitungan hari.

Pengamatan kesembuhan infeksi lebih terlihat jelas dengan melakukan pengambilan nanah pada luka punggung kelinci untuk diinokulasi pada media VJA. Perhitungan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menggunakan *plate count*, setelah penyemprotan *spray gel* jumlah koloni dihitung. Luka sembuh bila jumlah koloni bakteri mendekati kontrol normal yaitu selisih antara lokasi a, b, d, e, f dengan kontrol normal <10 koloni bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Hasil perhitungan jumlah koloni bakteri yang telah dikurang dengan flora normal kulit punggung kelinci, dapat dilihat pada tabel 21

Tabel 21. Perhitungan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada media VJA

Hari	Rata-Rata Jumlah Koloni					
	N	Formula I	Formula II	Formula III	Kontrol Positif	Kontrol Negatif
1	28,8	106,2	106,6	108,6	105,4	104
2	26,6	89,2	89,6	85	83,4	94,8
3	28	71,8	71	61,4	61,6	84,4
4	25,6	55	52,4	38	40,2	73,4
5	29,2	38,2	35	19,8	20,8	59
6	27,4	21,2	18,4	8,6	9,2	49,8
7	27,4	8,8	7,4	3,2	4	33,2

Keterangan:

Formula I : *Spray gel* ekstrak daun ashitaba 0,1%

Formula II : *Spray gel* ekstrak daun ashitaba 0,5%

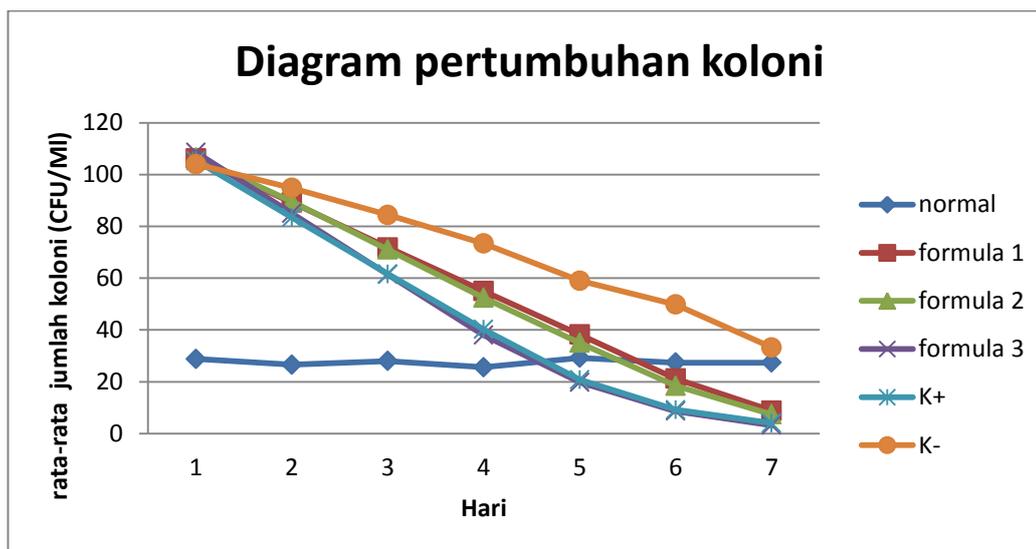
Formula III : *Spray gel* ekstrak daun ashitaba 1%

Kontrol positif : *Spray gel* gentamisin

Kontrol negatif : Basis *Spray gel*

N : Kontrol Normal

Tabel 21 merupakan hasil perhitungan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang telah dikurang dengan flora normal pada kulit punggung kelinci untuk memudahkan pengamatan penurunan koloni, data koloni bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 awal dapat dilihat pada Lampiran 13. Tabel 21, menunjukkan penurunan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 tiap kelinci berbeda, hal ini disebabkan sistem imun tiap kelinci berbeda-beda. Penurunan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 tiap perlakuan pun berbeda-beda, lokasi yang disemprot kontrol positif dan ekstrak daun ashitaba dengan konsentrasi 1% lebih cepat mengalami penurunan jumlah koloni dibandingkan dengan konsentrasi 0,1% dan 0,5%. Dapat dilihat pada gambar diagram penurunan jumlah koloni pada gambar 16.



Gambar 16. Diagram pertumbuhan koloni

Penurunan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 paling lama yaitu lokasi yang disemprot dengan kontrol negatif. Kontrol negatif berupa basis *spray gel* yang tidak ada komponen zat aktifnya sehingga penyembuhannya lebih lama, serta basis *spray gel* hanya dapat memberikan efek melembabkan bagian atas kulit dan sedikit memberikan efek antibakteri dengan bantuan pengawet nipagin dan nipasol. Infeksi pada koloni negatif hanya diobati dengan basis *spray gel* tetapi infeksi juga dapat sembuh, ditandai dengan menurunnya jumlah koloni, hilangnya nanah, mengeringnya luka pada kulit punggung kelinci karena bantuan dari pengawet pada basis *spray gel* serta tubuh yang sehat memiliki kemampuan alami untuk selalu melindungi dan memulihkan dirinya dari pengaruh luar. Data analisis stasistik dapat dilihat pada Lampiran 27.

Staphylococcus aureus ATCC 25923 dapat memfermentasi mannitol pada saat suasana asam, sehingga koloni yang terbentuk yaitu bulat, halus, timbul, dan mengkilat dengan membentuk pigmen berwarna kuning emas (Jawetz *et al* 2012). Media tertentu pada penelitian ini, tidak mengalami perubahan warna pada media VJA kemungkinan ini disebabkan oleh lama waktu inkubasi yang tidak seragam serta pembuatan media VJA tidak dilakukan pengukuran pH terlebih dahulu sebelum media digunakan, dimana media yang terlalu basa menyebabkan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 tidak dapat memfermentasi mannitol sehingga tidak terbentuk pigmen berwarna kuning emas. Bakteri *Staphylococcus*

aureus memiliki estimasi jumlah yang dapat menimbulkan penyakit yaitu dengan nilai $>10^5$ - 10^6 CFU (Snyder 1994)

Hasil dari penurunan jumlah koloni bakteri pada tiap titik dianalisis menggunakan SPSS pada tes Kolmogorov Smirnov terlihat sig 0,119 $>$ 0,05 maka data terdistribusi normal, kemudian dilanjutkan dengan analisis anava dua jalan menyatakan formula 1% dan formula 0,5% sebanding dengan kontrol positif karena berada pada satu subsets. Hasil data dapat dilihat pada lampiran 24.

Spray gel ekstrak daun ashitaba konsentrasi 1% memiliki kandungan zat aktif yang lebih besar dibanding dengan *spray gel* Gentamisin dengan kandungan 0,1%. Hasil pengamatan menunjukkan gejala klinis, lamanya waktu penyembuhan dan penurunan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang paling optimal adalah konsentrasi 1%, karena pada konsentrasi tersebut memiliki kandungan senyawa yang paling besar. Kontrol positif yang dibuat dalam bentuk sediaan *spray gel* Gentamisin memiliki daya aktivitas antibakteri yang tidak berbeda nyata dengan *spray gel* ekstrak daun ashitaba konsentrasi 1%. Gentamisin merupakan antibiotik golongan aminoglikosida yang mekanisme kerjanya mengikat secara ireversibel sub unit ribosom 30s dari kuman, yaitu dengan menghambat sintesis protein dan menyebabkan kesalahan translokasi kode genetik gentamisin bersifat bakterisidal selain gentamisin juga efektif terhadap gram positif dan gram negatif. *Spray gel* ekstrak daun ashitaba konsentrasi 1% dapat digunakan sebagai pengganti gentamisin.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

Pertama, ekstrak daun ashitaba konsentrasi 0,1%, 0,5%, dan 1% dapat dibuat dalam bentuk sediaan *spray gel* dengan mutu yang baik dan stabilitas yang baik pada semua konsentrasi.

Kedua, sediaan *spray gel* ekstrak daun ashitaba memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diinfeksi pada kelinci.

Ketiga, konsentrasi penyembuhan paling optimal dari konsentrasi 0,1%, 0,5%, dan 1% pada sediaan *spray gel* ekstrak daun ashitaba terhadap infeksi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada kelinci adalah konsentrasi 1%.

Saran

Dari penelitian yang telah dilakukan, disarankan pada peneliti selanjutnya agar didapatkan hasil yang lebih maksimal sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan percobaan variasi karbopol atau kombinasi karbopol dan HPMC untuk mendapatkan konsentrasi basis yang lebih optimal dalam membantu aktivitas antibakteri.
2. Perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri *spray gel* ekstrak daun ashitaba menggunakan jenis bakteri patogen yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

- Agoes, A. 2010. *Tanaman Obat Indonesia*. Salemba Medica. Palembang
- Akiyama, H., Fujii., Yamasaki, O., Oono, T ., Iwatsuki, T. 2001. *Antibacterial Action of Several Tannins Against Staphylococcus aureus*, journal of Antimicrobial Chemotherapy.
- Allen LV. 2002. *The Art, Science and Technology of Pharmaceutical compounding*. Washington: *American Pharmaceutical Association*.
- Ansari SA. (2009). *Skin pH and Skin Flora*. In Handbook of Cosmetics Science and Technology. Edisi Ketiga. New York: Informa Healthcare USA. Hal. 222-223.
- Ansel HC. 2006. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi IV. Farida Ibrahim. Penerjemah; Jakarta: Universitas Indonesia Press. Hlm 605-608. Terjemahan dari: *Introduction Forms Pharmaceutical Preparation*
- Ansel.H.C. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi IV. Universitas Indonesia, hlm 410-417
- Ba, H.K., 2009, *Handbook of Stability Testing in Pharmaceutical Development*, Springer Science, USA, p.34.
- Badan POM RI., 2004, *Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia*, Volume 1, Jakarta
- Barasa LS. 2016. Formulasi gel antioksidan ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia Mangostana* L.) dalam berbagai variasi konsentrasi CMC-NA dan gliserin [Skripsi]. Yogyakarta: Fakultas farmasi, universitas Sanata Dharma
- Baumman. 2008. *Angelica*:Part II, *Skin & Allergy News*, www.litelature search.net diakses 1 Juni 2013.
- Bove., F. Ashitaba : *Tomorrow's Leaf Today*. <http://moderenfarmer.com/2013/04/ashitaba-tomorrows-leaf-today/> diakses tanggal 17 November 2017
- Brooks, G.F., Butel, J.S., and Morse, S.A. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick, & Adelberg*. Edisi 22. Jakarta: Salemba Medika.
- Cholifah S, Arsyad, Salni. 2104. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Pare (*Momordica Charantia*, L) Terhadap Struktur Histologi Testis dan Epididimis Tikus Jantan (*Rattus Norvegicus*) Sprague Dawley*. MKS, 46, No 2.
- [Depkes RI]. 1989. *Vademekum Bahan Obat Alam Ditjen-POM*, Depkes.

- [Depkes RI]. 1979. *Materia Medika Indonesia*, Jilid III, Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, hlm XI.
- [Depkes RI]. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*, Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, hlm I.
- [Depkes RI]. 1995. *Materia Medika Indonesia*, Jilid VI, Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, hlm 321-337
- [Depkes RI]. 2007. *Riset Kesehatan Dasar*. Edisi III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Ganiswara, S.G. 1995. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi IV. Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia. Jakarta. Hlm 571-575. Garg, A., Aggarwal, D., Garg, S., and Singla, A., K., 2002, *Spreading of Semisolid Formulation, Pharmaceutical Technology, USA*, pp.84 – 104.
- [Dirjen POM Departemen Kesehatan Republik Indonesia]. 1995. *Farmakope Indonesia* (4th ed.). Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Dirjen POM Departemen Kesehatan Republik Indonesia]. 1999. *Peraturan Perundang-Undangan Dibidang Obat Tradisional*. Departemen Kesehatan RI : Jakarta.
- Djajadisastra Joshita., Abdul Mun'im, Dessy NP. 2009. Formulasi Gel Topikal Dari Ekstrak Nerii Folium Dalam Sediaan Anti Jerawat. *Jurnal Farmasi Indonesia.*, Vol.4 (4) Juli 2009: 210-216.
- Draeos, Z. D., & Lauren, A. T. (2006). *Cosmetic Formulation of Skin Care Products*. New York: Taylor and Francis Group
- Garg, A., Aggarwal, D., Garg, S., and Singla, A., K., 2002, *Spreading of Semisolid Formulation, Pharmaceutical Technology, USA*, pp.84 – 104.
- Garrity GM, Lilburn JR, Cole SH, Harrison, J Euzeby, and BJ Tindall. 2007. *Taxonomic Outline Of the Bacteria and Archaea*, Release 7.7. Michigan: Michigan State University Board of Trustees. P. 364-464.
- Gunawan D, Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*. Jilid 1. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Irfandi HA. 2010. *Perfoma Induk Kelinci Peranakan New Zealand White Dengan Pemberian Pellet Dan Silase Ransum Komplit Berbasis Pakan Lokal*
- Hanifah IR, Suhartinah, Saptarini O. 2014. Pemanfaatan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) dalam bentuk infusa dan sediaan celum terhadap penurunan berat badan. *Jurnal Farmasi Indonesia*. 11(2):101-108

- Holland, Troy., Hassan Chaouk, Bruktawit Aswaf, Stephen Goorich, Andrian Hunter, dan Vimala Francis, 2002. *Spray Hydrogel Wound Dressing. United State Patent Application Publication.*
- Jawetz E, Melnick , J L, EA, 2005. *Medical Microbiology.* 23th. Ed. Elferia Nr. Penerjemah; Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Jawetz E, Melnick , J L, EA, 2012. *Medical Mirobiology.* 26th. Ed. Elferia Nr. Penerjemah; Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. Kamishitta, Takuzo., Takashi Miyazaki, Yoshihide Okuno, 1992. *Spray gel Base and Spray gel Preparation Using Thereof. United State Patent Application Publication.* America.
- Jauregui KM, Gregorio, Juan Carlos Cano Cabrera, Elda Patricia Segura Cenicerros, Jose Luis Martinez Hernandez, dan Anna Iliyina, 2009. A New Formolated Stable Papin-pectin Aerosol Spray Skin Woundhealding. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, Vol.14 : 450-456
- Jawetz *et al.* 2001. *Mikrobiologi Kedokteran* : Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universtas Airlangga. Surabaya: Penebar Swadaya.
- Jawetz *et al.* 2002. *Mikrobiologi kedokteran.* Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Surabaya: salemba Medika. Hlm 205-209.
- Jawetz *et al.* 2005. *Medical Microbiology.* 23th. Ed. Elferia Nr. Penerjemah; Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Jawetz *et al.* 2012. *Medical Mirobiology.* 26th. Ed. Elferia Nr. Penerjemah; Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Kamishitta *et al.* 1992. *Spray Gel Base and Spray Gel Preparation Using Thereof. United State Patent Application Publication.* America
- Lachman et al. 1994. *Teori Dan Praktek Farmasi Industry 2.* Diterjemahkan oleh Suyatmi, S. Edisi II. Jakarta: Universitas Indonesia Press. Robinson T. 1995. *Kandungan organik tumbuhan tinggi.* Bandung. Institut Teknologi Bandung.
- Lebas, F., P. Coudert, R. Rouvier & H. D. Rochambeau. 1986. *The Rabbit Husbandry, Health and Production.* Food and Agriculture Organization of The United Nation. Rome. Italy.
- Martindale: *The Complete Drug Reference*, 34th ed., 2005, Pharmaceutical Press, London, 1157.
- Marzuki, Amirullah, & Fitriana. 2010. *Kimia dalam Keperawatan.* Sulawesi Selatan: Pustaka As Salam.

- Maulidaniar R, Rahima SR., Rita M, Hamidah N. dan Yuda AW. 2011. *Gel Asam Salisilat*. Universitas Lambung Mangkurat Banjar Baru, dipublikasikan.
- Mukhriani. 2014. *Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, Dan Identifikasi Senyawa Aktif*.
- Mustarichie, Resmi dkk, 2011. *Metode Penelitian Tanaman Obat*. Jakarta: WidyaPadjajaran.
- Naibabo OH, Yamlean PVY, Wiyono W. 2013. Pengaruh Basis Salep terhadap Formulasi Sediaan Salep Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum Sanctum L.*) pada kulit punggung kelinci yang dibuat infeksi *Staphylococcus aureus*. Manado: Program Studi Farmasi, FMIPA UNSRAT
- Ogawa, H., Nakamura, R., Baba, K. 2005. *Beneficial effect to laserpitin, a coumarin compound from Angelica keiskei, on lipid metabolism in strokeprone spontaneously hypertensive rats*. Journal of Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology. 32:1104-1109.
- Priani ES, Darusman Fitrianti, Humanisya Haniva, 2014. Formulasi Sediaan Emulgel Antioksidan Mengandung Ekstrak Etanol Kulit Batang Kayu Manis (*Cinnamomum burmani Nees*). Prosiding SnaPP2014 Sains, Teknologi, dan Kesehatan.
- Pelczar M.J., Chan, E.C.S. 2007. *Dasar-dasar mikrobiologi*. Jilid ke-1. Hadioetomo, R. S. , Imas, T., Tjitrosomo, S. S., Angka, S. L., penerjemah. Jakarta: UI Press. Terjemahan dari: *Elements of Microbiology*.
- Puspitasari L. 2014. kandungan Protein dan Sifat Organoleptic Mie Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas*) sebagai Bahan Baku dengan Penambahan Jamur Tiram (*Pleurotus ostratus*). Surakarta: Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Radji, M. 2011. Mikrobiologi. Buku Kedokteran. EGC, Jakarta.
- Rowe, R.C. et Al. (2006). Handbook Of Pharmaceutical Excipients, 5th Ed, The Pharmaceutical Press, London.
- Robinson T. 1995. *Kandungan organik tumbuhan tinggi*. Bandung. Institut Teknologi Bandung.
- Sembiring dan Manoi. 2011. *Identifikasi Mutu Tanaman Ashitaba*. Bul.Littro: Vol 22 Nomor 2. Hlm 177-185.
- Shafira, U., Gadri, A., Lestari, F., 2015. Formulasi Sediaan *Spray gel* Serbuk Getah Tanaman Jarak Cina (*Jatropha multifida Linn.*) dengan Variasi Polimer Pembentuk Film dan Jenis Plasticizer. Jakarta: Unisba

- Snyder, O. P. 1988. Safe Hand Washing (Training Video). Hospitality Institute of Technology and Management. St. Paul, MN.
- Soepomo G.C. 1997. Morfoloi tumbuhan, Yogyakarta : UGM-IKAPI
- Suhartati dan Virgianti. 2015. *Daya Hambat Ekstrak Etanol 70% Daun Ashitaba (Angelica keiskei (Miq.) Koidz) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus yang Diisolasi Dari Luka Diabetes*. Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Vol.14 Nomor 1
- Sudjono, T.A, Mimin Honniasih, Yunita Ratna Pratimasari. 2012. Pengaruh Konsentrasi Gelling Agent Carbomer 934 dan HPMC Pada Formulasi Gel Lender Bekicot (*Achatina fulica*) Terhadap kecepatan Penyembuhan Luka Bakar Pada Punggung Kelinci. *PHARMACON : Jurnal Farmasi Indonesia*. Vol.13 (1).
- Sulaiman, T. N. S. & Kuswahyuning, R., 2008, *Teknologi dan Formulasi Sediaan Semipadat*, 82, Yogyakarta, Pustaka Laboratorium Teknologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
- Sumastuti R, Sonlimar M. 2003. *Efek Sitotoksik Ekstrak Buah dan Daun Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa) Scheff Boerl Terhadap Sel Hela*. Farmakologi FK UGM; Yogyakarta
- Suryono B. 2009. *Bakteriologi Umum dan Bakteriologi Klinik*. Kediri: Akademi Analisis Kesehatan Bhakti Jaya.
- Suyudi S Dwiudrisa. 2014. Formulasi gel semprot menggunakan kombinasi karbopol 940 dan hidroksipropil metilselulosa (HPMC) sebagai pembentuk gel. [Skripsi]. Jakarta: Fakultas kedokteran dan ilmu kesehatan, UIN Syarif Hidayatullah
- Syahrurachman, dkk. 1994. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran Edisi Revisi*. Jakarta: UI Press.
- Syamsuni, 2006, *Farmasetika Dasar Dan Hitungan Farmasi*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta. 29 – 31.
- Smith, J.B., Mangkoewidjojo, S. 1988. Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis. Tikus Laboratorium (*Rattus norvegicus*): 37-57. Penerbit Universitas Indonesia.
- Voigt, R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. UGM Press. Yogyakarta
- Waluyo L. 2004. *Mikrobiologi Umum*. Penerbit Universitas Muhamadiyah Press, Malang

LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat keterangan determinasi daun ashitaba

Lampiran 2. Surat keterangan hewan uji

"ABIMANYU FARM"

√ Mencit putih jantan √ Tikus Wistar √ Swis Webster √ Cacing
 √ Mencit Balb/C √ Kelinci New Zealand

Ngampon RT 04 / RW 04. Mojosongo Kec. Jebres Surakarta. Phone 085 629 994 33 / Lab USB Ska

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Sigit Pramono

Selaku pengelola Abimanyu Farm, menerangkan bahwa hewan uji yang digunakan untuk penelitian, oleh:

Nama : Helmy Azhuri

Nim : 20144072A

Institusi : Universitas Setia Budi Surakarta

Merupakan hewan uji dengan spesifikasi sebagai berikut:

Jenis hewan : Kelinci New Zealand

Umur : 2-3 bulan

Jumlah : 5 ekor

Jenis kelamin : Jantan

Keterangan : Sehat

Asal-usul : Unit Pengembangan Hewan Boyolali

Yang pengembangan dan pengelolaannya disesuaikan standar baku penelitian. Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Surakarta, 2 Mei 2018

Hormat kami



Sigit Pramono

"ABIMANYU FARM"

Lampiran 3. Tanaman Ashitaba & Maserasi



Daun Ashitaba



Daun Ashitaba kering



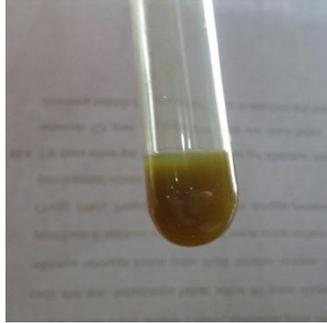
Penimbangan daun kering



Botol maserasi & Penyaringan



Rotary evaporator

Lampiran 4. Gambar identifikasi kandungan tanaman

Uji alkaloid



Uji Bebas etanol



Uji flavonoid



Uji saponin



Uji Tanin

Lampiran 5. Gambar alat uji *spray gel* & sediaan *spray gel*



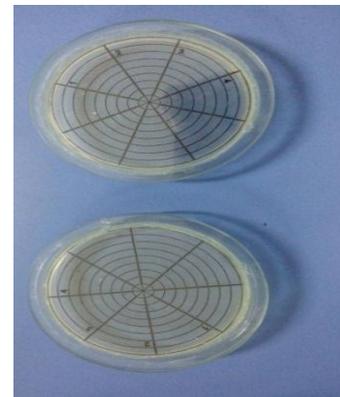
Alat uji pH meter



Uji Daya lekat



Alat uji viskositas



Alat uji daya sebar



Oven

Lampiran 6. Alat dan bahan uji mikrobakteri**Vortex mixer****Mikroskop****Autoclave****Inkubator****Media BHI****Biakan Murni**



Suspense bakteri & Mc.Farland 0,5



Cat pewarnaan gram



Minyak emersi



Media VJA

Lampiran 7. Perhitungan rendemen daun ashitaba kering

Daun ashitaba kering yang diperoleh dari daun ashitaba yang masih basah seberat 3500 gram adalah 720 gram. Rendemen yang didapatkan sebesar :

Persentase rendemen daun ashitaba

$$\begin{aligned}\text{Rumus} &= \frac{\text{bobot kering (gram)}}{\text{bobot basah (gram)}} \times 100\% \\ &= \frac{720 \text{ gram}}{3500 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 20\%\end{aligned}$$

Lampiran 8. Perhitungan rendemen serbuk terhadap daun kering

Serbuk daun ashitaba yang diperoleh dari daun ashitaba kering seberat 720 gram adalah 510 gram. Rendemen yang didapatkan sebesar :

Persentase rendemen serbuk daun ashitaba

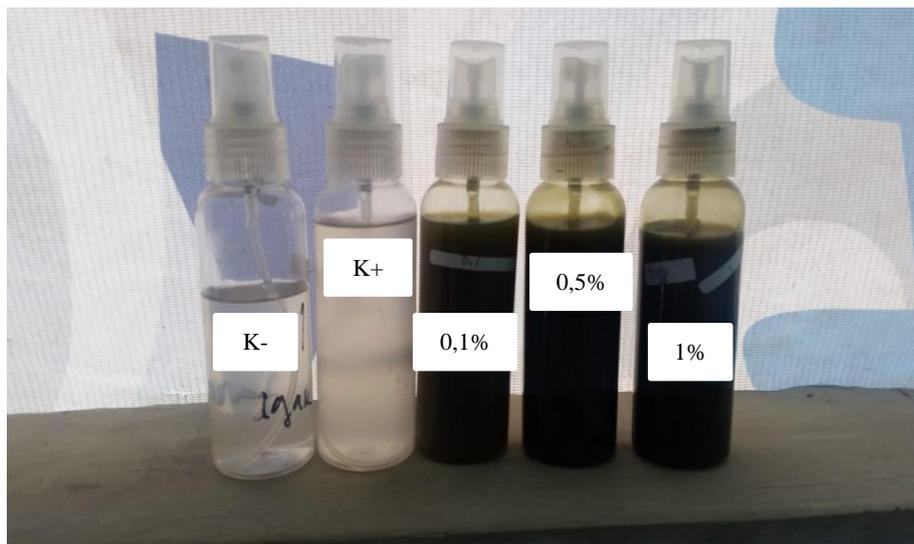
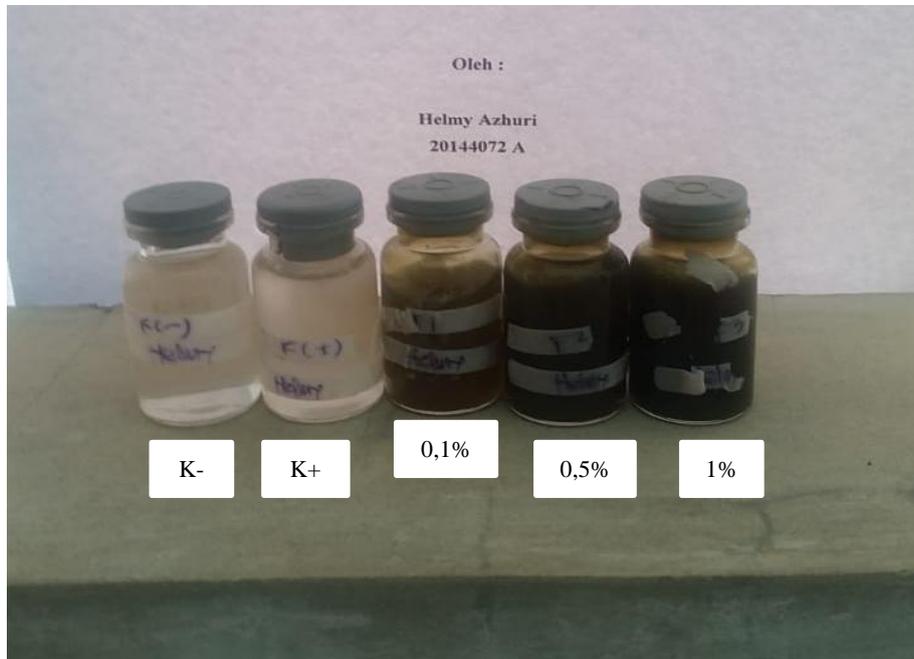
$$\begin{aligned}\text{Rumus} &= \frac{\text{bobot serbuk (gram)}}{\text{bobot kering (gram)}} \times 100\% \\ &= \frac{510 \text{ gram}}{720 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 70,8\%\end{aligned}$$

Lampiran 9. Perhitungan rendemen serbuk terhadap daun kering

Ekstrak etanol daun ashitaba yang diperoleh dari serbuk daun ashitaba kering seberat 500 gram adalah 139,88 gram. Rendemen yang didapatkan sebesar :

Persentase rendemen serbuk daun ashitaba

$$\begin{aligned}\text{Rumus} &= \frac{\text{bobot ekstrak (gram)}}{\text{bobot serbuk (gram)}} \times 100\% \\ &= \frac{139,88 \text{ gram}}{500 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 27,97\%\end{aligned}$$

Lampiran 10. Hasil formulasi uji bakteri ekstrak daun ashitaba

Lampiran 11. Hasil uji pH *spray gel* ekstrak daun ashitaba

formula	Perlakuan	pH			Rata-rata	SD
Formula 1	Hari 0	6,25	6,27	6,28	6,26	0,015
	Hari 1	6,27	6,3	6,28	6,28	0,015
	Hari 10	6,28	6,31	6,27	6,28	0,020
Formula 2	Hari 0	6,13	6,15	6,16	6,14	0,015
	Hari 1	6,17	6,17	6,16	6,16	0,005
	Hari 10	6,21	6,19	6,17	6,19	0,02
Formula 3	Hari 0	5,89	5,92	5,96	5,92	0,035
	Hari 1	5,92	5,98	5,95	5,95	0,03
	Hari 10	5,97	6,02	6,03	6,00	0,032

Lamiran 12. Uji statistik Kolmogorov-Smirnov, analisis two way anova pH *spray gel*

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
pH	27	6,1356	,13804	5,89	6,31

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		pH
N		27
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	6,1356
	Std. Deviation	,13804
Most Extreme Differences	Absolute	,171
	Positive	,129
	Negative	-,171
Kolmogorov-Smirnov Z		,890
Asymp. Sig. (2-tailed)		,407

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Univar Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
Formulasi	1	ekstrak etanolik daun ashitaba 0,1 g/100ml	9
	2	ekstrak etanolik daun ashitaba 0,5 g/100ml	9
	3	ekstrak etanolik daun ashitaba 1 g/100ml	9
Waktu	1	hari ke 0	9
	2	hari ke 1	9
	3	hari ke 10	9

Descriptive Statistics

Dependent Variable:pH

Formulasi	Waktu	Mean	Std. Deviation	N
ekstrak etanolik daun ashitaba 0,1 g/100ml	hari ke 0	6,2667	,01528	3
	hari ke 1	6,2833	,01528	3
	hari ke 10	6,2867	,02082	3
	Total	6,2789	,01764	9
ekstrak etanolik daun ashitaba 0,5 g/100ml	hari ke 0	6,1467	,01528	3
	hari ke 1	6,1667	,00577	3
	hari ke 10	6,1900	,02000	3
	Total	6,1678	,02279	9
ekstrak etanolik daun ashitaba 1 g/100ml	hari ke 0	5,9233	,03512	3
	hari ke 1	5,9500	,03000	3
	hari ke 10	6,0067	,03215	3
	Total	5,9600	,04637	9
Total	hari ke 0	6,1122	,15230	9
	hari ke 1	6,1333	,14748	9
	hari ke 10	6,1611	,12504	9
	Total	6,1356	,13804	27

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable:pH

F	df1	df2	Sig.
1,089	8	18	,414

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Formulasi + Waktu + Formulasi * Waktu

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:pH

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	,486 ^a	8	,061	115,511	,000	,981
Intercept	1016,416	1	1016,416	1932622,225	,000	1,000
Formulasi	,472	2	,236	448,373	,000	,980
Waktu	,011	2	,005	10,289	,001	,533
Formulasi * Waktu	,004	4	,001	1,690	,196	,273
Error	,009	18	,001			
Total	1016,912	27				
Corrected Total	,495	26				

a. R Squared = ,981 (Adjusted R Squared = ,972)

pH

Tukey HSD^{a,b}

Formulasi	N	Subset		
		1	2	3
ekstrak etanolik daun ashitaba 1 g/100ml	9	5,9600		
ekstrak etanolik daun ashitaba 0,5 g/100ml	9		6,1678	
ekstrak etanolik daun ashitaba 0,1 g/100ml	9			6,2789
Sig.		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,001.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9,000.

b. Alpha = ,05.

pH

Tukey HSD^{a,b}

Waktu	N	Subset	
		1	2
hari ke 0	9	6,1122	
hari ke 1	9	6,1333	
hari ke 10	9		6,1611
Sig.		,153	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,001.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9,000.

b. Alpha = ,05.

Lampiran 13. Hasil uji viskositas *spray gel* ekstrak daun ashitaba

formula	Perlakuan	Viskositas			Rata-rata	SD
Formula 1	Hari 0	32	31,5	31	31,5	0,5
	Hari 1	31,5	32	31,5	31,66	0,28
	Hari 21	31,5	32	32,5	32	0,5
Formula 2	Hari 0	24	23,5	24	23,83	0,28
	Hari 1	24,5	24,5	23,5	24,16	0,57
	Hari 21	24,5	24,5	25	24,66	0,28
Formula 3	Hari 0	17,5	17	18,5	17,66	0,76
	Hari 1	19	18,5	18,5	18,66	0,28
	Hari 21	18,5	19	19	18,83	0,28

Lampiran 14. Uji statistik Kolmogorov-Smirnov, analisis two way anova viskositas *spray gel* ekstrak daun ashitaba

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Viskositas	27	24,778	5,5873	17,0	32,5

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Viskositas
N		27
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	24,778
	Std. Deviation	5,5873
Most Extreme Differences	Absolute	,201
	Positive	,183
	Negative	-,201
Kolmogorov-Smirnov Z		1,042
Asymp. Sig. (2-tailed)		,227

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Univar Analysis of Variance
Between-Subjects Factors

		Value Label	N
Formulasi	1	ekstrak etanolik daun ashitaba 0,1 g/100ml	9
	2	ekstrak etanolik daun ashitaba 0,5 g/100ml	9
	3	ekstrak etanolik daun ashitaba 1 g/100ml	9
Waktu	1	hari ke-0	9
	2	hari ke-1	9
	3	hari ke-10	9

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Viskositas

Formulasi	Waktu	Mean	Std. Deviation	N
ekstrak etanolik daun ashitaba 0,1 g/100ml	hari ke-0	31,500	,5000	3
	hari ke-1	31,667	,2887	3
	hari ke-10	32,000	,5000	3
	Total	31,722	,4410	9
ekstrak etanolik daun ashitaba 0,5 g/100ml	hari ke-0	23,833	,2887	3
	hari ke-1	24,167	,5774	3
	hari ke-10	24,667	,2887	3
	Total	24,222	,5069	9
ekstrak etanolik daun ashitaba 1 g/100ml	hari ke-0	17,667	,7638	3
	hari ke-1	18,667	,2887	3
	hari ke-10	18,833	,2887	3
	Total	18,389	,6972	9
Total	hari ke-0	24,333	6,0208	9
	hari ke-1	24,833	5,6624	9
	hari ke-10	25,167	5,7228	9
	Total	24,778	5,5873	27

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable: Viskositas

F	df1	df2	Sig.
1,075	8	18	,422

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Formulasi + Waktu + Formulasi * Waktu

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Viskositas

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	808,000 ^a	8	101,000	495,818	,000	,995
Intercept	16576,333	1	16576,333	81374,727	,000	1,000
Formulasi	804,167	2	402,083	1973,864	,000	,995
Waktu	3,167	2	1,583	7,773	,004	,463
Formulasi * Waktu	,667	4	,167	,818	,530	,154
Error	3,667	18	,204			
Total	17388,000	27				
Corrected Total	811,667	26				

a. R Squared = ,995 (Adjusted R Squared = ,993)

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

ViskositasTukey HSD^{a,b}

Formulasi	N	Subset		
		1	2	3
ekstrak etanolik daun ashitaba 1 g/100ml	9	18,389		
ekstrak etanolik daun ashitaba 0,5 g/100ml	9		24,222	
ekstrak etanolik daun ashitaba 0,1 g/100ml	9			31,722
Sig.		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,204.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9,000.

b. Alpha = ,05.

ViskositasTukey HSD^{a,b}

Waktu	N	Subset	
		1	2
hari ke-0	9	24,333	
hari ke-1	9	24,833	24,833
hari ke-10	9		25,167
Sig.		,074	,285

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,204.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9,000.

b. Alpha = ,05.

Lampiran 15. Hasil uji pH stabilitas *spray gel* ekstrak daun ashitaba

pH stabilitas			
	0,1	0,5	1
hari 0	6,17	6,25	5,98
	6,17	6,28	5,81
	6,15	6,24	6,21
rata2	6,16	6,257	6
sd	0,01	0,026	0,20
hari 10	6,26	6,3	6,21
	6,25	6,33	6
	6,28	6,31	6,15
rata2	6,26	6,31	6,12
sd	0,01	0,01	0,10

Lampiran 16. Uji statistik Kolmogorov-Smirnov, analisis two way anova pH stabilitas *spray gel* ekstrak daun ashitaba

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
pH	18	6,1861	,13417	5,81	6,33

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		pH
N		18
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	6,1861
	Std. Deviation	,13417
Most Extreme Differences	Absolute	,227
	Positive	,142
	Negative	-,227
Kolmogorov-Smirnov Z		,964
Asymp. Sig. (2-tailed)		,310

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
Formulasi	1	ekstrak etanolik daun ashitaba 0,1 g/100ml	6
	2	ekstrak etanolik daun ashitaba 0,5 g/100ml	6
	3	ekstrak etanolik daun ashitaba 1 g/100ml	6
Waktu	1	hari ke 0	9
	2	hari ke 10	9

Descriptive Statistics

Dependent Variable:pH

Formulasi	Waktu	Mean	Std. Deviation	N
ekstrak etanolik daun ashitaba 0,1 g/100ml	hari ke 0	6,1633	,01155	3
	hari ke 10	6,2633	,01528	3
	Total	6,2133	,05610	6
ekstrak etanolik daun ashitaba 0,5 g/100ml	hari ke 0	6,2567	,02082	3
	hari ke 10	6,3133	,01528	3
	Total	6,2850	,03507	6
ekstrak etanolik daun ashitaba 1 g/100ml	hari ke 0	6,0000	,20075	3
	hari ke 10	6,1200	,10817	3
	Total	6,0600	,15849	6
Total	hari ke 0	6,1400	,15124	9
	hari ke 10	6,2322	,10293	9
	Total	6,1861	,13417	18

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable:pH

F	df1	df2	Sig.
4,019	5	12	,022

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Formulasi + Waktu + Formulasi * Waktu

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:pH

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	,200 ^a	5	,040	4,525	,015
Intercept	688,823	1	688,823	77931,003	,000
Formulasi	,159	2	,079	8,969	,004
Waktu	,038	1	,038	4,330	,060
Formulasi * Waktu	,003	2	,002	,178	,839
Error	,106	12	,009		
Total	689,130	18			
Corrected Total	,306	17			

a. R Squared = ,653 (Adjusted R Squared = ,509)

Homogeneous Subsets

pH

Tukey HSD^{a,b}

Formulasi	N	Subset	
		1	2
ekstrak etanolik daun ashitaba 1 g/100ml	6	6,0600	
ekstrak etanolik daun ashitaba 0,1 g/100ml	6		6,2133
ekstrak etanolik daun ashitaba 0,5 g/100ml	6		6,2850
Sig.		1,000	,411

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,009.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6,000.

b. Alpha = ,05.

Lampiran 172. Hasil uji viskositas stabilitas *spray gel* ekstrak daun ashitaba

Viskositas setabilitas			
	f1	f2	f3
hari 0	31,5	24,5	18
	32	24,5	18
	32,5	23,5	18,5
rata2	32	24,16	18,16
sd	0,5	0,57	0,28
hari 10	32	24,5	17,5
	31,5	23,5	17
	31	24	18,5
rata2	31,5	24	17,666
sd	0,5	0,5	0,76

Lampiran 18. Uji statistik Kolmogorov-Smirnov, analisis two way anova viskositas stabilitas *spray gel* ekstrak daun ashitaba

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Viskositas	18	24,5833	5,84418	17,00	32,50

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Viskositas
N		18
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	24,5833
	Std. Deviation	5,84418
Most Extreme Differences	Absolute	,197
	Positive	,184
	Negative	-,197
Kolmogorov-Smirnov Z		,837
Asymp. Sig. (2-tailed)		,486

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
Formulasi	1	ekstrak etanolik daun ashitaba 0,1 g/100ml	6
	2	ekstrak etanolik daun ashitaba 0,5 g/100ml	6
	3	ekstrak etanolik daun ashitaba 1 g/100ml	6
Waktu	1	Hari ke 0	9
	2	Hari ke 10	9

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Viskositas

Formulasi	Waktu	Mean	Std. Deviation	N
ekstrak etanolik daun ashitaba 0,1 g/100ml	Hari ke 0	31,5000	,50000	3
	Hari ke 10	32,0000	,50000	3
	Total	31,7500	,52440	6
ekstrak etanolik daun ashitaba 0,5 g/100ml	Hari ke 0	24,0000	,50000	3
	Hari ke 10	24,1667	,57735	3
	Total	24,0833	,49160	6
ekstrak etanolik daun ashitaba 1 g/100ml	Hari ke 0	17,6667	,76376	3
	Hari ke 10	18,1667	,28868	3
	Total	17,9167	,58452	6
Total	Hari ke 0	24,3889	6,01964	9
	Hari ke 10	24,7778	6,02137	9
	Total	24,5833	5,84418	18

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable: Viskositas

F	df1	df2	Sig.
,569	5	12	,723

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Formulasi + Waktu + Formulasi * Waktu

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Viskositas

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	577,125 ^a	5	115,425	395,743	,000
Intercept	10878,125	1	10878,125	37296,429	,000
Formulasi	576,333	2	288,167	988,000	,000
Waktu	,681	1	,681	2,333	,153
Formulasi * Waktu	,111	2	,056	,190	,829
Error	3,500	12	,292		
Total	11458,750	18			
Corrected Total	580,625	17			

a. R Squared = ,994 (Adjusted R Squared = ,991)

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Viskositas

Tukey HSD^{a,b}

Formulasi	N	Subset		
		1	2	3
ekstrak etanolik daun ashitaba 1 g/100ml	6	17,9167		
ekstrak etanolik daun ashitaba 0,5 g/100ml	6		24,0833	
ekstrak etanolik daun ashitaba 0,1 g/100ml	6			31,7500
Sig.		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,292.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6,000.

b. Alpha = ,05.

Lampiran 19. Data pola penyemprotan *spray gel* ekstrak daun ashitaba

Formulasi	Jarak	Hasil			Rata-rata	sd
Ekstrak 0,1	3	4,2	4,1	4	4,1	0,1
	5	7,1	7,2	7,2	7,16	0,05
	10	10,7	10,8	10,8	10,76	0,05
	15	14,3	14,3	14,2	14,26	0,05
Ekstrak 0,5	3	4,3	4,4	4,5	4,4	0,1
	5	7,3	7,8	8	7,7	0,361
	10	11,9	11,8	11,9	11,86	0,05
	15	15,2	15,1	15	15,1	0,1
Ekstrak 1	3	5,2	5,1	5	5,1	0,1
	5	8,3	8,5	8,5	8,43	0,111
	10	12	12,6	12	12,2	0,34
	15	15,2	15,6	15,5	15,43	0,20

Lampiran 20. Uji statistik kolmogorov-Smirnov, analisis twoway anova diameter semprot *spray gel* ekstrak daun ashitaba

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Diameter	60	9,883	3,9827	4,0	16,1

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Diameter
N		60
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	9,883
	Std. Deviation	3,9827
Most Extreme Differences	Absolute	,120
	Positive	,120
	Negative	-,111
Kolmogorov-Smirnov Z		,928
Asymp. Sig. (2-tailed)		,355

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
Formula	1	NEGATIF	12
	2	ekstrak etanolik daun ashitaba 0,1 g/100ml	12
	3	ekstrak etanolik daun ashitaba 0,5 g/100ml	12
	4	ekstrak etanolik daun ashitaba 1 g/100ml	12
	5	POSITIF	12
Jarak	1	3 cm	15
	2	5 cm	15
	3	10 cm	15
	4	15 cm	15

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Diameter

Formula	Jarak	Mean	Std. Deviation	N
NEGATIF	3 cm	4,533	,0577	3
	5 cm	7,867	,1155	3
	10 cm	11,100	,1000	3
	15 cm	14,433	,0577	3
	Total	9,483	3,8466	12
ekstrak etanolik daun ashitaba 0,1 g/100ml	3 cm	4,100	,1000	3
	5 cm	7,167	,0577	3
	10 cm	10,767	,0577	3
	15 cm	14,267	,0577	3
	Total	9,075	3,9848	12
ekstrak etanolik daun ashitaba 0,5 g/100ml	3 cm	4,400	,1000	3
	5 cm	7,700	,3606	3
	10 cm	11,867	,0577	3
	15 cm	15,100	,1000	3
	Total	9,767	4,2436	12
ekstrak etanolik daun ashitaba 1 g/100ml	3 cm	5,100	,1000	3
	5 cm	8,433	,1155	3
	10 cm	12,200	,3464	3
	15 cm	15,433	,2082	3
	Total	10,292	4,0657	12
POSITIF	3 cm	5,267	,2309	3
	5 cm	9,033	,0577	3
	10 cm	12,867	,3215	3
	15 cm	16,033	,0577	3
	Total	10,800	4,2268	12
Total	3 cm	4,680	,4663	15
	5 cm	8,040	,6801	15
	10 cm	11,760	,8034	15
	15 cm	15,053	,6791	15
	Total	9,883	3,9827	60

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable:Diameter

F	df1	df2	Sig.
4,264	19	40	,000

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Formula + Jarak + Formula * Jarak

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:Diameter

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	934,757 ^a	19	49,198	1778,231	,000	,999
Intercept	5860,817	1	5860,817	211836,747	,000	1,000
Formula	22,008	4	5,502	198,870	,000	,952
Jarak	910,850	3	303,617	10974,096	,000	,999
Formula * Jarak	1,898	12	,158	5,718	,000	,632
Error	1,107	40	,028			
Total	6796,680	60				
Corrected Total	935,863	59				

a. R Squared = ,999 (Adjusted R Squared = ,998)

Post Hoc Tests Homogeneous Subsets

DiameterTukey HSD^{a,b}

Formula	N	Subset				
		1	2	3	4	5
ekstrak etanolik daun ashitaba 0,1 g/100ml NEGATIF	12	9,075				
ekstrak etanolik daun ashitaba 0,5 g/100ml	12		9,483			
ekstrak etanolik daun ashitaba 1 g/100ml POSITIF	12			9,767		
	12				10,292	
	12					10,800
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,028.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12,000.

DiameterTukey HSD^{a,b}

Formula	N	Subset				
		1	2	3	4	5
ekstrak etanolik daun ashitaba 0,1 g/100ml NEGATIF	12	9,075				
	12		9,483			
ekstrak etanolik daun ashitaba 0,5 g/100ml	12			9,767		
ekstrak etanolik daun ashitaba 1 g/100ml POSITIF	12				10,292	
	12					10,800
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,028.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12,000.

b. Alpha = ,05.

Jarak Penyemprotan Homogeneous Subsets

DiameterTukey HSD^{a,b}

Jarak	N	Subset			
		1	2	3	4
3 cm	15	4,680			
5 cm	15		8,040		
10 cm	15			11,760	
15 cm	15				15,053
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,028.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15,000.

b. Alpha = ,05.

Lampiran 21. Data pengukuran daya sebar sediaan *spray gel*

Formula	Beban (g)	Diameter penyebaran (cm± SD)		
		Hari ke-0	Hari ke-1	Hari ke-10
Formula I	63,023	3,2 ± 0,1	3,16 ± 0,05	3,3 ± 0,1
	113,023	3,43 ± 0,15	3,46 ± 0,05	3,5 ± 0,26
	163,023	3,8 ± 0,17	4,00 ± 0,10	4,03 ± 0,11
	213,023	4,26 ± 0,15	4,46 ± 0,15	4,53 ± 0,15
	263,023	4,53 ± 0,15	4,46 ± 0,20	4,67 ± 0,15
Formula II	63,023	3,26 ± 0,57	3,4 ± 0	3,5 ± 0,1
	113,023	3,7 ± 0,1	3,7 ± 0,1	3,86 ± 0,15
	163,023	4 ± 0,1	3,96 ± 0,15	3,93 ± 0,05
	213,023	4,4 ± 0,1	4,76 ± 0,05	4,76 ± 0,15
	263,023	5,00 ± 0,26	4,96 ± 0,37	5,00 ± 0,1
Formula III	63,023	3,53 ± 0,11	3,67 ± 0,25	4,06 ± 0,06
	113,023	4 ± 0,1	3,96 ± 0,20	4,06 ± 0,06
	163,023	4 ± 0,26	4,03 ± 0,11	4,53 ± 0,25
	213,023	4,96 ± 0,05	4,67 ± 0,20	4,97 ± 0,06
	263,023	5,20 ± 0,10	5,27 ± 0,20	5,43 ± 0,21

Lampiran 22. Uji statistik kolmogorov-Smirnov, analisis twoway anova daya sebar *spray gel* ekstrak daun ashitaba

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
--	---	------	----------------	---------	---------

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Dayasebar	135	4,164	,6252	3,1	5,6

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Dayasebar
N		135
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	4,164
	Std. Deviation	,6252
Most Extreme Differences	Absolute	,104
	Positive	,104
	Negative	-,071
Kolmogorov-Smirnov Z		1,203
Asymp. Sig. (2-tailed)		,111

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
Formulasi	1	ekstrak etanolik daun ashitaba 0,1 g/100ml ke-0	15
	2	ekstrak etanolik daun ashitaba 0,1 g/100ml ke-1	15
	3	ekstrak etanolik daun ashitaba 0,1 g/100ml ke-10	15
	4	ekstrak etanolik daun ashitaba 0,5 g/100ml ke-0	15
	5	ekstrak etanolik daun ashitaba 0,5 g/100ml ke-1	15
	6	ekstrak etanolik daun ashitaba 0,5 g/100ml ke-10	15
	7	ekstrak etanolik daun ashitaba 1 g/100ml ke-0	15
	8	ekstrak etanolik daun ashitaba 1 g/100ml ke-1	15

	9	ekstrak etanolik daun ashitaba 1 g/100ml ke- 10	15
Beban	1	63,023	27
	2	113,023	27
	3	163,023	27
	4	213,023	27
	5	263,023	27

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Dayasebar

Formulasi	Beban	Mean	Std. Deviation	N
ekstrak etanolik daun ashitaba 0,1 g/100ml ke-0	63,023	3,200	,1000	3
	113,023	3,433	,1528	3
	163,023	3,800	,1732	3
	213,023	4,267	,1528	3
	263,023	4,533	,1528	3
	Total	3,847	,5303	15
ekstrak etanolik daun ashitaba 0,1 g/100ml ke-1	63,023	3,167	,0577	3
	113,023	3,467	,0577	3
	163,023	4,000	,1000	3
	213,023	4,467	,1528	3
	263,023	4,467	,2082	3
	Total	3,913	,5540	15
ekstrak etanolik daun ashitaba 0,1 g/100ml ke-10	63,023	3,300	,1000	3
	113,023	3,500	,2646	3
	163,023	4,033	,1155	3
	213,023	4,533	,1528	3
	263,023	4,667	,1528	3
	Total	4,007	,5788	15
ekstrak etanolik daun ashitaba 0,5 g/100ml ke-0	63,023	3,267	,0577	3
	113,023	3,700	,1000	3
	163,023	4,000	,1000	3
	213,023	4,400	,1000	3
	263,023	5,000	,2646	3

	Total	4,073	,6262	15
ekstrak etanolik daun	63,023	3,400	,0000	3
ashitaba 0,5 g/100ml ke-1	113,023	3,700	,1000	3
	163,023	3,967	,1528	3
	213,023	4,767	,0577	3
	263,023	4,967	,3786	3
	Total	4,160	,6490	15
ekstrak etanolik daun	63,023	3,500	,1000	3
ashitaba 0,5 g/100ml ke-10	113,023	3,867	,1528	3
	163,023	3,933	,0577	3
	213,023	4,767	,1528	3
	263,023	5,000	,1000	3
	Total	4,213	,5998	15
ekstrak etanolik daun	63,023	3,533	,1155	3
ashitaba 1 g/100ml ke-0	113,023	4,000	,1000	3
	163,023	4,000	,2646	3
	213,023	4,967	,0577	3
	263,023	5,200	,1000	3
	Total	4,340	,6685	15
ekstrak etanolik daun	63,023	3,667	,2517	3
ashitaba 1 g/100ml ke-1	113,023	3,967	,2082	3
	163,023	3,967	,2082	3
	213,023	4,667	,2082	3
	263,023	5,267	,2082	3
	Total	4,307	,6296	15
ekstrak etanolik daun	63,023	4,067	,0577	3
ashitaba 1 g/100ml ke-10	113,023	4,067	,0577	3
	163,023	4,533	,2517	3
	213,023	4,967	,0577	3
	263,023	5,433	,2082	3
	Total	4,613	,5630	15
Total	63,023	3,456	,2873	27
	113,023	3,744	,2636	27
	163,023	4,026	,2411	27
	213,023	4,644	,2607	27
	263,023	4,948	,3662	27
	Total	4,164	,6252	135

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable:Dayasebar

F	df1	df2	Sig.
2,150	44	90	,001

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Formulasi + Beban + Formulasi * Beban

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:Dayasebar

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	50,079 ^a	44	1,138	44,666	,000	,956
Intercept	2340,418	1	2340,418	91847,794	,000	,999
Formulasi	6,783	8	,848	33,273	,000	,747
Beban	41,653	4	10,413	408,658	,000	,948
Formulasi *	1,643	32	,051	2,015	,005	,417
Beban						
Error	2,293	90	,025			
Total	2392,790	135				
Corrected Total	52,372	134				

a. R Squared = ,956 (Adjusted R Squared = ,935)

Homogeneous Subsets

Dayasebar

Tukey HSD^{a,b}

Formulasi	N	Subset					
		1	2	3	4	5	6
ekstrak etanolik daun ashitaba 0,1 g/100ml ke-0	15	3,847					
ekstrak etanolik daun ashitaba 0,1 g/100ml ke-1	15	3,913	3,913				
ekstrak etanolik daun ashitaba 0,1 g/100ml ke-10	15	4,007	4,007	4,007			
ekstrak etanolik daun ashitaba 0,5 g/100ml ke-0	15		4,073	4,073	4,073		
ekstrak etanolik daun ashitaba 0,5 g/100ml ke-1	15			4,160	4,160	4,160	
ekstrak etanolik daun ashitaba 0,5 g/100ml ke-10	15				4,213	4,213	
ekstrak etanolik daun ashitaba 1 g/100ml ke-1	15					4,307	
ekstrak etanolik daun ashitaba 1 g/100ml ke-0	15					4,340	
ekstrak etanolik daun ashitaba 1 g/100ml ke-10	15						4,613

Sig.		,147	,147	,189	,296	,064	1,000
------	--	------	------	------	------	------	-------

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,025.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15,000.

b. Alpha = ,05.

Lampiran 23. Data koloni bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada punggung kelinci

Kelinci	Hari	Jumlah Koloni					
		N	(-)	Konsentrasi 0,1%	Konsentrasi 0,5%	Konsentrasi 1%	(+)
1	1	32	96	108	110	96	107
	2	36	88	91	96	72	86
	3	31	78	74	78	47	64
	4	22	67	57	61	22	42
	5	32	54	39	45	14	23
	6	34	43	21	27	4	14
	7	32	30	8	11	2	6
2	1	34	102	117	85	110	98
	2	17	92	98	68	89	76
	3	31	81	79	52	67	53
	4	21	69	58	35	47	32
	5	27	58	39	17	26	15
	6	26	46	20	8	12	6
	7	23	30	7	6	4	3
3	1	27	90	110	98	104	98
	2	25	81	93	79	79	76
	3	28	70	74	60	55	53
	4	30	62	57	41	31	32
	5	31	49	39	23	14	15
	6	23	40	23	9	8	6
	7	28	28	9	4	2	3
4	1	23	118	108	110	112	105
	2	25	108	91	96	87	84
	3	29	97	74	78	63	62

	4	24	85	57	61	39	41
	5	23	72	39	45	18	20
	6	25	59	21	27	12	11
	7	26	43	8	11	4	3
5	1	28	114	103	98	121	119
	2	30	105	86	79	98	95
	3	21	96	69	60	75	76
	4	31	84	52	41	51	54
	5	33	62	39	23	27	31
	6	29	61	24	9	7	9
	7	28	32	11	4	4	5

Lampiran 24. Uji statistik kolmogorov-Smirnov, analisis twoway anova jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Hasil	175	54,25	35,132	2	121

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Hasil
N		175
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	54,25
	Std. Deviation	35,132
Most Extreme Differences	Absolute	,087
	Positive	,087
	Negative	-,068
Kolmogorov-Smirnov Z		1,157
Asymp. Sig. (2-tailed)		,138

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

	Value Label	N
Formula	1	35
	NEGATIF	

	2	ekstrak etanolik daun ashitaba 0,1 g/100ml	35
	3	ekstrak etanolik daun ashitaba 0,5 g/100ml	35
	4	ekstrak etanolik daun ashitaba 1 g/100ml	35
	5	POSITIF	35
Waktu	1	H1	25
	2	H2	25
	3	H3	25
	4	H4	25
	5	H5	25
	6	H6	25
	7	H7	25

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Hasil

Formula	Waktu	Mean	Std. Deviation	N
NEGATIF	H1	104,00	11,832	5
	H2	94,80	11,432	5
	H3	84,40	11,760	5
	H4	73,40	10,455	5
	H5	59,00	8,718	5
	H6	49,80	9,576	5
	H7	32,60	5,983	5
	Total		71,14	25,685
ekstrak etanolik daun ashitaba 0,1 g/100ml	H1	109,20	5,070	5
	H2	91,80	4,324	5
	H3	74,00	3,536	5
	H4	56,20	2,387	5
	H5	39,00	,000	5
	H6	21,80	1,643	5
	H7	8,60	1,517	5
	Total		57,23	34,694
ekstrak etanolik daun ashitaba 0,5 g/100ml	H1	100,20	10,402	5
	H2	83,60	12,178	5
	H3	65,60	11,781	5
	H4	47,80	12,296	5
	H5	30,60	13,372	5
	H6	16,00	10,050	5
	H7	7,20	3,564	5
	Total		50,14	34,155
ekstrak etanolik daun ashitaba 1 g/100ml	H1	108,60	9,317	5
	H2	85,00	9,925	5
	H3	61,40	10,807	5
	H4	38,00	11,790	5

	H5	19,80	6,340	5
	H6	8,60	3,435	5
	H7	3,20	1,095	5
	Total	46,37	38,449	35
POSITIF	H1	105,40	8,620	5
	H2	83,40	7,925	5
	H3	61,60	9,503	5
	H4	40,20	9,066	5
	H5	20,80	6,648	5
	H6	9,20	3,421	5
	H7	4,00	1,414	5
	Total	46,37	36,883	35
Total	H1	105,48	9,147	25
	H2	87,72	9,969	25
	H3	69,40	12,770	25
	H4	51,12	15,907	25
	H5	33,84	16,512	25
	H6	21,08	16,603	25
	H7	11,12	11,545	25
	Total	54,25	35,132	175

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable: Hasil

F	df1	df2	Sig.
3,870	34	140	,000

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Formula + Waktu + Formula * Waktu

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Hasil

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	204804,137 ^a	34	6023,651	84,663	,000	,954
Intercept	515063,063	1	515063,063	7239,261	,000	,981
Formula	15233,851	4	3808,463	53,528	,000	,605
Waktu	184027,177	6	30671,196	431,087	,000	,949
Formula * Waktu	5543,109	24	230,963	3,246	,000	,358
Error	9960,800	140	71,149			
Total	729828,000	175				
Corrected Total	214764,937	174				

a. R Squared = ,954 (Adjusted R Squared = ,942)

Estimated Marginal Means

1. Formula

Dependent Variable: Hasil

Formula	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
NEGATIF	71,143	1,426	68,324	73,962
ekstrak etanolik daun ashitaba 0,1 g/100ml	57,229	1,426	54,410	60,047
ekstrak etanolik daun ashitaba 0,5 g/100ml	50,143	1,426	47,324	52,962
ekstrak etanolik daun ashitaba 1 g/100ml	46,371	1,426	43,553	49,190
POSITIF	46,371	1,426	43,553	49,190

2. Waktu

Dependent Variable: Hasil

Waktu	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
H1	105,480	1,687	102,145	108,815
H2	87,720	1,687	84,385	91,055
H3	69,400	1,687	66,065	72,735
H4	51,120	1,687	47,785	54,455
H5	33,840	1,687	30,505	37,175
H6	21,080	1,687	17,745	24,415
H7	11,120	1,687	7,785	14,455

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

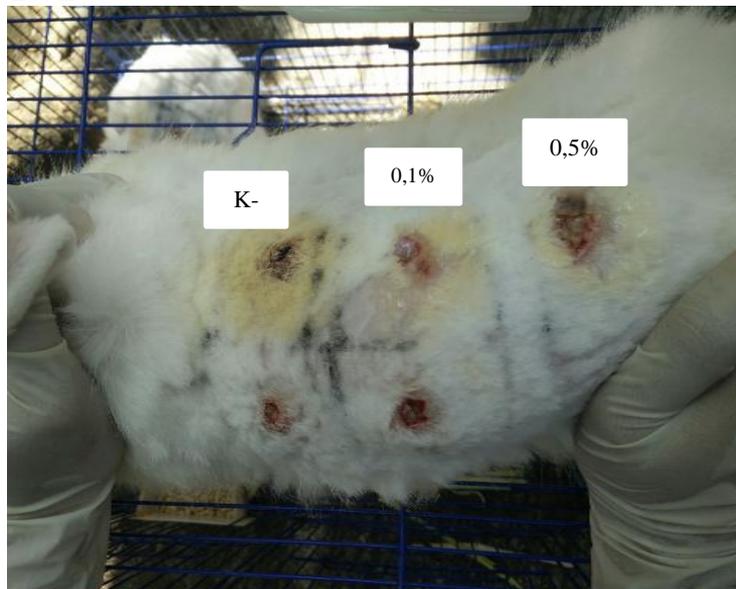
Hasil

Tukey HSD^{a,b}

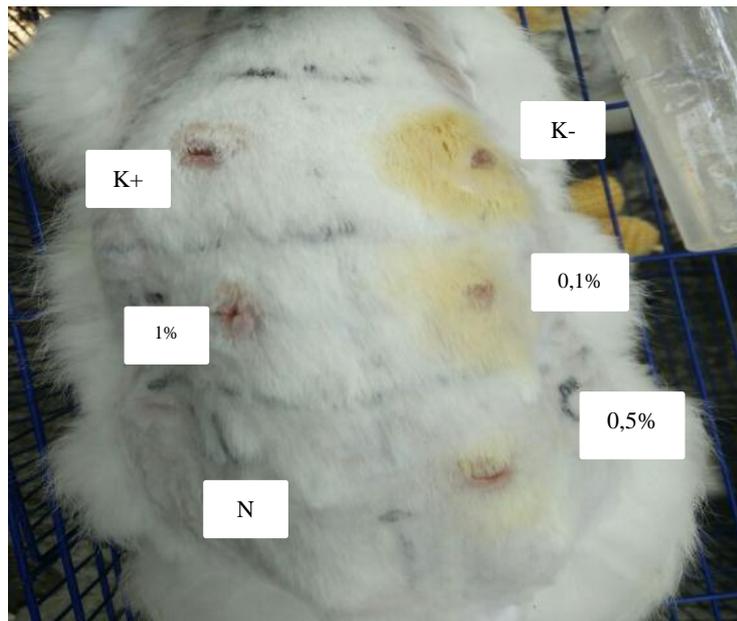
Formula	N	Subset		
		1	2	3
ekstrak etanolik daun ashitaba 1 g/100ml	35	46,37		
POSITIF	35	46,37		
ekstrak etanolik daun ashitaba 0,5 g/100ml	35	50,14		
ekstrak etanolik daun ashitaba 0,1 g/100ml	35		57,23	
NEGATIF	35			71,14
Sig.		,338	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on observed means.
The error term is Mean Square(Error) = 71,149.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 35,000.
b. Alpha = ,05.

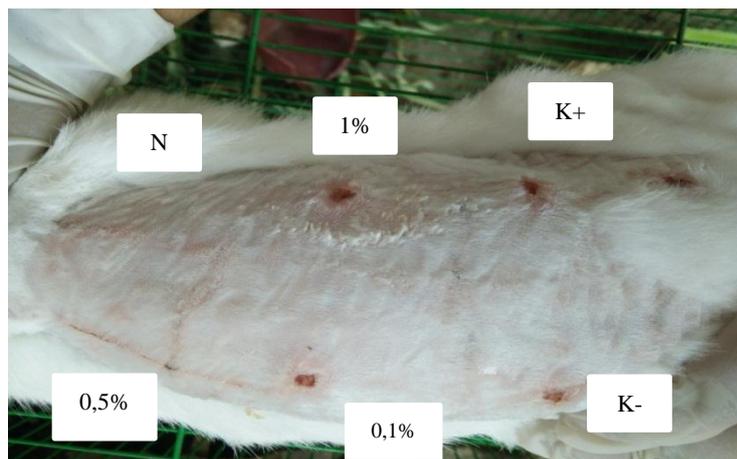
Lampiran 25. Hasil Punggung kelinci yang diinfeksi *Staphylococcus aureus* ATCC 2592



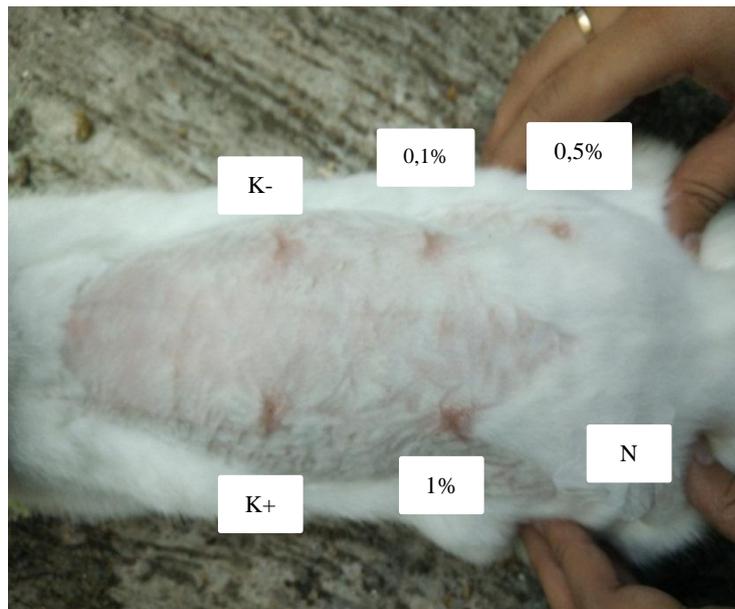
Hari ke 1 setelah penyuntikan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 2592



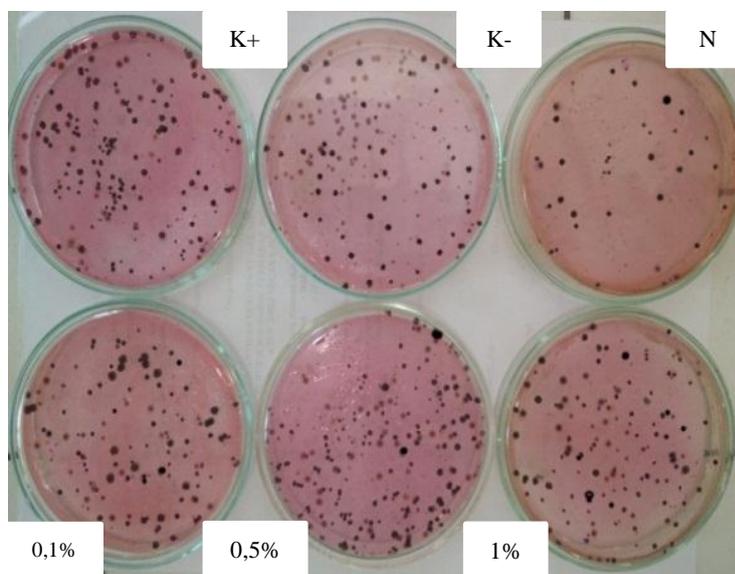
Hari ke 3 setelah penyuntikan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 2592



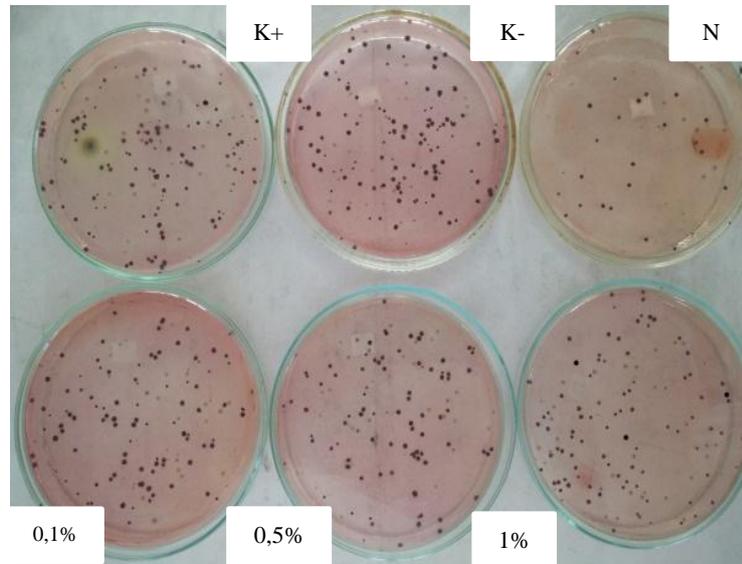
Hari ke 5 setelah penyuntikan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 2592



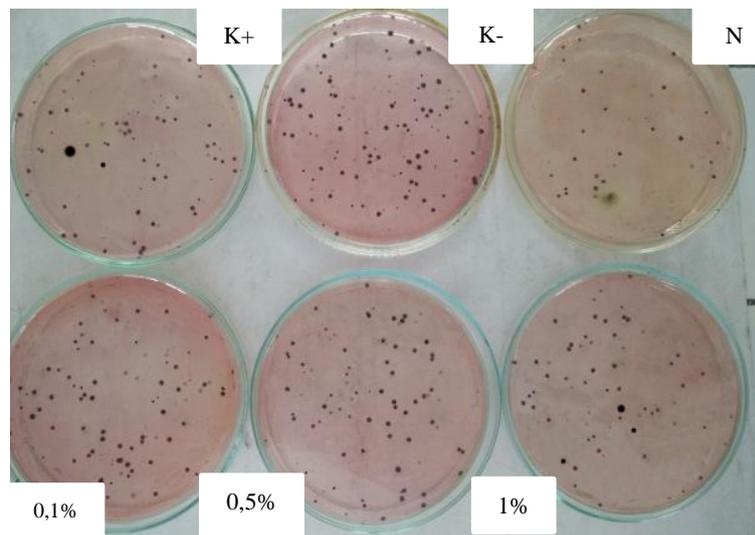
Hari ke 7 setelah penyuntikan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 2592



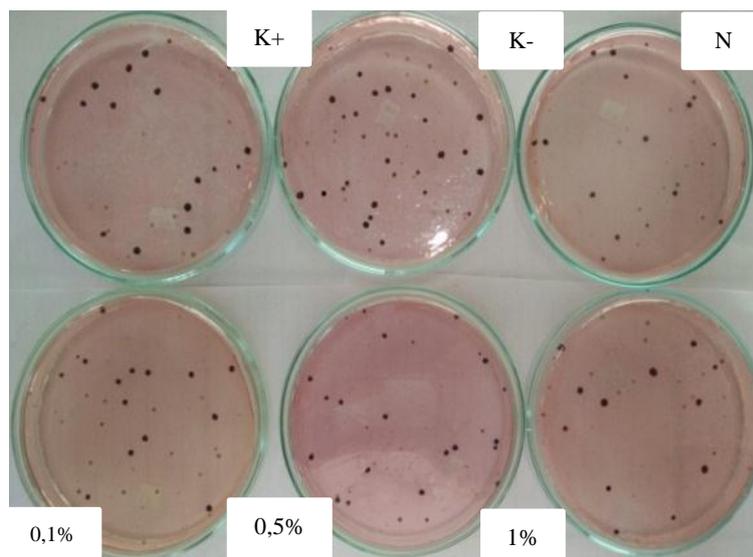
Koloni punggung kelinci hari ke 1



Koloni punggung kelinci hari ke 3



Koloni punggung kelinci hari ke 5



Koloni punggung kelinci hari ke 7

Lampiran 26. Komposisi media

a) Formulasi dan pembuatan *Vogel Jhonson Agar (VJA)*

Peptone from casein	10,0 gram
Yeast extract	5,0 gram
di-potasium hydrogen phosphate	10,0 gram
D(-)-mannitol	10,0 gram
Lithium chloride	5,0 gram
Glycine	10,0 gram
Phenol red	0,025 gram
Agar	13,0 gram

Reagen-reagen diatas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan dalam cawan petri pH 7,4.

b) Formulasi dan pembuatan *Brain Heart Infusion* (BHI)

Brain infusion	12,5 gram
Heart infusion	5,0 gram
Proteose peptone	10,0 gram
Glucose	2,0 gram
Sodium choride	5,0 gram
di-sodium hydrogen phosphate	2,5 gram

Reagen-reagen diatas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit