

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KRIM KOMBINASI EKSTRAK  
ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.) DAN EKSTRAK  
ETANOL DAUN SIRIH (*Piper betle* L.) TERHADAP BAKTERI  
*Staphylococcus epidermidis* SECARA *In Vivo***



**Oleh :**

**Mulya Dewi  
19133796A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2017**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KRIM KOMBINASI EKSTRAK  
ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.) DAN EKSTRAK  
ETANOL DAUN SIRIH (*Piper betle* L.) TERHADAP BAKTERI  
*Staphylococcus epidermidis* SECARA *In Vivo***



**SKRIPSI**  
Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat untuk mencapai derajat *Sarjana*  
*Farmasi (S.F)*  
Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi  
Universitas Setia Budi

**Oleh :**

**Mulya Dewi  
19133796A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA**

**2017**

**PENGESAHAN SKRIPSI**

**Berjudul:**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KRIM KOMBINASI EKSTRAK  
ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.) DAN EKSTRAK  
ETANOL DAUN SIRIH (*Piper betle* L.) TERHADAP BAKTERI  
*Staphylococcus epidermidis* SECARA *in vivo***

Oleh :

**Mulya Dewi**  
**19133796A**

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji  
Skripsi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta  
Pada tanggal : 17 Juli 2017

Mengetahui,  
Fakultas Farmasi  
Universitas Setia Budi



Prof. Dr. R. Agus Fachri, SU., MM., M.Sc., Apt.

Pembimbing,

Dwi Ningsih, S.Si., M.Farm., Apt.

Pembimbing pendamping,

Fransiska Leviana, S.Farm., M.Si., Apt.

Penguji :

1. Siti Aisyah, S.Farm., M.Sc., Apt.
2. Kartinah Wiryosoedjoyo, SU.
3. Vivin Nopiyanti, M.Sc., Apt.
4. Dwi Ningsih, S.Si., M.Farm., Apt.

## MOTTO

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

*“Dengan menyebut nama Allah yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang”*

*“Kamulyaning wip dumunung ana ing tentreming ati”*

*“It is not in the stars to hold our destiny but in ourselves (William Shakespeare)”*

*“Let us be grateful to people who make us happy, they are the charming gardeners who make our souls blossom (Marcel Proust)”*

*Skripsi ini saya persembahkan untuk :*

- ♥ ALLAH SWT atas segala karuniaNya kepadaku selama hidupku ini
- ♥ Ayahanda BAMBANG PURNOMO dan Ibunda GUNARSI , kedua orangtua yang sangat aku cintai sebagai ungkapan hormat dan baktiku atas segala kesabaran, pengertian, perhatian, cinta dan kasih serta do'a yang tiada putus-putusnya
- ♥ Kakakku tercinta AJENG PRATIWI atas semangat dan cinta kasih persaudaraan yang begitu kuat. Semoga kita sukses dan bisa membahagiakan kedua orangtua kita ya.
- ♥ KELUARGA BESARKU terima kasih atas do'a, dukungan, nasehat dan bantuannya selama ini.
- ♥ Sahabat-sahabat terbaikku Novi K. S., Lilik Kartini, Rizka Despianty, Rahayu Setyowati, Dini Amali Bungki N., sahabat-sahabatku satu kelompok praktikum dari smester 1-7 (Fatimah K., Talita Y. A., Aisyah Rofie F.), dan sahabat-sahabatku lainnya atas kebersamaan dan persahabatan kita yang indah ini, dan semoga kita bisa terus menjalin persahabatan ini.
- ♥ Sahabat seperjuangan skripsi Indah Anaresti dan Deyvin Natalita Ch. Muai atas kebersamaan, saling mendukung, motivasi, lelah dan kerja samanya dalam mengerjakan skripsi ini.
- ♥ Teman-teman TK Siwi Peni 1, SD Negeri 1 Wonogiri, SMP Negeri 1 Wonogiri, SMA Negeri 1 Wonogiri dan seluruh guru-guru ku yang telah membagi ilmunya untukku.
- ♥ Teman-teman di Teori 2 dan FKK 2 angkatan 2013 terima kasih atas kebersamaannya
- ♥ Dosen-dosenku yang selalu membagi ilmu dan memberiku kesempatan untuk belajar lebih baik
- ♥ Almamaterku, UNIVERSITAS SETIA BUDI SURAKARTA.

## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil kerja 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 disebut dalam daftar pustaka.

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

Surakarta, 17 Juli 2017



Mulya Dewi

## KATA PENGANTAR

Assalamualaikum wr.wb.

Alhamdulillah, puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala rahmat, hidayah, petunjuk, dan karuniaNya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **”UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.) DAN EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH (*Piper betle* L.) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus epidermidis* SECARA *In Vivo*”**. Penyusunan skripsi ini bertujuan untuk memenuhi syarat memperoleh gelar kesarjanaan pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan dan dukungan dari berbagai pihak, maka dengan ini penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada :

1. Allah SWT diatas segalanya dan junjunganku Nabi Muhammad SAW.
2. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA selaku Rektor Universitas Setia Budi.
3. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.
4. Dwi Ningsih, S.Si., M.Farm., Apt. selaku pembimbing utama yang telah memberikan waktu, bimbingan, saran, keikhlasannya dalam memberikan ilmu demi terselesainya skripsi ini.
5. Fransiska Leviana, S.Farm., M.Si., Apt. selaku pembimbing pendamping yang telah banyak membantu penulis dalam memberikan ilmu dan bimbingan dalam menyelesaikan skripsi ini.
6. Siti Aisyah, S.Farm., M.Sc., Apt., Kartinah Wiryosoedjoyo, SU., Vivin Nopiyanti, M.Sc., Apt. selaku dosen penguji yang telah banyak memberikan arahan, saran, dan ilmu yang sangat bermanfaat.
7. Bapak Sigit, yang banyak membantu dalam penelitian ini.
8. Segenap dosen, karyawan dan staf laboratorium Fakultas Farmasi Unversitas Setia Budi yang telah banyak membantu demi kelancaran skripsi ini.
9. Perpustakaan Universitas Setia Budi.

10. Orang tua ku tercinta Bapak Bambang Purnomo, S.E. dan Ibu Gunarsi, S.Pd., M.Pd, Kakakku tersayang Ajeng Pratiwi, serta seluruh keluarga besarku.
11. Sahabatku tersayang Indah Anaresti, Novi K. S., Lilik Kartini, Rizka Despianty, Rahayu Setyowati, Dini Amali Bungki N., sahabat satu kelompok praktikum dari smester 1-7 (Fatimah K., Talita Y. A., Aisyah Rofie F.), Sejawat Farmasi, KKN RW 7 Nusukan, sahabat alumni SMA Negeri 1 Wonogiri, Anggota Kost Deesy, Teori 2 angkatan 2013, FKK 2 angkatan 2013 dan seluruh sahabat dan teman-teman yang kusayangi.
12. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam menyusun skripsi ini, untuk itu kritik dan saran dari pembaca yang bersifat membangun sangat penulis harapkan. Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi siapa saja yang mempelajarinya.

Surakarta, 17 Juli 2017

**Penulis**

## DAFTAR ISI

HALAMAN SAMBUNG .....	i
HALAMAN JUDUL.....	ii
PENGESAHAN SKRIPSI .....	iii
MOTTO .....	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	v
PERNYATAAN.....	vi
KATA PENGANTAR .....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR .....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
DAFTAR ISTILAH .....	xv
INTISARI.....	xvi
ABSTRACT.....	xvii
BAB I.....	1
PENDAHULUAN .....	1
A. Latar Belakang .....	1
B. Rumusan Masalah .....	5
C. Tujuan Penelitian .....	5
D. Kegunaan Penelitian.....	6
BAB II.....	7
TINJAUAN PUSTAKA .....	7
A. Daun Sirsak .....	7
1. Sistematika tanaman.....	7
2. Morfologi.....	7
3. Kandungan kimia .....	7
4. Khasiat dan kegunaan.....	8
B. Daun Sirih .....	8
1. Sistematika tanaman.....	8
2. Morfologi.....	8
3. Kandungan kimia .....	9
4. Khasiat.....	9
C. Simplisia.....	9
1. Pengertian simplisia .....	9
2. Penggolongan simplisia.....	9
3. Pengeringan simplisia.....	10
D. Ekstraksi.....	10
1. Pengertian ekstraksi.....	10
2. Metode ekstraksi.....	10
3. Penggolongan ekstrak berdasarkan konsistensinya.....	11
4. Metode ekstraksi maserasi.....	12
E. Pelarut .....	13
F. Bakteri <i>Staphylococcus epidermidis</i> .....	14
1. Sistematika bakteri .....	14

2. Morfologi.....	14
3. Patogenesis .....	14
4. Identifikasi <i>Staphylococcus epidermidis</i> .....	14
G. Antibakteri.....	16
H. Jerawat.....	17
1. Penyebab jerawat.....	17
2. Gejala jerawat.....	17
3. Jenis-jenis jerawat .....	17
I. Sediaan Krim.....	20
1. Penggolongan krim.....	20
2. Metode pembuatan krim.....	20
3. Stabilitas sediaan krim.....	21
4. Evaluasi sediaan krim.....	21
J. Hewan Uji .....	22
1. Sistematika hewan uji.....	23
2. Data biologi hewan uji .....	23
3. Cara penanganan hewan uji kelinci .....	23
K. Landasan Teori.....	24
L. Hipotesis.....	27
BAB III .....	28
METODE PENELITIAN.....	28
A. Populasi dan Sampel .....	28
1. Populasi .....	28
2. Sampel .....	28
B. Variabel Penelitian .....	28
1. Identifikasi variabel utama .....	28
2. Klasifikasi variabel utama .....	28
3. Definisi operasional variabel utama .....	29
C. Alat dan Bahan.....	31
1. Alat .....	31
2. Bahan.....	31
D. Jalannya Penelitian.....	32
1. Determinasi dan identifikasi tanaman .....	32
2. Pengambilan dan pengeringan bahan .....	32
3. Pembuatan serbuk.....	32
4. Identifikasi serbuk .....	32
5. Pembuatan ekstrak.....	33
6. Identifikasi kandungan senyawa kimia .....	34
7. Uji bebas etanol .....	34
8. Pembuatan krim.....	35
9. Pengujian sediaan krim .....	35
4. Proses peremajaan bakteri uji ( <i>Staphylococcus epidermidis</i> ) .....	37
5. Identifikasi bakteri uji .....	37
6. Penyiapan hewan uji.....	37
7. Pengujian efek antibakteri .....	38
8. Pengamatan pengujian efek antibakteri.....	39

9. Perhitungan jumlah bakteri dari jerawat yang terbentuk.....	39
BAB IV .....	41
HASIL DAN PEMBAHASAN.....	41
A. Hasil Determinasi Tanaman.....	41
B. Hasil Pembuatan Ekstrak Daun Sirsak ( <i>Annona muricata</i> L.) dan Ekstrak Daun Sirih ( <i>Piper betle</i> L.).....	42
1. Pengumpulan bahan .....	42
2. Pembuatan dan identifikasi serbuk daun sirsak ( <i>Annona muricata</i> L.) dan daun sirih ( <i>Piper betle</i> L.).....	42
3. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun sirsak ( <i>Annona muricata</i> L.) dan daun sirih ( <i>Piper betle</i> L.) .....	43
4. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun sirsak ( <i>Annona muricata</i> L.) dan daun sirih ( <i>Piper betle</i> L.).....	44
5. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak etanol daun sirsak ( <i>Annona muricata</i> L.) dan daun sirih ( <i>Piper betle</i> L.).....	44
6. Hasil uji bebas etanol pada ekstrak daun sirsak ( <i>Annona muricata</i> L.) dan daun sirih ( <i>Piper betle</i> L.).....	45
C. Hasil Pembuatan Krim Kombinasi Ekstrak Etanol Daun ( <i>Annona muricata</i> L.) sirsak dan Daun sirih ( <i>Piper betle</i> L.).....	46
1. Pembuatan krim.....	46
2. Hasil pengujian organoleptis krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak ( <i>Annona muricata</i> L.) dan daun sirih ( <i>Piper betle</i> L.).....	46
3. Hasil pengujian homogenitas sediaan krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak ( <i>Annona muricata</i> L.) dan daun sirih ( <i>Piper betle</i> L.).....	47
4. Hasil pengujian pH krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak ( <i>Annona muricata</i> L.) dan daun sirih ( <i>Piper betle</i> L.).....	48
5. Hasil pengujian viskositas sediaan krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak ( <i>Annona muricata</i> L.) dan daun sirih ( <i>Piper betle</i> L.).....	49
6. Hasil pengujian daya sebar krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak ( <i>Annona muricata</i> L.) dan ekstrak etanol daun sirih ( <i>Piper betle</i> L.).....	50
7. Hasil pengujian daya lekat krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan ekstrak etanol daun sirih .....	52
D. Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri .....	53
1. Hasil identifikasi bakteri <i>Staphylococcus epidermidis</i> .....	53
2. Hasil pengujian aktivitas antibakteri secara <i>in vivo</i> .....	54
3. Hasil perhitungan jumlah bakteri dari jerawat yang terbentuk .....	55
BAB V.....	58
KESIMPULAN DAN SARAN.....	58
A. Kesimpulan .....	58
B. Saran.....	58
DAFTAR PUSTAKA .....	59
LAMPIRAN.....	64

## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Jerawat berdasarkan lesinya.....	19
Tabel 2. Formulasi krim.....	35
Tabel 3. Rendemen bobot kering terhadap bobot basah daun sirsak dan daun sirih .....	43
Tabel 4. Hasil identifikasi organoleptis serbuk daun sirsak dan daun sirih.....	43
Tabel 5. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun sirsak.....	43
Tabel 6. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun sirih.....	43
Tabel 7. Hasil rendemen ekstrak etanol 70% daun sirsak dan daun sirih.....	44
Tabel 8. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak daun sirih dan daun sirsak.....	45
Tabel 9. Hasil uji bebas etanol ekstrak daun sirsak dan daun sirih.....	45
Tabel 10. Formulasi sediaan krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak ( <i>Annona muricata</i> L.) dan daun sirih ( <i>Piper betle</i> L.).....	46
Tabel 11. Hasil pengujian organoleptis krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun sirih.....	47
Tabel 12. Hasil uji homogenitas krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan ekstrak etanol daun sirih.....	48
Tabel 13. Hasil pengujian pH krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan ekstrak etanol daun sirih.....	48
Tabel 14. Hasil uji viskositas krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan ekstrak etanol daun sirih.....	49
Tabel 15. Uji daya sebar krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun sirih .....	51
Tabel 16. Hasil uji daya lekat krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun sirih.....	52
Tabel 17. Uji aktivitas antibakteri krim kombinasi daun sirsak dan daun sirih secara in vivo.....	54
Tabel 18. Hasil perhitungan jumlah bakteri dari nanah jerawat pada punggung kelinci.....	56

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Media <i>Mannitol Salt Agar</i> yang ditumbuhi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Staphylococcus epidermidis</i> .....	16
Gambar 2. Skema pembuatan ekstrak etanol 70% daun sirsak ( <i>Annona muricata</i> L.) dan daun sirih ( <i>Piper betle</i> L.).....	33
Gambar 3. Lokasi bagian punggung kelinci yang diberi perlakuan .....	38
Gambar 4. Skema pengujian efek antibakteri .....	39
Gambar 5. Gambar. Kurva hasil uji viskositas krim kombinasi ekstrak daun sirsak dan daun sirih. ....	50
Gambar 6. Pewarnaan gram bakteri <i>Staphylococcus epidermidis</i> .....	53
Gambar 7. Identifikasi dengan media <i>Vogel Johnson's Agar</i> .....	54
Gambar 8. Kurva hasil perhitungan koloni nanah jerawat kelinci.....	56

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat keterangan determinasi tanaman sirsak.....	65
Lampiran 2. Surat determinasi tanaman sirih .....	66
Lampiran 3. Foto serbuk dan ekstrak daun sirsak dan daun sirih .....	67
Lampiran 4. Gambar alat dan bahan .....	68
Lampiran 5. Perhitungan rendemen bobot kering terhadap bobot basah daun sirsak dan sirih.....	72
Lampiran 6. Penetapan susut pengeringan serbuk daun sirsak dan daun sirih .....	73
Lampiran 7. Perhitungan rendemen ekstrak etanol daun sirsak dan daun sirih....	74
Lampiran 8. Hasil identifikasi senyawa kimia serbuk dan ekstrak etanol daun sirsak dan daun sirih .....	75
Lampiran 9. Perhitungan penimbangan bahan krim .....	77
Lampiran 10. Uji viskositas sediaan krim.....	79
Lampiran 11. Uji daya sebar sediaan krim.....	84
Lampiran 12. Uji daya lekat sediaan krim .....	91
Lampiran 13. Pembuatan media <i>Nutrient Agar</i> .....	96
Lampiran 14. Pembuatan media <i>Vogel Johnson's Agar (VJA)</i> .....	97
Lampiran 15. Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus epidermidis</i> .....	98
Lampiran 16. Uji aktivitas antibakteri .....	100
Lampiran 17. Gambar jerawat punggung kelinci.....	104
Lampiran 18. Gambar perhitungan koloni bakteri <i>Staphylococcus epidermidis</i>	106
Lampiran 19. Surat keterangan hewan uji.....	107

## DAFTAR ISTILAH

a/m	: air dalam minyak
Ad.	: Adde (tambahkan)
ANOVA	: Analysis Of Variance
CFU	: Colony Form Unit
CH <sub>3</sub> COOH	: asam asetat
cm	: centimeter
dPas	: desy pascal second
g	: gram
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	: asam sulfat
HCl	: asam klorida
Kg	: kilogram
m/a	: minyak dalam air
Mg	: magnesium
MIC	: Minimum Inhibition Consentration
ml	: mililiter
mm	: milimeter
MSA	: <i>Manitol Salt Agar</i>
NaCl	: natrium klorida
Natr. Biborat	: natrium biborat
o/w	: <i>oil in water</i>
pH	: derajat keasaman
SD	: standar deviasi
VJA	: <i>Vogel Johnson Agar</i>
w/o	: <i>water in oil</i>
<i>Waterbath</i>	: penangas air

## INTISARI

**DEWI, MULYA, 2017, UJI AKTIVITAS KRIM KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.) DAN ETANOL DAUN SIRIH (*Piper betle* L.) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus epidermidis* SECARA *in vivo*, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.**

Daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun sirih (*Piper betle* L.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus epidermidis*. Senyawa kimia yang terkandung dalam kedua tanaman ini yang memiliki aktivitas antibakteri yaitu flavonoid, tanin, dan saponin. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan sediaan krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun sirih dalam menyembuhkan jerawat akibat infeksi *Staphylococcus epidermidis*, mengetahui konsentrasi efektif sediaan krim yang dapat menyembuhkan jerawat karena infeksi *Staphylococcus epidermidis*, mengetahui efek farmakologi sediaan krim, serta untuk mengetahui stabilitas sediaan krim selama masa penelitian.

Ekstraksi dalam penelitian ini menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Parameter krim ekstrak daun sirsak dan daun sirih yang diamati adalah konsentrasi kombinasi ekstrak dan waktu penyimpanan selama 21 hari. Pengamatan waktu penyembuhan dilakukan dengan mengamati lamanya penyembuhan jerawat punggung kelinci setelah pemberian krim, ditandai dengan hilangnya jerawat (pustula) dan nanah. Data yang diperoleh dianalisis dengan ANOVA satu jalan (signifikan  $p < 0,05$ ).

Hasil penelitian menunjukkan krim ekstrak etanol daun sirsak dan daun sirih memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus epidermidis* dengan konsentrasi efektifnya yaitu perbandingan ekstrak daun sirsak 1,25 g dan ekstrak daun sirih 0,5 g. Stabilitas krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun sirih memiliki stabilitas krim yang baik.

Kata kunci : Sirsak (*Annona muricata* L.), Sirih (*Piper betle* L.), antibakteri, krim, *Staphylococcus epidermidis*, jerawat.

## ABSTRACT

**DEWI, MULYA, 2017, ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF CREAM COMBINATION OF SOURSOP (*Annona muricata* L.) LEAVES ETHANOL EXTRACT WITH BETEL (*Piper betle* L.) LEAVES ETHANOL EXTRACT AGAINST *Staphylococcus epidermidis* In vivo, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.**

Soursop leaves (*Annona muricata* L.) and betel leaves (*Piper betle* L.) have antibacterial activity against *Staphylococcus epidermidis*. Chemical compounds contained in both of these plants that have antibacterial activity are flavonoids, tannins, and saponins. The purpose of this research was to know the ability of cream combination of ethanol extract of soursop leaves and betel leaves in curing acne due to infection of *Staphylococcus epidermidis*, to know the effective concentration of cream combination which could cure acne due to *Staphylococcus epidermidis* infection, to know the pharmacology effect of cream combination, and to know the stability of cream preparations during the research.

Extraction in this research used maceration method with 70% ethanol as the solvent. The parameters of soursop leaves extract and betel leaves extract were being observed were concentration of extract combination and storage time for 21 days. The healing time was observed by observing the duration of healing of rabbit's back acne after giving cream, characterized by the loss of acne (pustules) and pus. The data which obtained were analyzed by one-way ANOVA (significant  $p < 0.05$ ).

The results showed that ethanol extract cream of soursop leaves and betel leaves had antibacterial activity against *Staphylococcus epidermidis* with effective concentration ratio of soursop leaves extract was 1.25 g and betel leaves extract was 0.5 g. The stability of cream combination of ethanol extract of soursop leaves and betel leaves had good cream stability.

Keywords : Soursop leaves (*Annona muricata* L.), betel leaves (*Piper betle* L.), antibacterial, cream, *Staphylococcus epidermidis*, acne.

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang**

Jerawat merupakan masalah pada kulit yang biasanya ditandai dengan munculnya bintik-bintik pada wajah dan beberapa bagian tubuh lainnya seperti leher, punggung, dan dada. Maharani (2015 : 71-72) mengatakan, “Jerawat adalah suatu keadaan dimana pori-pori kulit tersumbat sehingga menimbulkan kantung nanah yang meradang. Jerawat adalah penyakit kulit yang cukup besar penderitanya. Jerawat tidak hanya tumbuh di wajah saja, namun bisa juga tumbuh di punggung, dada, lengan, kaki, pantat dan lain-lain. Penyebab munculnya jerawat diantaranya : produksi minyak berlebihan, adanya sumbatan lapisan kulit mati pada pori-pori yang terinfeksi, bakteri, kosmetik, obat-obatan, stres, faktor genetik, faktor hormon seperti pada saat pubertas menginjak belia, adanya iritasi kulit, dan penggunaan pil KB.”

Penyebab jerawat meliputi hiperproliferasi epidermis folikular sehingga terjadi sumbatan folikel, produksi sebum berlebihan, inflamasi, dan aktivitas bakteri (Harper 2004 dan Athikomkulchai *et al* 2008). Jerawat dapat juga disebabkan oleh bakteri seperti *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis* menimbulkan efek yang berbeda-beda. *Propionibacterium acnes* menghasilkan lipase yang memecah asam lemak bebas dari lipid kulit yang akan menyebabkan terjadinya inflamasi jaringan sehingga mendukung terbentuknya acne. *Staphylococcus aureus* menyebabkan infeksi termasuk jerawat yang menghasilkan nanah. *Staphylococcus epidermidis* berkembang pada kelenjar sebaceous dan tersumbat, akan menghasilkan zat-zat yang akan menyebabkan iritasi pada daerah sekitarnya selanjutnya akan membengkak, pecah dan kemudian menyebarkan radang ke jaringan kulit (Kursia 2016).

Murini (2003) dalam jurnalnya mengatakan, “Obat jerawat topikal dapat dikategorikan menjadi dua yaitu obat jerawat tanpa resep dokter yang dijual bebas di pasaran dan obat jerawat dengan resep dokter. Obat jerawat tanpa resep dokter

seperti benzoil peroksida, sulfur, dan asam salisilat memiliki efek samping iritasi dan tak jarang mengakibatkan parakeratolitik. Dokter tak jarang meresepkan antibiotik seperti klindamisin, eritromisin, dan tetrasiklin.” Penggunaan antibiotik dalam jangka panjang selain dapat menimbulkan resistensi mikroba juga dapat menimbulkan kerusakan organ dan imunohipersensitivitas (Wasitaatmaja 1997 dalam Wahdaningsih 2014).

Pemanfaatan bahan alam sebagai obat tradisional di Indonesia akhir-akhir ini meningkat, bahkan beberapa bahan alam telah diproduksi secara pabrikasi dalam skala besar. Penggunaan obat tradisional dinilai memiliki efek samping lebih kecil dibandingkan dengan obat yang berasal dari bahan kimia, disamping itu harganya lebih terjangkau. Penduduk Indonesia banyak yang hidup di pedesaan dan kadang sulit dijangkau oleh tim medis dan obat-obat modern. Mahalnya biaya pengobatan modern menyebabkan masyarakat kebanyakan berpaling ke obat tradisional yang berasal dari alam.

Indonesia memiliki jenis tanaman obat yang banyak ragamnya. Contoh tanaman obat tersebut antara lain adalah sirih (*Piper betle* L.) dan sirsak (*Annona muricata* L.). Kedua tanaman tersebut secara empiris telah banyak dimanfaatkan sebagai obat. Daun dari tanaman sirsak dapat digunakan sebagai obat wasir, sakit kandung kemih, diare pada bayi, disentri, dan sebagai sumber vitamin C, selain itu dapat juga digunakan sebagai peluruh keringat, anti kejang dan mempercepat masaknya bisul. Daun sirih dapat digunakan untuk obat sakit gigi, penghilang bau mulut, batuk dan serak, hidung berdarah, keputihan, wasir, tetes mata, gangguan lambung, gatal-gatal, kepala pusing, jantung berdebar dan trachoma.

Tanaman sirsak (*Annona muricata* L.) seluruh bagiannya dapat digunakan digunakan sebagai obat alami di daerah tropis termasuk kulit, daun, akar dan biji buah. Potensi daun sirsak sebagai alternatif pengobatan semakin banyak diteliti akhir-akhir ini. Sirsak telah dibuktikan khasiatnya oleh beberapa orang yang berpenyakit karena mengandung berbagai senyawa. Senyawa tersebut antara lain adalah acetogenin, minyak esensial, reticuline, loreximine, coclaurine, annomurine, higenamine.

Menurut peneliti daun sirsak dari Institut Teknologi Bandung, Prof. Soelaksono Sastrodiharjo PhD, daun ke-4 dan ke-5 dari pucuk merupakan daun yang paling berkhasiat. Penelitian tersebut juga menjelaskan bahwa kandungan asetogenin pada daun sirsak dapat dimanfaatkan untuk mengobati infeksi pada kulit yang disebabkan oleh beberapa bakteri seperti *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acnes* (S. Sastrodiharjo 1997 dalam Rahmawati 2012).

Penelitian lain tentang daun sirsak menunjukkan bahwa daun sirsak juga memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus epidermidis* telah dilakukan oleh Mulyanti (2015). Hasil yang didapat pada penelitian tersebut menunjukkan aktivitas ekstrak etanol daun sirsak memiliki aktivitas antibakteri yang “lemah-sedang” terhadap pertumbuhan bakteri yang digunakan dalam pengujian, yaitu *Propionibacterium acne*, *Staphylococcus aureus*, dan *Staphylococcus epidermidis* (Mulyanti 2015).

Tanaman lain yang juga memiliki potensi sebagai antibakteri selain tanaman sirsak yaitu sirih yang mempunyai nama ilmiah *Piper betle* L.. Masyarakat memanfaatkan tumbuhan ini untuk tujuan pengobatan pada hidung berdarah (mimis-en-Jawa), mulut berbau, mata sakit, radang tenggorokan (Sudarsono dkk 1996). Tanaman ini juga berkhasiat sebagai antisariawan, antibatuk, *astringent*, dan antiseptik (Anonim 1981). Kandungan kimia tumbuhan sirih adalah saponin, flavonoid, polifenol, dan minyak atsiri (Anonim 2000).

Senyawa saponin yang terkandung dalam sirih dapat bekerja sebagai antimikroba (Robinson 1995). Senyawa saponin akan merusak membran sitoplasma dan membunuh sel (Assani 1994). Senyawa flavonoid diduga mekanisme kerjanya mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi (Pelczar dan Chan 1988).

Penelitian yang dilakukan oleh Zenda Fadila Putri (2010) menyatakan bahwa daun sirih juga mempunyai aktivitas sebagai antibakteri. Golongan senyawa dari ekstrak etanol daun sirih yang memiliki aktivitas antibakteri kemungkinan merupakan senyawa golongan flavonoid dan polifenol. (Putri 2010).

Penelitian tentang aktivitas ekstrak daun sirih sebagai antibakteri juga dilakukan oleh Kursia (2016) yang menguji ekstrak daun sirih terhadap bakteri

*Staphylococcus epidermidis*. Hasil yang diperoleh dari penelitian tersebut adalah variasi konsentrasi ekstrak daun sirih dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* (Kursia 2016). Arambewela (2004) juga melakukan uji aktivitas antibakteri minyak esensial dan ekstrak etanol daun sirih terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan metode difusi cakram, hasil dari penelitian tersebut adalah konsentrasi hambat minimum (MIC) sebesar  $1,00 \times 10^4$  dengan diameter hambat sebesar 10,67 mm.

Peneliti tertarik melakukan uji aktivitas antibakteri dari kombinasi ekstrak etanol daun sirih dan ekstrak etanol daun sirih yang dijadikan dalam bentuk sediaan krim terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* secara *in vivo*. Pengujian secara *in vivo* dilakukan dengan cara menginduksikan suspensi bakteri *Staphylococcus epidermidis* pada kulit punggung kelinci yang telah dicukur sebelumnya.

Pemilihan krim sebagai bentuk sediaan karena krim merupakan sediaan yang banyak disukai oleh masyarakat karena sifatnya yang mudah menyebar dan mudah dibersihkan, dan menurut Lachman, dkk. (1994) krim memiliki sifat umum mampu melekat pada permukaan tempat pemakaian dalam waktu cukup lama sebelum sediaan tersebut dicuci atau dihilangkan. Murini (2003) dalam jurnalnya mengatakan, “Krim lebih mudah dioleskan dan tidak berlemak layaknya sediaan salep, dimana pada penderita jerawat sediaan berlemak dan berminyak sangat dihindari. Terapi jerawat umumnya menggunakan krim tipe *o/w* (minyak dalam air) karena tipe krim tersebut memperlambat proses pengeringan dan tidak mengiritasi kulit sehingga cocok digunakan untuk penderita kulit sensitif atau kering, krim tipe *o/w* memiliki sifat penyebaran pada kulit yang baik, memiliki efek dingin, serta sifatnya lentur-lentur.” Krim dikatakan memiliki stabilitas yang baik jika krim tersebut stabil selama masih dipakai untuk mengobati, oleh karena itu krim harus bebas dari inkompatibilitas dan stabil pada suhu kamar (Widodo 2013).

## B. Rumusan Masalah

Masalah yang dapat dirumuskan dalam penelitian ini yaitu :

1. Apakah krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) dapat berefek sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* yang diinduksikan pada hewan uji (secara *in vivo*)?
2. Berapakah konsentrasi krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) yang efektif sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* yang diujikan secara *in vivo*?
3. Bagaimanakah sifat efek farmakologi dari kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*?
4. Bagaimanakah stabilitas dari kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) yang dibuat dalam bentuk sediaan krim?

## C. Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk :

1. Untuk mengetahui efek antibakteri krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* yang diinduksikan pada hewan uji (secara *in vivo*).
2. Untuk mengetahui konsentrasi krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) yang efektif sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* yang diujikan secara *in vivo*.
3. Untuk mengetahui efek farmakologi kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*.

4. Untuk mengetahui stabilitas dari kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) yang dibuat dalam bentuk sediaan krim.

#### **D. Kegunaan Penelitian**

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat dijadikan sebagai informasi tentang kegunaan dari kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) yang digunakan sebagai antibakteri, khususnya terhadap infeksi bakteri *Staphylococcus epidermidis*. Peneliti juga mengharapkan hasil dari penelitian ini dapat digunakan sebagai informasi serta pustaka baru bagi masyarakat tentang ilmu pengetahuan khususnya menjadi dasar pengembangan obat yang menggunakan bahan alam sebagai bahan utamanya, serta hasil penelitian ini diharapkan mampu untuk meningkatkan upaya pelayanan kesehatan kepada masyarakat.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Daun Sirsak**

##### **1. Sistematika tanaman**

Sistematika klasifikasi tanaman sirsak menurut Sunarjono (2005) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Polycarpiceae
Familia	: Annonaceae
Genus	: Annona
Spesies	: <i>Annona muricata</i> L.

##### **2. Morfologi**

Morfologi dari daun sirsak adalah berbentuk bulat dan panjang, dengan bentuk daun menyirip dengan ujung daun meruncing, permukaan daun mengkilap, serta berwarna hijau muda sampai hijau tua. Putik yang terdapat pada tanaman ini berada di dalam satu bunga sehingga diberi nama bunga berpistil majemuk. Tanaman ini juga memiliki bunga yang terdapat dalam lingkaran, dan sebagian lagi membentuk spiral atau terpenjar, tersusun secara hemisiklis. Mahkota bunga yang berjumlah 6 sepalum yang terdiri dari dua lingkaran, bentuknya hampir segitiga, tebal, dan kaku, berwarna kuning keputih-putihan, dan setelah tua mekar dan lepas dari dasar bunganya. Bunga umumnya keluar dari ketiak daun, cabang, ranting, atau pohon bentuknya sempurna (hermaprodit) (Sunarjono 2005).

##### **3. Kandungan kimia**

Kandungan kimia dalam daun sirsak sebagian besar adalah senyawa flavonoid, alkaloid, *acetogenin*, asimisin dan *bulatacin*. Flavonoid dan alkaloid yaitu kerjanya sebagai antibakteri (Robinson 1995).

#### 4. Khasiat dan kegunaan

Bagian tanaman sirsak yang dapat dimanfaatkan sebagai obat alami antara lain adalah kulit, daun, akar, buah, dan biji buah. Sifat yang berbeda dan menggunakan diberikan ke bagian yang berbeda dari pohon. Buah dan sari buahnya dapat digunakan untuk mengobati penyakit akibat cacing dan parasit, untuk demam dingin, sebagai lactagogue (untuk meningkatkan ASI setelah melahirkan), dan sebagai zat untuk diare dan disentri, dan terutama pada daun sirsak untuk mengobati batuk, rematik, mual, luka dan kanker (Kandaswami & Middleton 1997).

### B. Daun Sirih

#### 1. Sistematika tanaman

Sistematika klasifikasi tanaman sirih menurut Syamsuhidayat dan Hutapea (1991) adalah sebagai berikut :

Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Classis	: Dicotyledoneae
Ordo	: Piperales
Familia	: Piperaceae
Spesies	: <i>Piper betle</i> L.

#### 2. Morfologi

Tanaman sirih merupakan tanaman yang tumbuh memanjat, tinggi 5 cm-15 cm.. Daunnya tunggal berbentuk jantung, berujung runcing, tepi rata, tulang daun melengkung, lebar daun 2,5-10 cm, dan panjang daun 5-18 cm, tumbuh berselang-seling, bertangkai, dan mengeluarkan bau yang khas bila diremas. Daun pelindung berbentuk lingkaran, bundar telur sungsang atau lonjong panjang kira-kira 1 mm. Perbungaan berupa bulir, sendiri-sendiri di ujung cabang dan berhadapan dengan daun. Bulir bunga jantan, panjang gagang 1,5 - 3 cm, benang sari sangat pendek. Bulir bunga betina, panjang gagang 2,5 – 6 cm, kepala putik 3 – 5. Buah Buni, bulat dengan ujung gundul. Bulir masak berbulu kelabu, rapat, tebal 1– 1,5 cm. Biji berbentuk bulat (Syamsuhidayat dan Hutapea 1991).

### 3. Kandungan kimia

Kandungan kimia daun sirih antara lain saponin, flavonoid, polifenol, dan minyak atsiri (Syamshidayat dan Hutapea 1991).

### 4. Khasiat

Daun sirih mempunyai khasiat sebagai obat batuk, obat bisul, obat sakit mata, obat sariawan, obat hidung berdarah (Syamsuhidayat dan Hutapea 1991).

## C. Simplisia

### 1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alami yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan atau bahan alami digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga atau telah diolah secara sederhana kecuali dinyatakan lain, bisa berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia terdapat 3 jenis yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan atau mineral. (Anonim 1989). Pembuatan simplisia pada umumnya melalui tahap yaitu pengumpulan bahan baku, sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering, pengepakan, penyimpanan dan pemeriksaan mutu (Anonim 1985).

### 2. Penggolongan simplisia

Berdasarkan asalnya, simplisia dapat digolongkan menjadi :

**2.1. Simplisia nabati.** Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau isi sel yang dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya atau zat-zat nabati lainnya dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya dan belum berupa zat kimia murni (Anonim 1989).

**2.2. Simplisia hewani.** Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni (Anonim 1989).

**2.3. Simplisia pelikan.** Simplisia pelikan (mineral) adalah simplisia yang berupa bahan pelikan (mineral) yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum zat kimia murni (Anonim 1989).

### **3. Pengeringan simplisia**

Tujuan pengeringan simplisia untuk mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik sehingga mencegah penurunan waktu penyimpanan atau simplisia tidak mudah rusak, berjamur, atau kandungan bahan aktifnya berubah. Metode yang digunakan untuk mengeringkan simplisia ada dua macam, yaitu pengeringan secara alamiah dan pengeringan secara buatan.

**3.1. Pengeringan alamiah.** Pengeringan ini dilakukan dengan cara menjemur simplisia di bawah sinar matahari langsung dan sangat tergantung cuaca atau diangin-anginkan di udara terlindung dari sinar matahari langsung. Cara ini terutama digunakan untuk mengeringkan bagian tanaman yang lunak seperti bunga, daun dan sebagainya

**3.2. Pengeringan buatan.** Pengeringan ini dilakukan dengan menggunakan suatu alat atau mesin pengeringan seperti pemanas (oven) bertenaga listrik atau diesel. Panas yang dihasilkan mesin lebih stabil sehingga pengeringan lebih terkontrol, waktu pengeringan tidak tergantung cuaca, proses pengeringan lebih cepat dan kualitas yang dihasilkan lebih baik. Hal-hal yang perlu diperhatikan saat pengeringan adalah suhu pengeringan, kelembapan udara, aliran udara, waktu pengeringan dan luas permukaan bahan (Depkes 1985).

## **D. Ekstraksi**

### **1. Pengertian ekstraksi**

Ekstraksi adalah teknik penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari kandungan atau bahan yang tidak larut dalam pelarut cair. Hasil yang didapatkan dari proses ekstraksi dinamakan ekstrak atau sediaan kental yang diperoleh dari mengekstraksi zat aktif yang dimiliki simplisia menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian dimaserasi dan diperlakukan sedemikian rupa sampai hasil yang diinginkan. Cairan penyari yang biasa digunakan untuk ekstraksi adalah air, etanol, dan etanol air atau eter (Dirjen POM 2000).

### **2. Metode ekstraksi**

Ekstraksi dengan menggunakan pelarut terbagi menjadi dua cara, yaitu :

**2.1. Cara dingin.** Ekstraksi menggunakan pelarut dengan cara dingin terdiri dari:

2.1.1. Maserasi. Maserasi merupakan proses pengekstraksian simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan.

2.1.2. Perkolasi. Proses ini terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya atau tahap penetasan ekstrak dan ditampung terus menerus sampai diperoleh ekstrak yang diinginkan (perkolat).

**2.2. Cara panas.** Ekstraksi menggunakan pelarut dengan cara panas terdiri dari:

2.2.1. Refluks. Ekstraksi dengan cara refluks menggunakan pelarut pada temperatur titik didihnya selama waktu tertentu, dan dengan jumlah pelarut yang terbatas dan relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

2.2.2. Sokletasi. Metode ekstraksi dengan sokletasi, digunakan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut yang konstan dengan adanya pendingin balik.

2.2.3. Digesti. Digesti adalah maserasi kontinu pada suhu yang lebih tinggi daripada suhu kamar (40 – 50°C).

2.2.4. Infus. Pelarut yang digunakan pada proses infus adalah pelarut air dengan temperatus penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 96-98°C) selama waktu tertentu (15-20 menit).

2.2.5. Dekok. Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama (30 menit) dengan temperatur mencapai titik didih air (Ditjen POM 2000).

### **3. Penggolongan ekstrak berdasarkan konsistensinya**

Berdasarkan konsistensinya, ekstrak dapat digolongkan menjadi :

**3.1. Ekstrak kering (*Extractum siccum*).** Ekstrak kering adalah sediaan berbentuk serbuk, dibuat dari ekstrak tumbuhan melalui penguapan pelarutnya. Sediaan ini konsistensinya kering dan mudah digosokkan. Ekstrak ini diperoleh dengan melakukan penguapan cairan pengekstraksi dan pengeringan,

sisanya akan terbentuk suatu produk yang sebaiknya memiliki kandungan lembab tidak lebih dari 5% (Voigt 1994)

**3.2. Ekstrak cair (*Extractum liquidum*).** Ekstrak cair adalah sediaan cair simplisia nabati yang mengandung etanol sebagai pelarut atau sebagai pengawet atau sebagai pelarut dan pengawet (Voigt 1994).

**3.3. Ekstrak kental (*Extractum spissum*).** Ekstrak kental adalah sediaan kental yang dibuat dari simplisia yang kemudian diuapkan pelarutnya sediaan ini liat dalam keadaan dingin dan tidak dapat dituang. Kandungan airnya berjumlah sampai 30% (Voigt. 1994).

#### **4. Metode ekstraksi maserasi**

Maserasi berasal dari kata macerare yang berarti mengairi atau melunakkan. Maserasi merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana dan mudah dilakukan (Voigt 1994). Maserasi adalah suatu penyarian zat aktif yang dilakukan dengan cara merendap serbuk simplisia dalam cairan penyari yang sesuai selama 3-5 hari pada temperature kamar terlindung dari cahaya langsung untuk mencegah reaksi yang dikatalisis cahaya. Endapan yang diperoleh dipisahkan dan filtratnya dipekatkan.

Selama proses maserasi dilakukan pengadukan dan penggantian cairan penyari setiap hari karena pada saat keadaan diam dapat menyebabkan turunnya perpindahan bahan aktif (Depkes 1986; Armanto 2009). Maserasi secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinyu (terus-menerus). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserasi pertama dan seterusnya. Cara ini dapat menarik zat-zat berkhasiat yang tahan pemanasan maupun yang tidak tahan pemanasan. (Depkes RI 2000).

Ekstrak hasil maserasi dipisahkan ampasnya dengan menyaring atau menyari ampas yang telah dibilas bebas dari ekstrak dengan penambahan cairan penyari melalui ayakan atau saringan kedalam seluruh ekstrak dalam wadah (Ansel 1989). Keuntungan penyarian dengan maserasi adalah pekerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan (Anonim 1986).

Kerugiannya adalah pengerjaan lama dan penyariannya kurang sempurna (Depkes RI 2000).

### **E. Pelarut**

Pemilihan pelarut sangatlah penting tidak hanya tergantung pada kandungan zat aktif yang diselidiki, tetapi tergantung juga pada tempat terdapatnya dan substansi apa saja yang terkandung didalamnya. Pelarut adalah zat yang digunakan sebagai media untuk melarutkan zat lain. Pemilihan sistem pelarut yang digunakan dalam ekstraksi harus berdasarkan kemampuannya dalam melarutkan jumlah yang maksimal dari zat aktif dan seminimal mungkin bagi unsur yang tidak diinginkan (Sunarya dan Setiabudi 2007). Etanol adalah salah satu pelarut yang sering digunakan karena sebagian besar bahan tumbuhan larut dalam etanol, sehingga lebih disukai penggunaannya. Etanol termasuk ke dalam pelarut polar, sehingga etanol diharapkan dapat menarik zat-zat aktif yang juga bersifat polar. Senyawa yang dapat dilarutkan etanol adalah flavonoid, saponin, tanin, alkaloid basa, steroid, antrakuinon, dan kurkumin.

Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 70%, digunakan etanol 70% sebagai penyari karena lebih selektif, kuman dan kapang sulit tumbuh dalam etanol diatas 20%, netral absorbisnya baik, tidak beracun, etanol dapat bercampur dengan air dengan berbagai perbandingan, panas yang diperlukan untuk memekatkan lebih sedikit. Etanol juga dapat melarutkan minyak menguap, senyawa saponin, flavonoid, fenol dan senyawa polar lainnya. Etanol dapat memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut dan sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal (Ansel 1989). Kerugiannya dalam penggunaan etanol sebagai cairan penyari adalah harganya mahal (Depkes 1986).

## F. Bakteri *Staphylococcus epidermidis*

### 1. Sistematika bakteri

*Staphylococcus epidermidis* dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom	: Monera
Divisio	: Eukariota
Classis	: Schizomycetes
Ordo	: Eubacteriales
Familia	: Micrococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Species	: <i>Staphylococcus epidermidis</i> (Breed <i>et al</i> 1957)

### 2. Morfologi

*Staphylococcus epidermidis* merupakan bakteri gram positif, aerob atau anaerob fakultatif berbentuk bola atau kokus berkelompok tidak teratur, diameter 0,8-1,0  $\mu\text{m}$  tidak membentuk spora dan tidak bergerak, koloni berwarna putih. Bakteri ini tumbuh cepat pada suhu 37°C. Koloni pada pembenihan padat berbentuk bulat halus, menonjol, berkilau, tidak menghasilkan pigmen, berwarna putih porselain sehingga disebut juga dengan *Staphylococcus albus*, koagulasinya negatif dan tidak meragi manitol (Jawetz *et al* 2001).

### 3. Patogenesis

Burkhart, dkk (1999) mengatakan, “Aktivitas *Staphylococcus epidermidis* dalam pembentukan jerawat adalah dengan cara menginfeksi kulit terluar (epidermis) sampai unit sebacea.”

Enzim lipase yang dimiliki *Staphylococcus epidermidis* telah diketahui dapat menghidrolisis trigliserida di unit sebacea menjadi asam lemak bebas yang dapat menyebabkan terjadinya keratinisasi dan inflamasi. Inflamasi dan keratinisasi yang berlebihan inilah yang akan menimbulkan jerawat (Plewig dan Kligman 1975).

### 4. Identifikasi *Staphylococcus epidermidis*

Metode untuk mengidentifikasi bakteri *Staphylococcus epidermidis* dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu dengan identifikasi umumnya dilakukan dengan pewarnaan atau pengecatan gram, serta identifikasi khususnya dilakukan dengan

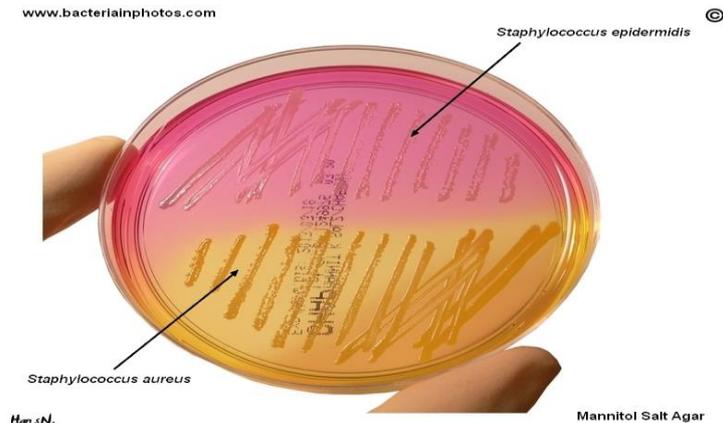
cara penumbuhan bakteri pada media selektif diferensial, contohnya adalah media *Mannitol Salt Agar* (MSA) dan *Vogel Johnson Agar* (VJA).

Identifikasi umum bakteri ini dilakukan dengan cara pewarnaan menggunakan kristal violet dan didiamkan selama lima menit, lalu zat warna dibuang dan diganti dengan larutan *lugol's iodine* (larutan  $I_2 + KI$ ) dan dibiarkan selama 45-60 detik. Larutan *lugol's iodine* dibuang dan sediaan dicuci dengan alkohol 96% selama 30 detik atau digoyang-goyangkan sampai tidak ada zat warna yang mengalir lagi. Sediaan lalu dicuci dengan air dan diwarnai lagi dengan air fukhsin selama 1-2 menit. Sediaan tersebut kemudian dicuci dan dikeringkan, lalu diperiksa dengan mikroskop. Bakteri *Staphylococcus epidermidis* merupakan bakteri gram positif, sehingga bila dilakukan pengecatan gram, bakteri ini akan tampak berwarna ungu (Wahdaningsih. 2014).

Identifikasi khusus untuk bakteri *Staphylococcus epidermidis* dilakukan dengan cara menumbuhkan bakteri ini pada media *Mannitol Salt Agar* (MSA). Media *Mannitol Salt Agar* (MSA) atau media *Vogel Johnson Agar* (VJA) merupakan media selektif dan diferensial. Media ini mendukung pertumbuhan bakteri dari grup tertentu. Media ini mengandung mannitol yang merupakan suatu gula, dan garam (*salt*) dengan indikator pH yang digunakan adalah *phenol red*. Konsentrasi garam yang terkandung dalam media ini cukup tinggi, (Wikipedia. 2016), sehingga membuat media ini selektif terhadap bakteri gram positif seperti *Staphylococcus*. Ciri khas dari bakteri *Staphylococcus* adalah bakteri ini tahan dengan kondisi kadar garam yang tinggi, sehingga pada media *Mannitol Salt Agar* (MSA) dan *Vogel Johnson's Agar* (VJA) bakteri ini dapat tumbuh.

Perbedaan antara *Staphylococcus epidermidis* dengan *Staphylococcus aureus* jika kedua jenis bakteri ini ditumbuhkan pada media *Mannitol Salt Agar* atau *Vogel Johnson Agar* adalah bakteri *Staphylococcus aureus* akan memfermentasi mannitol (gula) menjadi asam, perubahan pH akibat fermentasi mannitol ini akan terdeteksi oleh indikator (*phenol red*) sehingga indikator mengalami perubahan warna yang semula berwarna merah berubah menjadi kuning. Berbeda halnya dengan bakteri *Staphylococcus epidermidis*, bakteri ini jika ditumbuhkan pada media MSA atau VJA tidak akan memfermentasi mannitol

menjadi asam, sehingga indikator tidak akan mengalami perubahan warna (media tetap berwarna merah).



(Sumber : [www.bacterianphotos.com/Mannitol Salt Agar.html](http://www.bacterianphotos.com/Mannitol_Salt_Agar.html))

**Gambar 1. Media Mannitol Salt Agar yang ditumbuhi bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis***

### G. Antibakteri

Antibakteri adalah obat atau senyawa yang digunakan untuk membunuh bakteri, khususnya bakteri yang merugikan manusia. Definisi ini berkembang bahwa antibakteri merupakan senyawa kimia dalam konsentrasi kecil mampu menghambat bahkan membunuh suatu mikroorganisme (Setiabudy 2007 dalam Kurniatio 2009).

Uji potensi antibakteri mempunyai tujuan mengukur aktivitas antibakteri dari suatu senyawa kimia terhadap bakteri. Tujuan pengukuran aktivitas antibakteri untuk menentukan potensi suatu zat antibakteri dalam larutan, konsentrasi suatu zat antibakteri terhadap cairan tubuh, jaringan dan kepekaan suatu bakteri terhadap konsentrasi-konsentrasi yang dikenal (Jawetz *et al* 1986).

Berdasarkan mekanisme antibakteri dapat dibagi menjadi 5 kelompok sebagai berikut: 1) menghambat sintesis dinding sel bakteri, 2) menghambat metabolisme sel bakteri, 3) mengganggu keutuhan membrane sel bakteri, 4) menghambat sintesis protein sel bakteri, 5) menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri.

## H. Jerawat

Jerawat merupakan suatu kondisi yang dapat terjadi karena pori-pori kulit tersumbat sehingga menimbulkan kantung nanah yang meradang. Jerawat adalah penyakit kulit dengan jumlah penderita yang cukup banyak.

### 1. Penyebab jerawat

Maharani (2015 : 72) mengatakan, “Penyebab dari munculnya jerawat diantaranya : produksi minyak berlebihan, adanya sumbatan lapisan kulit mati pada pori-pori yang terinfeksi, bakteri, kosmetik, obat-obatan, telepon genggam, stres, faktor genetik turunan orang tua, faktor hormon seperti pada saat pubertas menginjak belia, adanya iritasi kulit, pil KB.”

### 2. Gejala jerawat

Gejala yang dapat ditimbulkan akibat jerawat dapat bervariasi, seperti munculnya bintik-bintik, kulit menjadi berminyak, serta kulit yang ditumbuhi jerawat juga akan terasa panas. Maharani (2015 : 72) menggolongkan gejala jerawat menjadi dua jenis diantaranya :

**2.1. Jerawat yang tidak meradang.** Jerawat ini mempunyai ciri-ciri yaitu adanya benjolan di permukaan kulit atau tekstur kulit tidak merata, serta kulit terasa kasar.

**2.2. Jerawat yang meradang.** Gejala yang ditimbulkan akibat jerawat ini yaitu kulit terlihat kemerahan, terjadi pembengkakan, serta akan terjadi iritasi kulit (Maharani. 2015)

### 3. Jenis-jenis jerawat

Jenis jerawat sebenarnya bermacam-macam, seperti komedo dan jerawat radang. Maharani (2015 : 72-76) menyebutkan bahwa jenis-jenis jerawat dapat bermacam-macam, antara lain yaitu :

**3.1. Jerawat biasa.** Jenis jerawat ini mudah dikenal, tonjolan kecil berwarna pink atau kemerahan. Hal ini dapat terjadi karena pori-pori yang tersumbat terinfeksi oleh bakteri (Maharani 2015). Bakteri yang dapat menyebabkan jerawat antara lain adalah *Propionibacterium acne* dan *Staphylococcus epidermidis*.

**3.2. Komedo.** Komedo muncul akibat kelebihan minyak pada kelenjar sebaceous dan kondisi kulit yang tidak bersih. Komedo di dalamnya terdapat keratin dan sebum (hasil sekresi minyak) yang berubah menjadi hitam (komedo berkepala hitam) saat teroksidasi akan menyumbat pada pori-pori kulit. Komedo biasanya muncul pada permukaan hidung, pipi, dagu, dan bagian-bagian tubuh lain.

Komedo yang berkepala putih sebenarnya merupakan komedo yang letaknya tidak terlalu dekat dengan permukaan kulit, sehingga folikel yang dipenuhi oleh sebum tidak mengalami oksidasi. Kondisi tersebut tidak akan membuat sebum tampak menghitam.

Komedo bisa diangkat dengan bantuan plester khusus dan sabun dengan butiran scrub. Cara lain yang ampuh untuk menghilangkan komedo adalah dengan memencetnya supaya keluar, menggunakan alat khusus. Proses pemencetan komedo bisa dilakukan sendiri, tetapi hasil terbaik akan didapatkan dengan bantuan klinik kesehatan kulit (Maharani 2015).

**3.3. Jerawat radang.** *Acne conglobata* yang berupa jerawat radang adalah penyakit kulit yang diikuti dengan komedo, benjolan, dan abses. Kondisi ini bisa terjadi pada usia 18 sampai dengan 30 tahun dan biasanya berlangsung cukup lama. Penyebab jerawat radang ini tidak begitu diketahui, tetapi berhubungan dengan hormon testosteron dan penggunaan steroid.

Kemunculan jerawat radang ditandai dengan komedo berkepala hitam yang menyebar pada wajah, leher, dan lain-lain. Komedo tersebut kemudian dikelilingi oleh bintil dan cairan, yang akan terus mengembang hingga akhirnya pecah.

Jerawat radang harus ditandai dengan seksama dan jika perlu menggunakan bantuan dokter kulit, karena bisa menyebabkan parut atau bekas luka berupa keloid. Benjolan yang besar dan tidak kempis sendiri perlu dihilangkan melalui jalan operasi (Maharani 2015).

**3.4. Jerawat konglobata.** Jenis jerawat ini berupa bisul berukuran besar yang menumpuk menjadi satu, kemudian tumpukan bisul tersebut membentuk gelombang yang berisi nanah. Bisul berisi nanah ini, lama-kelamaan

akan menjadi keras, sehingga membuat kulit wajah rusak disertai dengan bekasnya yang sangat parah (Maharani 2015).

**3.5. Jerawat dada dan punggung.** Jerawat ini disebut demikian karena letak tumbuh jerawat ini berada di sekitar dada dan punggung. Jerawat jenis ini umumnya ditimbulkan karena hormon testosteron dalam darah (Maharani 2015).

**3.6. Jerawat berdasarkan lesinya.** Berdasarkan lesinya, jerawat dapat dibagi menjadi beberapa jenis, diantaranya adalah sebagai berikut :

**Tabel 1. Jerawat berdasarkan lesinya**

Jenis	Keterangan
Follicular	Umumnya tumbuh di bagian sisi samping kiri dan kanan hidung. Jenis jerawat ini jika tumbuh akan dipenuhi sebum yang tersumbat seperti bubur. Cara mengeluarkan sumbatan tersebut dengan penekanan.
Mikrokomedo	Umumnya tumbuh di bagian samping kiri dan kanan hidung. Jenis jerawat ini jika tumbuh akan dipenuhi sebum yang tersumbat seperti bubur. Cara mengeluarkan sumbatan tersebut dengan penekanan.
Komedo	Merupakan kelanjutan dari komedo tertutup. Tumbuh pada saat folikel terbuka, sehingga sebum yang mengandung pigmen kulit melanin didalamnya teroksidasi serta berubah menjadi coklat atau hitam.
Papel	Terjadi ketika dinding folikel rambut mengalami kerusakan atau pecah sehingga sel darah putih keluar dan terjadi inflamasi di lapisan dalam kulit. Papel berbentuk benjolan-benjolan lunak kemerahan di kulit tanpa memiliki kepala. Biasa disebut sebagai jerawat batu.
Pustel	Terjadi beberapa hari kemudian ketika sel darah putih keluar ke permukaan kulit. Pustel berbentuk benjolan merah dengan titik putih atau kuning di tengahnya yang mengandung sel darah putih.
Nodul	Apabila folikel pecah di dasarnya maka terjadi benjolan radang yang besar dan sakit bila disentuh. Nodul biasanya terjadi akibat rangsang peradangan oleh fragmen rambut yang berlangsung lama.
Abses	Kadang beberapa papel atau pustel mengalami pengelompokkan dengan membentuk abses yang berwarna kemerahan, nyeri dan cenderung mengeluarkan bahan berupa campuran darah, nanah dan sebum. Pada proses penyembuhan kelainan ini meninggalkan jaring parut yang luas.
Sinus	Sering terdapat di lekukan samping hidung, hidung, rahang dan leher. Kelainan berupa garis linier dengan ukuran panjang bisa mencapai 10 cm dan mengandung beberapa saluran sinus atau fistel yang menghubungkan sinus dengan permukaan kulit. Penyembuhan jerawat ini memakan waktu berbulan-bulan, bahkan tahun dan dapat kambuh lagi bila mengalami proses inflamasi. Sinus harus ditangani dengan pembedahan.

(Sumber : Maharani, Ayu 2015)

**3.7. Jerawat medicametosa.** Ini adalah jenis jerawat yang terjadi dikarenakan efek samping dari obat-obatan. Obat sejenis antibiotik dan penstabil mood juga bisa menyebabkan terjadinya jerawat (Maharani 2015).

**3.8. Jerawat neonatorium.** Jerawat ini bisa tumbuh dikarenakan oleh rembesan sebum yang berlebihan pada anak-anak. Jerawat ini bisa timbul karena adanya perpindahan hormon dari ibu kepada bayi (Maharani 2015).

**3.9. Jerawat rosacea.** Ruam kemerahan ini banyak dialami usia 30 tahun ke atas. Muncul di pipi, hidung, dahi, dan dagu. Jerawat ini mungkin akan menyebabkan munculnya bintik-bintik jerawat, dan kulit jadi rusak.kondisi ini harus ditangani dokter ahli kulit supaya tidak lebih parah (Maharani 2015).

## I. Sediaan Krim

Krim adalah sediaan padat yang mengandung satu atau lebih bahan obat terlarut dalam bahan dasar yang sesuai. Istilah ini secara tradisional telah digunakan untuk sediaan setengah padat yang mempunyai konsistensi relative cair yang diformulasikan sebagai emulsi air dalam minyak atau minyak dalam air. (Depkes RI 1995). Krim adalah keadaan setengah padat, berupa emulsi mengandung air tidak kurang dari 60% dan dimaksudkan untuk pemakaian luar, dan krim yang baik memiliki beberapa sifat diantaranya: memiliki tekstur yang lembut, mudah dioleskan, mudah dibersihkan atau dicuci dengan air, tidak berbau tengik tidak mengandung mikroba patogen, tidak mengiritasi kulit, tidak mengandung pewarna, dan bahan-bahan tambahan yang dilarang oleh undang-undang bila mengandung zat aktif maka dapat melepaskan zat aktifnya, memiliki stabilitas yang baik (Depkes 1979).

### 1. Penggolongan krim

Krim terdiri dari emulsi minyak dalam air atau dispersi mikrokristal asam-asam lemak atau alkohol berantai panjang dalam air yang dapat dicuci dengan air dan lebih ditujukan untuk pemakaian kosmetika dan estetika. Ada dua tipe krim, yaitu tipe a/m, yaitu air terdispersi dalam minyak, dan tipe m/a, yaitu minyak terdispersi dalam air.

### 2. Metode pembuatan krim

Pembuatan sediaan krim meliputi proses peleburan dan proses emulsifikasi. Komponen-komponen yang tidak bercampur dengan air seperti minyak dan lilin dicairkan bersama-sama di penangas air pada suhu 70-75°C, sementara itu semua

larutan berair yang tahan panas, komponen yang larut dalam air dipanaskan pada suhu yang sama dengan komponen lemak. Larutan yang berair kemudian secara perlahan-lahan ditambahkan ke dalam campuran lemak yang cair dan diaduk secara konstan, temperatur dipertahankan selama 5-10 menit untuk mencegah kristalisasi dari lilin/lemak. Selanjutnya campuran perlahan-lahan didinginkan dengan pengadukan yang terus-menerus sampai campuran mengental. Pemisahan fase krim akan terjadi jika larutan berair tidak sama temperaturnya dengan leburan lemak, maka beberapa lilin akan menjadi padat, sehingga terjadi pemisahan antara fase lemak dengan fase cair (Munson 1991).

### **3. Stabilitas sediaan krim**

Sediaan krim dapat menjadi rusak bila terganggu sistem campurannya terutama disebabkan oleh perubahan suhu dan perubahan komposisi karena penambahan salah satu fase secara berlebihan atau pencampuran dua tipe krim jika zat pengemulsinya tidak tercampurkan satu sama lain. Pengenceran krim hanya dapat dilakukan jika diketahui pengencer yang cocok. Krim yang sudah diencerkan harus digunakan dalam waktu satu bulan.

### **4. Evaluasi sediaan krim**

Evaluasi mutu sediaan krim terdiri atas :

**4.1. Organoleptis.** Evaluasi organoleptis menggunakan panca indra, mulai dari bau, warna, tekstur sediaan, konsistensi pelaksanaan menggunakan subyek responden ( dengan kriteria tertentu ) dengan menetapkan kriterianya pengujianya ( macam dan item ), menghitung prosentase masing- masing kriteria yang di peroleh, pengambilan keputusan dengan analisa statistik.

**4.2. Evaluasi pH.** Evaluasi pH menggunakan alat pH meter, dengan cara perbandingan 60 g : 200 ml air yang di gunakan untuk mengencerkan , kemudian aduk hingga homogen, dan diamkan agar mengendap, dan airnya yang di ukur dengan pH meter, catat hasil yang tertera pada alat pH meter.

**4.3. Evaluasi daya sebar.** Evaluasi ini dilakukan dengan cara sejumlah zat tertentu di letakkan di atas kaca yang berskala, kemudian bagian atasnya di beri kaca yang sama, dan di tingkatkan bebanya, dan di beri rentang waktu 1 – 2

menit. Diameter penyebaran diukur pada setiap penambahan beban, saat sediaan berhenti menyebar ( dengan waktu tertentu secara teratur ).

**4.4. Evaluasi penentuan ukuran droplet.** Evaluasi ini bertujuan untuk menentukan ukuran droplet suatu sediaan krim ataupun sediaan emulgel, dengan cara menggunakan mikroskop sediaan diletakkan pada objek glass, kemudian diperiksa adanya tetesan – tetesan fase dalam ukuran dan penyebarannya.

**4.5. Uji aseptabilitas sediaan.** Pengujian ini dilakukan pada kulit, dengan berbagai orang yang diberikan suatu quisioner di buat suatu kriteria , kemudahan dioleskan, kelembutan, sensasi yang di timbulkan, kemudahan pencucian. Data-data yang diperoleh lalu dibuat skoring untuk masing- masing.

## **J. Hewan Uji**

Kelinci merupakan satu diantara mamalia yang bermanfaat. Kelinci biasanya dimanfaatkan untuk produksi daging, hewan percobaan, dan hewan peliharaan. Jenis kelinci untuk beberapa tujuan berbeda-beda (Curnin dan Bassert 1985). Kelinci adalah hewan percobaan yang penting telah lama dikenal dan digunakan untuk menguji berbagai sediaan dan terbukti memberikan hasil memuaskan. Sensitivitas kelinci dan manusia terhadap substansi pirogenik relative sama. Kenaikan suhu kelinci akibat substansi-pirogenik, sampai batas tertentu masih dapat diterima oleh manusia, sehingga kenaikan suhu kelinci tersebut dapat distandardisasi terhadap substansi pirogenik yang dapat diterima manusia. Kelinci percobaan yang sering digunakan adalah jenis New Zealand White, California, Dutch Belted dan Lops satu diantara yang umum dipakai dilaboratorium adalah New Zealand White (Wolfensohn dan Iloyd 1988).

### 1. Sistematika hewan uji

Sistematika dari hewan percobaan kelinci menurut Hustamin (2006) :

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Chordata
Subphylum	: Veterbrata
Classis	: Mammalia
Ordo	: Logomorpha
Famillia	: Leporidae
Genus	: <i>Oryctolagus</i>
Species	: <i>Oryctolagus cuniculus</i>

### 2. Data biologi hewan uji

Bobot lahir kelinci sekitar 30-100 g dan bobot dewasa 4-5,5 kg untuk jantan serta 4,5-6,5 untuk betina. Usia hidup kelinci biasanya 5-7 tahun, masa produksi 1-3 tahun, masa bunting 28-35 hari (rata-rata 29-31 hari). Konsumsi pakan perhari kelinci 100-200 g dengan memulai makan pakan kering pada usia 16 atau 18 hari. Konsumsi air minum per hari sekitar 200-500 ml. Volume ekskresi urine perhari 30-35 ml. Kelinci memiliki volume darah antara 55 sampai 65 ml/kg, suhu rektal 39,5 °C, laju respirasi 51 kali/menit dan denyut jantung 200-300 kali/menit.

### 3. Cara penanganan hewan uji kelinci

Kelinci mempunyai kebiasaan untuk mencakar atau menggigit. Penanganan yang kurang baik, dapat membuat kelinci berontak dan mencakarkan kuku dari kaki belakang secara kuat yang kadang dapat menyakiti dirinya sendiri. Kelinci harus diperlakukan dengan halus tetapi sigap. Cara menenangkan atau memperlakukan kelinci tidak boleh dengan mengangkat telinganya, namun dengan cara memegang kulit lehernya dengan tangan kiri dan menahan bagian pantatnya dengan tangan kanan kemudian diletakkan di atas meja (Smith 1998; Priyatna 2011).

## K. Landasan Teori

Menurut peneliti daun sirsak dari Institut Teknologi Bandung, Prof. Soelaksono Sastrodiharjo PhD, daun ke-4 dan ke-5 dari pucuk merupakan daun yang paling berkhasiat. Penelitian tersebut menjelaskan pula bahwa kandungan asetogenin pada daun sirsak dapat dimanfaatkan untuk mengobati infeksi pada kulit yang disebabkan oleh beberapa bakteri.

Penelitian lain tentang daun sirsak menunjukkan bahwa daun sirsak juga memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus epidermidis* telah dilakukan oleh Mulyanti (2015). Hasil yang didapat pada penelitian tersebut menunjukkan aktivitas ekstrak etanol daun sirsak memiliki aktivitas antibakteri yang “lemah-sedang” terhadap pertumbuhan bakteri yang digunakan dalam pengujian, yaitu *Propionibacterium acne*, *Staphylococcus aureus*, dan *Staphylococcus epidermidis* (Mulyanti 2015).

Tanaman lain yang juga memiliki potensi sebagai antibakteri adalah tanaman sirih atau dengan nama ilmiah *Piper betle*. Masyarakat memanfaatkan tumbuhan ini untuk tujuan pengobatan pada hidung berdarah (mimisen-Jawa), mulut berbau, mata sakit, radang tenggorokan (Sudarsono dkk 1996). Khasiat lain daun sirih adalah sebagai antisariawan, antibatuk, *astringent*, dan antiseptik (Anonim 1980). Kandungan kimia tumbuhan sirih adalah saponin, flavonoid, polifenol, dan minyak atsiri (Anonim 2000).

Senyawa saponin yang terkandung dalam sirih dapat bekerja sebagai antimikroba (Robinson 1995). Senyawa saponin akan merusak membran sitoplasma dan membunuh sel (Assani 1994). Senyawa flavonoid diduga mekanisme kerjanya mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi (Pelczar dan Chan 1988).

Penelitian tentang efek antibakteri ekstrak daun sirih juga dilakukan oleh Kursia (2016) yang menguji ekstrak daun sirih terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*. Hasil yang diperoleh dari penelitian tersebut adalah variasi konsentrasi ekstrak daun sirih dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* (Kursia 2016). Arambewela (2004) juga melakukan uji aktivitas antibakteri minyak esensial dan ekstrak etanol daun sirih terhadap

bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan metode difusi cakram, hasil dari penelitian tersebut adalah konsentrasi hambat minimum (MIC) sebesar  $1,00 \times 10^4$  dengan diameter hambat sebesar 10,67 mm.

Kedua penelitian tersebut menunjukkan bahwa kedua tanaman yaitu sirsak dan sirih terutama bagian daunnya memiliki efek antibakteri yang sama terhadap *Staphylococcus epidermidis*. Peneliti berharap dengan pengkombinasian kedua daun tersebut mampu memberikan efek sinergisme, yaitu efek yang diberikan kedua senyawa yang diberikan bersama-sama dengan aksi-aksi yang tidak sama, memberikan efek yang lebih besar, dimana mekanisme senyawa asetogenin daun sirsak yang menghambat pertumbuhan bakteri, serta senyawa saponin dan flavonoid daun sirih yang bekerja dengan merusak membran sitoplasma, merusak membran sel, mendenaturasi protein sel bakteri, hingga dapat membunuh sel bakteri.

Uji aktivitas antibakteri ini menggunakan metode *in vivo*, yaitu eksperimen dengan menggunakan keseluruhan hidup organisme, dengan menggunakan hewan uji sebagai media pengujian aktivitas antibakteri. Pengujian *in vivo* digunakan untuk mengamati efek keseluruhan eksperimen pada subjek hidup. Penelitian ini menggunakan hewan uji kelinci yang telah diinfeksi bakteri *Staphylococcus epidermidis*, yang selanjutnya diberi perlakuan dengan cara mengoleskan krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan ekstrak etanol daun sirih dengan berbagai macam konsentrasi ekstrak.

Hewan uji yang digunakan adalah kelinci jantan putih (New Zealand White) berumur sekitar 3-5 bulan, berat kelinci 3-5 kg dan kulit kelinci adalah pada bagian punggung kelinci yang telah dicukur bulunya.

Penelitian tentang aktivitas antibakteri dari senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dengan pelarut etanol menunjukkan memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram positif seperti *Propionibacterium acne*, *Staphylococcus aureus*, serta *Staphylococcus epidermidis*. Ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) jika digunakan langsung sebagai pengobatan dirasa kurang efektif, tidak aplikatif dan kurang efisien sehingga di

buat dalam bentuk sediaan farmasi untuk mempermudah penggunaannya secara topikal yaitu krim.

Pemilihan krim sebagai bentuk sediaan karena sediaan kosmetika banyak digemari untuk perawatan wajah terhadap jerawat, selain itu krim memiliki sifat umum mampu melekat pada permukaan tempat pemakaian dalam waktu cukup lama sebelum sediaan tersebut dicuci atau dihilangkan (Lachman dkk., 1994). Sifat lainnya dari krim adalah krim lebih mudah dioleskan dan tidak berlemak layaknya sediaan salep, dimana pada penderita jerawat sediaan berlemak dan berminyak sangat dihindari. Pada terapi jerawat umumnya menggunakan krim tipe *o/w* (minyak dalam air) karena tipe krim tersebut memperlambat proses pengeringan dan tidak mengiritasi kulit sehingga cocok digunakan untuk penderita kulit sensitif atau kering. Selain itu krim tipe *o/w* memiliki sifat penyebaran pada kulit yang baik, memiliki efek dingin, serta sifatnya lentur-lembut (Murini 2003). Sediaan tersebut dikatakan memiliki stabilitas yang baik jika stabil selama masih digunakan untuk pengobatan, oleh sebab itu sediaan krim harus bebas dari inkompatibilitas dan stabil pada suhu kamar. Sediaan krim dikatakan stabil dengan pengertian bahwa sediaan tidak akan berubah secara organoleptisnya atau tidak berubah warna, bau, dan tidak terjadi pemisahan fase minyak dan fase airnya, serta masih memiliki konsistensi yang tetap selama krim tersebut masih digunakan untuk pengobatan.

Konsentrasi ekstrak etanol daun sirih dan daun sirih yang dikombinasikan dalam pembuatan krim dibuat dengan bentuk dosis tunggal dan perbandingan konsentrasi, perbandingan. Penggunaan ekstrak etanol dengan dosis tunggal, dosis ekstrak daun sirih yang digunakan sebanyak 2,5 g dan ekstrak daun sirih sebesar 1,0 g sedangkan pada perbandingan konsentrasi yang pertama konsentrasi ekstrak etanol daun sirih yang digunakan sebanyak 1,25 g dan konsentrasi ekstrak etanol daun sirih sebanyak 0,5 g, untuk perbandingan yang kedua konsentrasi ekstrak etanol daun sirih sebanyak 2,5 g dan konsentrasi ekstrak etanol daun sirih sebanyak 0,5 g, serta untuk perbandingan yang ketiga konsentrasi ekstrak etanol daun sirih yang digunakan sebanyak 1,25 g dan untuk ekstrak etanol daun sirih yang digunakan sebanyak 1,0 g.

Peneliti mengharapkan dengan dilakukannya pembuatan kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan ekstrak etanol daun sirih yang dibuat menjadi sediaan krim dapat mempermudah dalam penggunaannya, serta mampu menyembuhkan kulit punggung kelinci yang diinfeksi bakteri *Staphylococcus epidermidis* lebih baik daripada konsentrasi tunggalnya.

#### L. Hipotesis

Berdasarkan uraian yang telah disebutkan, dapat disusun hipotesis dalam penelitian ini, yaitu :

1. Sediaan krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dengan ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) memiliki potensi untuk menyembuhkan kulit punggung kelinci yang diinfeksi bakteri *Staphylococcus epidermidis*.
2. Sediaan krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dengan ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) memiliki potensi untuk menyembuhkan kulit punggung kelinci yang diinfeksi bakteri *Staphylococcus epidermidis* pada konsentrasi optimumnya.
3. Sediaan krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dengan ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) memiliki efek sinergisme terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*.
4. Sediaan krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dengan ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) memiliki stabilitas sediaan krim yang baik.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Populasi dan Sampel**

##### **1. Populasi**

Populasi adalah jumlah dari keseluruhan objek yang akan diteliti. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini Daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun sirih (*Piper betle* L.) yang diambil dari Kelurahan Giritirto, Kecamatan Wonogiri, Kabupaten Wonogiri, Jawa Tengah.

##### **2. Sampel**

Sampel adalah sebagian dari populasi yang hendak diamati dan dianggap bisa mewakili keseluruhan dari populasi. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun sirih (*Piper betle* L.) hijau segar yang tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda serta terbebas dari hama.

#### **B. Variabel Penelitian**

##### **1. Identifikasi variabel utama**

Variabel utama yang pertama dalam penelitian ini adalah kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.), daun sirih (*Piper betle* L.) dan bakteri *Staphylococcus epidermidis* yang diinduksikan pada kulit kelinci.

Variabel utama yang kedua dalam penelitian ini adalah krim kombinasi ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L) dan daun sirih (*Piper betle* L) dengan konsentrasi tunggal ekstrak daun sirsak 2,5 g, konsentrasi tunggal daun sirih 1,0 g, serta perbandingan konsentrasi secara berurutan 1,25 g : 0,5 g; 2,5 g : 0,5 g; 1,25 g : 1,0 g.

##### **2. Klasifikasi variabel utama**

Variabel utama yang telah diidentifikasi dapat diklasifikasikan dalam berbagai macam variabel diantaranya yaitu, variabel bebas, variabel terkontrol, dan variabel tergantung. Variabel bebas yang dimaksud dalam penelitian ini adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi

ekstrak etanol kombinasi daun sirsak (*Annona muricata* L) dan daun sirih (*Piper betle* L) dalam krim tipe minyak terdispersi dalam air. Variabel terkontrol yang dimaksud dalam penelitian ini adalah variabel yang mempengaruhi variabel terikat sehingga perlu ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang diperoleh tidak tersebar dan dapat diulangi oleh penelitian lain secara tepat. Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah kemurnian, kombinasi daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun sirih (*Piper betle* L) terhadap bakteri uji *Staphylococcus epidermidis*, pembuatan sediaan krim, pemilihan kelinci (berat badan, kesehatan, kebersihan), tempat tumbuhnya tanaman, penelitian dan laboratorium. Variabel terikat yang dimaksud dalam penelitian ini adalah pusat persoalan yang merupakan kriteria penelitian. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah aktivitas antibakteri pada kulit kelinci yang dilihat dari kesembuhan dan jumlah mikroorganisme.

### **3. Definisi operasional variabel utama**

**3.1. Pertama,** daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun sirih (*Piper betle* L.) merupakan daun yang diambil dari tanaman sirsak dan sirih yang diperoleh dari daerah Wonogiri, Jawa Tengah.

**3.2. Kedua,** serbuk daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun sirih (*Piper betle* L) adalah daun sirsak dan daun sirih yang dipetik dan kemudian dicuci dengan air mengalir yang bertujuan untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel setelah itu dikeringkan dalam alat pengering (oven) pada suhu 30° - 40 °C, setelah kering dibuat serbuk dan diayak dengan ayakan nomor 40.

**3.3. Ketiga,** ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun sirih (*Piper betle* L) merupakan ekstrak yang diperoleh dari daun sirsak dan daun sirih yang diekstraksi dengan pelarut etanol menggunakan metode maserasi.

**3.4. Keempat,** sediaan krim ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun sirih (*Piper betle* L.) merupakan sediaan semi padat yang dibuat dengan mencampurkan atau mengkombinasikan ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dalam krim tipe minyak terdispersi dalam air (m/a).

**3.5. Kelima,** hewan uji yang digunakan adalah kelinci jantan putih (New Zealand White) berumur  $\pm$  3-5 bulan, berat kelinci 3-5 kg dan kulit kelinci adalah pada bagian punggung kelinci yang telah dicukur.

**3.6. Keenam,** bakteri uji pada penelitian ini digunakan bakteri gram positif *Staphylococcus epidermidis* yang diperoleh dari Balai Laboratorium Kesehatan Yogyakarta.

**3.7. Ketujuh,** pengujian aktivitas antibakteri menggunakan punggung kelinci yang telah dicukur dan diinduksi *Staphylococcus epidermidis* secara subkutan per 0,25 mL pada 6 lokasi (a, b, c, d, e, f, g), lalu ditutup dengan perban steril dibiarkan 24-48 jam sampai terjadi jerawat. Tahap selanjutnya setelah jerawat terbentuk, pada daerah a dioleskan krim formula 1 yang hanya basis krimnya saja pada daerah yang diinduksi bakteri, daerah b dioleskan krim formula 2 yaitu krim dengan dosis tunggal ekstrak daun sirsak dengan konsentrasi sebesar 2,5 g, daerah c dioleskan krim formula 3 yaitu krim dengan dosis tunggal daun sirih dengan konsentrasi sebesar 1,0 g, daerah d diolesi krim formula 4 dengan perbandingan ekstrak daun sirsak dan daun sirih sebesar 1,25 g : 0,5 g, daerah e dioleskan krim formula 5 dengan perbandingan konsentrasi antara ekstrak daun sirsak dan daun sirih sebesar 2,5 g : 0,5 g, daerah f dioleskan krim formula 6 dengan perbandingan konsentrasi antara ekstrak daun sirsak dan daun sirih sebesar 1,25 g : 1,0 g, lalu kulit punggung kelinci tersebut dibalut dengan perban steril untuk mencegah kontaminasi. Pengolesan krim dilakukan selama 2 kali sehari (pagi dan sore) hingga jerawat sembuh yang ditandai dengan hilangnya jerawat dan nanah.

**3.8. Kedelapan,** kesembuhan merupakan proses sembuhnya kelinci dari hilangnya papul, tidak terbentuknya lesi dan tidak adanya bakteri *Staphylococcus epidermidis* pada kulit punggung kelinci.

**3.9. Kesembilan,** jumlah bakteri adalah perhitungan bakteri *Staphylococcus epidermidis* menggunakan metode *Plate Count*. Tahap pengenceran dimulai dari membuat larutan sampel sebanyak 10 ml, yaitu bakteri *Staphylococcus epidermidis* dari lesi pada punggung kelinci diambil dengan kapas lidi steril kemudian diencerkan dalam tabung reaksi yang berisi 1 ml NaCl 0,9%

(air fisiologis), dilanjutkan dengan pengambilan 1 ml dari campuran tadi kemudian dicampurkan dengan 9 ml NaCl, selanjutnya diambil 1 ml dari hasil pencampuran kemudian dituang pada medium *Blood Agar Plate* dan diinkubasi 24-48 jam pada suhu 37 °C. Setelah diinkubasi, jumlah koloni yang tumbuh dihitung dan merupakan perkiraan atau dugaan dari jumlah bakteri dalam suspensi tersebut.

### C. Alat dan Bahan

#### 1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah meliputi neraca analitik, oven, blender, cawan petri, tabung reaksi, jarum ose, kapas lidi steril, pembakar spiritus, pipet volum, pipet tetes, gelas ukur, batang pengaduk, mortir, erlenmeyer, kertas saring, corong kaca, deglas, kaca obyek, sudep, incubator, spuit injeksi, *vacum rotary evaporator*, viskosimeter, pH *stick*, alat uji daya sebar krim, alat uji daya lekat krim, *waterbath*.

#### 2. Bahan

**2.1. Bahan Sampel**, bahan sampel adalah daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun sirih (*Piper betle* L.) yang diperoleh dari Wonogiri, Jawa Tengah.

**2.2. Hewan Uji**, hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah kelinci putih jantan (New Zealand White) berumur  $\pm$  3-5 bulan, berat kelinci 3-5 kg.

**2.3. Bakteri Uji**, bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Staphylococcus epidermidis* yang diperoleh dari Balai Laboratorium Kesehatan Yogyakarta.

**2.4. Media bakteri**, media yang digunakan pada penelitian ini adalah *Vogel Johnson Agar* (VJA).

**2.5. Bahan-Bahan Lain**, pelarut etanol 70%, kertas saring whatman 41, acid stearin, glycerin, natrium baborat, trietanolamin, nipagin, aqua dest, *aluminium foil*, kertas saring, *tissue*, NaCl 0,9%, larutan asam klorida, amil

alkohol, larutan besi (III) klorida 1%, larutan asam sulfat pekat, larutan asam asetat, aquades, dan alkohol 70%.

## **D. Jalannya Penelitian**

### **1. Determinasi dan identifikasi tanaman**

Langkah pertama penelitian ini adalah dengan menetapkan kebenaran bahwa kombinasi ekstrak daun sirih (Annona muricata L.) dan daun sirih (Piper betle L) dengan mencocokkan ciri-ciri morfologi yang ada pada daun sirih dan daun sirih terhadap pustaka yang dibuktikan di Laboratorium Morfologi Sistematis Tumbuhan Universitas Setia Budi di Surakarta.

### **2. Pengambilan dan pengeringan bahan**

Kombinasi ekstrak daun sirih (Annona muricata L.) dan daun sirih (Piper betle L) diambil secara keseluruhan dari daerah Wonogiri, Jawa Tengah, dengan ciri-ciri daun hijau segar yang tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda serta terbebas dari hama kemudian dibersihkan dengan air dari kotoran dan cemaran lalu dikeringkan dengan oven pada suhu 30°-40° C.

### **3. Pembuatan serbuk**

Daun sirih dan daun sirih yang telah dibersihkan dengan air dari kotoran dan cemaran lalu dikeringkan dengan oven pada suhu 30°-40°C, setelah kering daun sirih dan daun sirih diserbuk dengan alat penyerbuk, kemudian diayak dengan menggunakan ayakan nomor 40 sampai serbuk terayak habis. Hasil penyerbukan yang berupa serbuk kering disimpan dalam wadah kering dan tertutup rapat, kemudian dilakukan prosentase bobot kering terhadap bobot basah.

### **4. Identifikasi serbuk**

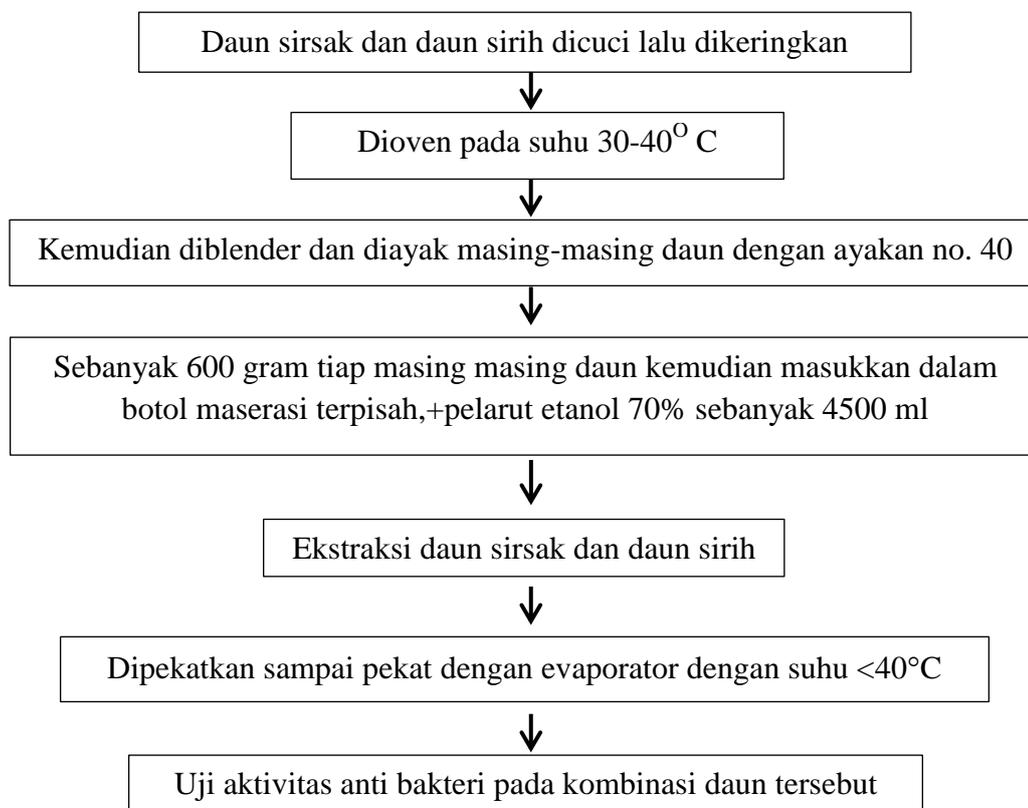
**4.1. Pemeriksaan Organoleptis Serbuk.** Kombinasi ekstrak daun sirih (Annona muricata L.) dan daun sirih (Piper betle L) secara organoleptis meliputi bentuk, warna dan bau dari serbuk daun kombinasi ekstrak daun sirih (Annona muricata L.) dan daun sirih (Piper betle L).

**4.2. Penetapan Susut Pengeringan.** Susut pengeringan diukur dengan menggunakan alat *Moisture Balance*, yaitu serbuk daun sirih dan daun sirih masing-masing ditimbang sebanyak 2 gram, lalu dimasukkan kedalam alat

*Moisture Balance*, ditunggu hingga alat mengeluarkan tanda dan hasil (%). Susut pengeringan simplisia yang tidak mengandung minyak atsiri diidentikkan dengan kadar air, yaitu kandungan air karena simplisia berada di atmosfer dan lingkungan terbuka sehingga dipengaruhi oleh kelembaban lingkungan penyimpanan. Kadar air sediaan herbal tidak boleh  $\geq 10\%$  (Depkes 1995).

## 5. Pembuatan ekstrak

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70% selama 5 hari. Prosedur pembuatan ekstrak yaitu, serbuk daun sirsak dan daun sirih ditimbang sebanyak 600 gram tiap masing masing daun kemudian dimasukkan kedalam botol maserasi yang terpisah, ditambah pelarut etanol 70% sebanyak 4500 ml pada masing-masing botol, lalu ditutup dan dibiarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya sambil sesekali digojog. Hasil maserasi disaring dengan kain flannel, kemudian dipekatkan dengan cara di evaporasi pada suhu dibawah  $40^{\circ}\text{C}$  sampai diperoleh ekstrak yang kental.



**Gambar 2.** Skema pembuatan ekstrak etanol 70% daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun sirih (*Piper betle* L.)

## 6. Identifikasi kandungan senyawa kimia

Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun sirih (*Piper betle* L.) dimaksudkan untuk menetapkan kebenaran kandungan kimia yaitu flavonoid, tanin dan saponin yang terkandung dalam serbuk dan kombinasi ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun sirih (*Piper betle* L.) dan dibuktikan di Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

**6.1. Penyiapan sampel.** Sebanyak 100-200 mg tiap masing-masing serbuk dan ekstrak daun sirsak dan daun sirih ditambah 100 mL air panas kemudian dididihkan selama 15 menit dan disaring. Filtrat yang diperoleh kemudian diberi label larutan A dan B, lalu diidentifikasi kandungan kimianya (Depkes 1995).

**6.2. Identifikasi flavonoid.** sebanyak 5 mL larutan A dan B dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 0,1 g serbuk Mg, 2 mL larutan alkohol, asam klorida dan pelarut amil alkohol dengan perbandingan (1:1). Campuran dikocok kuat-kuat kemudian dibiarkan memisah. Reaksi positif ditunjukkan dengan adanya warna merah atau kuning jingga pada lapisan amil alkohol (Depkes 1995).

**6.3. Identifikasi tanin.** Sebanyak 5 mL larutan A dan B dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambah pereaksi besi (III) klorida 1%. Reaksi positif akan ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau kehitaman (Depkes 1995).

**6.4. Identifikasi saponin.** Sebanyak 5 mL larutan A dan B yang dilarutkan dalam air hangat, dikocok vertikal selama 10 detik kemudian dibiarkan selama 10 detik. Pembentukan busa setinggi 1-10 cm yang stabil selama tidak kurang dari 10 menit, menunjukkan adanya saponin, dan jika ditambahkan 1 tetes HCl 2 N, busa tidak hilang (Depkes 1995).

## 7. Uji bebas etanol

Sejumlah ekstrak ditambah dengan asam sulfat pekat ( $H_2SO_4$ ) dan ditambah dengan asam asetat ( $CH_3COOH$ ) lalu dipanaskan. Ekstrak dinyatakan bebas etanol jika tidak tercium bau ester yang khas.

## 8. Pembuatan krim

Pembuatan krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) menggunakan basis krim minyak terdispersi dalam air (M/A) yaitu basis vanishing krim. Berikut ini adalah formulasi yang digunakan untuk membuat sediaan krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan ekstrak etanol daun sirih.

**Tabel 2. Formulasi krim**

Komposisi	F1	F2	F3	F4	F5	F6
Ekstrak daun sirsak (g)	-	2,5	-	1,25	2,5	1,25
Ekstrak daun sirih (g)	-	-	1,0	0,5	0,5	1,0
Acid stearin (g)	20,83	20,83	20,83	20,83	20,83	20,83
Glycerin (g)	14,67	14,67	14,67	14,67	14,67	14,67
Natr. Biborat (g)	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37
Triethanolamin (g)	1,47	1,47	1,47	1,47	1,47	1,47
Nipagin (g)	0,13	0,13	0,13	0,13	0,13	0,13
Aq. dest. (g)	Ad. 100					

**Keterangan : F1 = Formula 1, F2 = Formula 2, F3 = Formula 3, F4= Formula 4, F5 = Formula 5, F6 = Formula 6**

Pembuatan krim kombinasi dimulai dengan sterilisasi peralatan yang digunakan dengan autoklaf suhu 115°-116°C selama 30 menit. Basis krim ditimbang pada cawan porselain menggunakan neraca analitik, setelah itu basis disterilisasi dengan oven suhu 150°C selama 1 jam. Basis krim dipanaskan lalu diaduk sampai dingin kemudian ditimbang lagi sesuai kebutuhan lalu dicampur dengan ekstrak daun sirsak dan daun sirih dengan perbandingan konsentrasi seperti yang tertera pada tabel 2 dan diaduk sampai homogen dengan menggunakan lumpang dan alu panas. Sediaan krim yang telah dibuat lalu dimasukkan ke dalam pot krim yang sudah disterilisasi terlebih dahulu.

## 9. Pengujian sediaan krim

Pengujian sediaan krim kombinasi ekstrak daun sirsak dan daun sirih meliputi uji organoleptik, homogenitas selama penyimpanan. Waktu yang digunakan dalam pengamatan organoleptis dan homogenitas ini selama 21 hari dan dilakukan tiap 7 hari sekali.

**9.1. Uji organoleptik.** Pengujian organoleptik dilakukan pada sediaan krim kombinasi ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun sirih (*Piper betle* L.) yang sudah dibuat, untuk melihat secara visual penampilan fisik

dari sediaan krim yang dibuat. Uji ini dilakukan dengan mengamati sediaan krim dari bentuk, bau, dan warna sediaan (Anief 1998).

**9.2. Uji homogenitas.** Krim kombinasi ekstrak daun sirih dan daun sirih yang sudah dibuat lalu diamati homogenitasnya dengan cara mengoleskan sebanyak 0,5 gram sediaan krim pada objek glass, diambil sediaan pada bagian atas, tengah dan bawah. Pengujian ini dilakukan untuk melihat secara fisik mengenai keseragaman bentuk krim. Kemudian diamati secara visual. Sediaan krim dikatakan homogen apabila tidak terdapat gumpalan atau butiran kasar pada tiap tiap bagian. Susunan partikel-partikel tidak ada yang menggumpal atau tidak tercampur (Depkes 1979).

**9.3. Uji pH.** Sebanyak 0,5 gram krim kombinasi ekstrak daun sirih dan daun sirih diencerkan dengan 5 ml aquades, kemudian pH stik dicelupkan selama 1 menit. Perubahan warna yang terjadi pada pH stik menunjukkan nilai pH yang dicocokkan dengan pH meter.

**9.4. Viskositas.** Viskositas sediaan krim kombinasi ekstrak daun sirih dan daun sirih (*Annona muricata* L.) dan daun sirih (*Piper betle* L) diuji dengan menggunakan alat viskometer. Viskometer dipasang pada klemnya dengan arah horizontal atau tegak lurus dengan arah klem. Rotor dipasang pada viskometer dengan menguncinya berlawanan dengan arah jarum jam. Sampel dimasukkan kedalam mangkuk dan tempatkan rotar tepat ditengah mangkuk, kemudian alat dihidupkan. Kekentalan yang di dapat di catat setelah jarum pada viskositas stabil.

**9.5. Uji daya sebar krim.** Krim kombinasi ekstrak daun sirih dan daun sirih (*Annona muricata* L.) dan daun sirih (*Piper betle* L) yang sudah dibuat, ditimbang sebanyak 0,5 gram diletakkan diatas kaca bulat yang berdiameter 15 cm, kaca lainnya diletakkan diatasnya dan dibiarkan selama 1 menit. Diameter sebar krim diukur. Setelah itu, ditambahkan 100 gram beban tambahan dan didiamkan selama 1 menit lalu diukur diameter yang konstan.

**9.6. Uji daya lekat krim.** Uji ini dilakukan dengan alat tes daya melekat krim. Dua objek glass, *stopwatch*, anak timbangan gram dan dilakukan dengan cara melekatkan krim secukupnya di atas objek glass yang lain di atas krim tersebut kemudian ditekan dengan beban 0,5 kg selama 5 menit kemudian

pasang objek glass pada alat tes setelah itu lepaskan beban seberat 80 gram dan dicatat waktunya hingga kedua objek tersebut terlepas diulangi cara di atas pada setiap formula masing-masing 3 kali. Pengujian pertama dilakukan pada hari sediaan krim dibuat. Sediaan krim kemudian disimpan selama satu minggu dan diuji lagi daya lekatnya, begitu seterusnya setiap minggu selama satu bulan. Pengujian terhadap daya lekat dilakukan untuk mengetahui kemampuan krim melekat pada kulit (Voigt 1994).

#### **4. Proses peremajaan bakteri uji (*Staphylococcus epidermidis*)**

Bakteri uji ditumbuhkan pada media *Nutrient Agar* (NA) dengan cara menggoreskan bakteri dari biakan murni menggunakan jarum ose pada permukaan agar miring. Bakteri yang sudah digoreskan pada media kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Aziz, 2010).

#### **5. Identifikasi bakteri uji**

Identifikasi umum dilakukan dengan pewarnaan gram dengan cara bakteri uji difiksasi dan diwarnai dengan kristal violet dan didiamkan selama 5 menit. Zat warna dibuang dan diganti dengan larutan *lugol's iodine* (larutan I + KI) dibiarkan selama 45 – 60 detik. Larutan *lugol's iodine* dibuang dan sediaan dicuci dengan alkohol 96% selama 30 detik atau digoyang-goyangkan sampai tidak ada zat warna yang mengalir lagi. Sediaan dicuci dengan air dan diwarnai dengan air fukhsin selama 1-2 menit. Sediaan dicuci, dikeringkan dan diperiksa di bawah mikroskop. Bakteri gram positif akan tampak berwarna ungu dan bakteri gram negatif berwarna merah (Wahdaningsih 2014).

Identifikasi khusus dilakukan dengan cara bakteri uji dari media peremajaan diambil dengan ose steril kemudian digoreskan pada permukaan media *Vogel Johnson Agar* (VJA) untuk mengetahui morfologi koloni dan kemurniannya lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Wahdaningsih 2014).

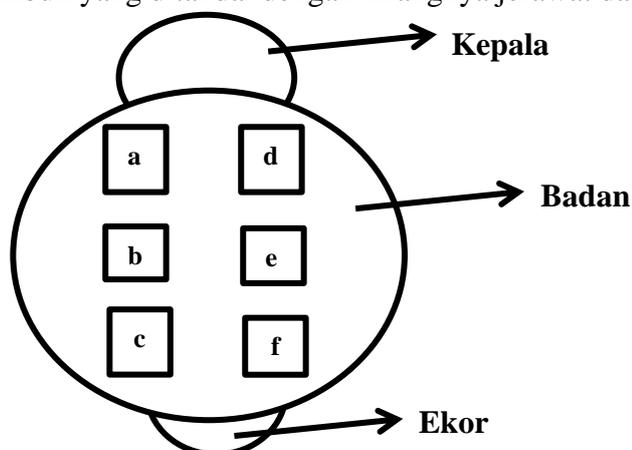
#### **6. Penyiapan hewan uji**

Hewan uji kelinci jantan putih sebanyak 6 ekor dengan umur  $\pm$  3-5 bulan dengan berat  $\pm$ 3-5 kg. Sebelum diperlakukan, kelinci diaklimatisasi dengan lingkungan tempat penelitian selama 7 hari dengan maksud agar hewan uji

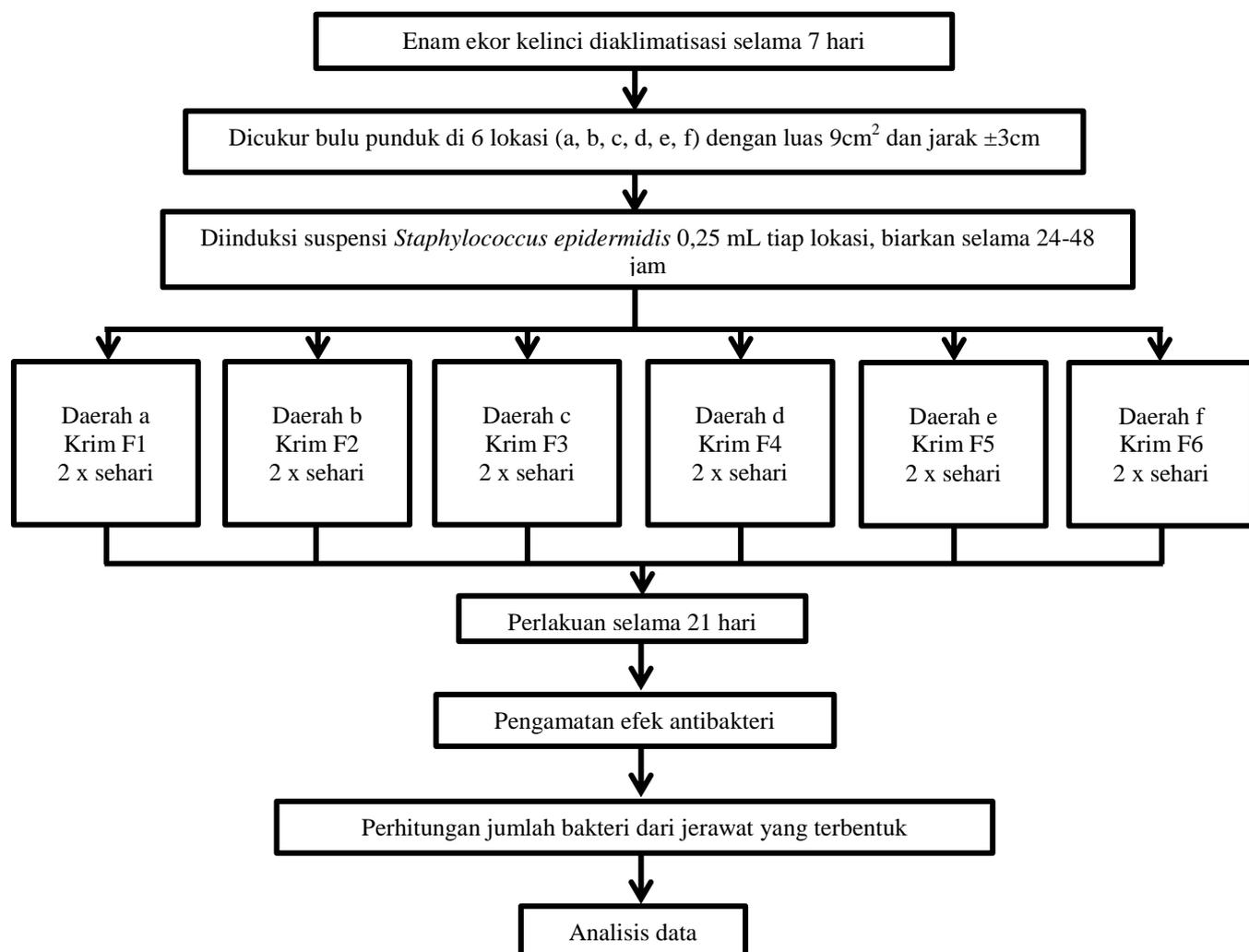
tersebut terbiasa dengan lingkungan dan perlakuan yang baru. Hewan uji di tempatkan dalam kandang dan diberi makan dan minum yang cukup untuk setiap harinya.

### 7. Pengujian efek antibakteri

Enam ekor kelinci yang telah diaklimatisasi, kemudian masing-masing dicukur bulu pada bagian punduknya di 6 lokasi (a, b, c, d, e, f) yang berbeda dengan luas area  $9\text{ cm}^2$  yang dicukur di masing-masing lokasi dengan jarak  $\pm 3\text{ cm}$  dengan seperti tampak pada Gambar 2. Kulit kelinci pada tiap lokasi diinduksi 0,25 mL suspensi bakteri *Staphylococcus epidermidis* secara subkutan dan diamati selama 24-48 jam untuk melihat terjadinya jerawat, selanjutnya setelah jerawat terbentuk, pada daerah a dioleskan krim formula 1 yang hanya basis krimnya saja pada daerah yang diinduksi bakteri, daerah b dioleskan krim formula 2 yaitu krim dengan dosis tunggal ekstrak daun sirsak dengan konsentrasi sebesar 2,5 g, daerah c dioleskan krim formula 3 yaitu krim dengan dosis tunggal daun sirih dengan konsentrasi sebesar 1,0 g, daerah d diolesi krim formula 4 dengan perbandingan ekstrak daun sirsak dan daun sirih sebesar 1,25 g : 0,5 g, daerah e dioleskan krim formula 5 dengan perbandingan konsentrasi antara ekstrak daun sirsak dan daun sirih sebesar 2,5 g : 0,5 g, daerah f dioleskan krim formula 6 dengan perbandingan konsentrasi antara ekstrak daun sirsak dan daun sirih sebesar 1,25 g : 1,0 g, lalu kulit punggung kelinci tersebut dibalut dengan perban steril untuk mencegah kontaminasi. Pengolesan krim dilakukan selama 2 kali sehari (pagi dan sore) hingga jerawat sembuh yang ditandai dengan hilangnya jerawat dan nanah.



Gambar 3. Lokasi bagian punggung kelinci yang diberi perlakuan



Gambar 4. Skema pengujian efek antibakteri

## 8. Pengamatan pengujian efek antibakteri

Pengamatan secara makroskopis dilakukan dengan cara mengamati lamanya penyembuhan infeksi *Staphylococcus epidermidis* yang diinfeksi pada kulit punggung kelinci setelah pemberian krim, kemudian dianalisa di Laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta. Parameter yang diamati adalah lamanya penyembuhan yang dinyatakan dengan hilangnya lesi dan jerawat.

## 9. Perhitungan jumlah bakteri dari jerawat yang terbentuk

Perhitungan bakteri *Staphylococcus epidermidis* menggunakan metode *Plate Count*. Tahap pengenceran dimulai dari membuat larutan sampel sebanyak 10 mL, yaitu bakteri *Staphylococcus epidermidis* dari jerawat pada punggung

kelinci diambil dengan kapas lidi steril kemudian diencerkan dalam tabung reaksi yang berisi 10ml NaCl 0,9% (air fisiologis), dilanjutkan dengan pengenceran bertingkat dengan cara diambil 1 ml dari campuran tadi kemudian dicampurkan dengan 9ml NaCl, lalu diambil lagi 1ml dari hasil pencampuran kemudian dicampurkan dengan 9ml NaCl setelah itu diambil 1 ml dari hasil pencampuran kemudian dan dicampur lagi dengan 9ml NaCl, selanjutnya 1ml campuran yang terakhir dituang pada medium *Vogel Johnson Agar* (VJA) dan diinkubasi 24-48 jam pada suhu 37°C. Setelah diinkubasi, jumlah koloni yang tumbuh dihitung dan merupakan perkiraan atau dugaan dari jumlah bakteri dalam suspensi tersebut.

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **A. Hasil Determinasi Tanaman**

Determinasi tanaman sirsak dan sirih dilakukan di Laboratorium Morfologi Sistematis Tumbuhan Universitas Setia Budi untuk mengetahui kebenaran tanaman yang digunakan dalam penelitian ini, serta untuk menghindari kesalahan dalam mengumpulkan bahan serta kemungkinan tercampurnya bahan dengan tanaman selain sirsak dan sirih. Hasil determinasi yang telah peneliti lakukan, dinyatakan bahwa sampel daun yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun sirih (*Piper betle* L.).

Hasil determinasi (Berdasarkan Lampiran 1) untuk daun sirsak (*Annona muricata* L.) berdasarkan Steenis : 1b – 2b – 3b – 4b – 6b – 7b – 9b – 10b – 11b – 12b – 13b – 15a. golongan 8. 109b – 119b – 120b – 128b – 129b – 135b – 136b – 139b – 140b – 142b – 143b – 146b – 154b – 155b – 156a – 162b – 163a – 164b – 165b – 166a. familia 50. Annonaceae. 1b – 2. Annona. 1a. ***Annona muricata***. Hasil determinasi daun sirsak dapat dilihat pada lampiran 1.

Deskripsi daun sirsak (*Annona muricata* L.) berdasarkan hasil determinasi menunjukkan bahwa daun tunggal, bangun bulat memanjang sampai bulat telur terbalik, ujung meruncing pendek, pangkal tumpul, tepi rata, tulang daun menyirip, seperti kulit, panjang 12,3 – 13,2 cm, permukaan atas hijau tua dan mengkilat, permukaan bawah hijau muda, tangkai pendek.

Hasil determinasi (Berdasarkan Lampiran 2) untuk daun sirih (*Piper betle* L.) berdasarkan Steenis : 1a – 2b – 3b – 4b – 6b – 7b – 9a. golongan 4. 41b – 42b – 43b – 54b – 59b – 61b – 62b – 63a – 64a. familia 37. 1a. ***Piper betle* L.** Hasil determinasi daun sirih dapat dilihat pada lampiran 2.

Deskripsi daun sirih (*Piper betle* L.) berdasarkan hasil determinasi menunjukkan bahwa daun tunggal, duduk daun berseling atau tersebar, herbaceous, daun penumpu cepat rontok dan meninggalkan tanda bekas berbentuk cincin. Helai daun bulat telur sampai memanjang, pangkal bentuk jantung, ujung

meruncing, tulang daun menjari, panjang 4,5 – 5,7 cm, permukaan atas berwarna hijau tua, permukaan bawah hijau muda, berbau aromatis.

Determinasi dilakukan untuk mencocokkan ciri morfologi tanaman sirsak (*Annona muricata* L.) dan tanaman sirih (*Piper betle* L.) dengan pustaka. Hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 1 dan 2.

## **B. Hasil Pembuatan Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dan Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.)**

### **1. Pengumpulan bahan**

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun sirih (*Piper betle* L.) dengan ciri-ciri untuk daun sirsak yaitu daun yang tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua, berwarna hijau tua mengkilat pada permukaan atasnya dan hijau muda pada permukaan bawah daunnya, dengan kondisi yang masih segar dan bebas dari hama penyakit. Ciri-ciri daun sirih hijau yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun yang tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda, warna permukaan atas daun hijau tua dan permukaan bawah hijau muda, dengan kondisi daun yang masih segar dan bebas dari hama penyakit, serta berbau aromatis khas tanaman sirih hijau. Daun diambil dari Kelurahan Giritirto, Kecamatan Wonogiri, Kabupaten Wonogiri, Jawa Tengah. Daun sirsak dan daun sirih yang digunakan dalam penelitian ini masing-masing sebanyak 5 kg.

### **2. Pembuatan dan identifikasi serbuk daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun sirih (*Piper betle* L.)**

Daun sirsak dan daun sirih yang diperoleh lalu dibersihkan dan kemudian dikeringkan dengan oven suhu 50°C dengan tujuan untuk mengawetkan simplisia, sehingga dapat digunakan dalam jangka waktu yang lama. Bahan yang telah kering kemudian diserbuk lalu diayak dengan ayakan no. 40. Serbuk yang telah diayak kemudian diidentifikasi secara organoleptis dan ditimbang masing-masing sebanyak 600 gram untuk digunakan dalam proses maserasi. Hasil prosentase bobot kering terhadap bobot basah daun sirsak dan daun sirih dapat dilihat pada tabel 3 berikut ini.

**Tabel 3. Rendemen bobot kering terhadap bobot basah daun sirsak dan daun sirih**

Bahan	Bobot Basah (gram)	Bobot Kering (gram)	Rendemen (%b/b)
Daun sirsak	5000	1500	30
Daunsirih	5000	1250	25

Identifikasi serbuk dilakukan dengan cara makroskopis, yaitu dengan pemeriksaan organoleptis. Identifikasi ini dilakukan untuk mengetahui sifat fisik serbuk daun sirsak dan daun sirih yang berupa bentuk, bau, warna dan rasa. Hasil pemeriksaan dapat dilihat pada tabel 4 di bawah ini.

**Tabel 4. Hasil identifikasi organoleptis serbuk daun sirsak dan daun sirih**

Identifikasi organoleptis	Daun sirsak	Daun sirih
Bentuk	Serbuk	Serbuk
Bau	Khas	Khas
Warna	Hijau tua	Hijau kehitaman
Rasa	Pahit	Pahit

### 3. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun sirih (*Piper betle* L.)

Penetapan susut pengeringan serbuk daun sirsak dan daun sirih dilakukan dengan menggunakan alat *Moisture Balance* dengan suhu 105<sup>0</sup>C ditunggu sampai alat menunjukkan tanda dan hasil dalam satuan persen (%). Hasil penetapan susut pengeringan daun sirsak dan daun sirih dapat dilihat pada tabel 5 dan tabel 6 berikut ini.

**Tabel 5. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun sirsak**

No	Berat awal (gram)	Berat akhir (gram)	Susut pengeringan (%)
1	2,00	1,90	8,1
2	2,00	1,92	8,7
3	2,00	1,92	8,9
Rata-rata			8,57%

**Tabel 6. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun sirih**

No	Berat awal (gram)	Berat akhir (gram)	Susut pengeringan (%)
1	2,00	1,85	8,4
2	2,00	1,85	8,9
3	2,00	1,82	8,6
Rata-rata			8,63%

Hasil penetapan susut pengeringan kedua daun menunjukkan nilai di bawah 10% yang berarti telah memenuhi syarat, serta untuk mencegah terjadinya reaksi enzimatik yang dapat menyebabkan pembusukan pada serbuk akibat bakteri dan jamur, serta mencegah perubahan kimiawi yang dapat menurunkan kualitas serbuk. Tujuan lain penetapan susut kering ini adalah untuk mengetahui kadar air yang terkandung dalam serbuk daun sirsak dan daun sirih, proses

ekstraksi dapat berjalan cepat terutama pada saat evaporasi atau pemekatan ekstrak.

#### **4. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun sirih (*Piper betle* L.)**

Ekstrak etanol 70% daun sirsak dan daun sirih dibuat dengan metode maserasi. Pembuatan ekstrak yang pertama kali dilakukan adalah dengan menimbang serbuk daun sirsak dan daun sirih masing-masing sebanyak 600 gram, kemudian serbuk tersebut dimasukkan ke dalam botol maserasi dan ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 4500 ml (1:7,5) dan dimaserasi selama 5 hari dengan digojog selama 15 menit sekali sehari. Hasil maserasi kemudian disaring menggunakan kain flanel dan dipekatkan dengan evaporator dengan suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak yang kental. Hasil pembuatan ekstrak etanol 70% daun sirsak dan daun sirih dapat dilihat pada tabel 7.

**Tabel 7. Hasil rendemen ekstrak etanol 70% daun sirsak dan daun sirih**

<b>Daun</b>	<b>Berat serbuk (gram)</b>	<b>Berat ekstrak (gram)</b>	<b>Rendemen (%b/b)</b>
Sirsak	600	153,6	25,6%
Sirih	600	115,2	19,2%

Serbuk daun sirsak dan daun sirih yang dimaserasi dengan pelarut etanol 70% diperoleh berat ekstrak kental sebanyak 153,6 untuk daun sirsak dan 115,2 gram untuk daun sirih dan diperoleh hasil rendemen sebesar 25,6% untuk ekstrak etanol daun sirsak dan 19,2% untuk ekstrak etanol daun sirih, sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun sirih lebih pekat dibandingkan ekstrak etano daun sirsak. Perbedaan kepekatan ekstrak ini kemungkinan disebabkan karena morfologi daun sirih yang memiliki ketebalan yang lebih tipis daripada daun sirsak. Perhitungan prosentasi rendemen ekstrak etanol 70% daun sirsak dan daun sirih dapat dilihat pada lampiran 7.

#### **5. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun sirih (*Piper betle* L.)**

Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak daun sirsak dan daun sirih dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam daun sirsak dan daun sirih dalam bentuk serbuk maupun ekstraknya. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia dapat dilihat pada tabel 8 berikut ini.

**Tabel 8. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak daun sirih dan daun sirsak**

Kandungan Senyawa Kimia	Hasil		Pustaka	Intrepetasi Hasil	
	Serbuk	Ekstrak		Serbuk	Ekstrak
Flavonoid	Terbentuk warna kuning jingga pada lapisan amil alkohol	Terbentuk warna kuning jingga pada lapisan amil alkohol	Reaksi positif jika ada warna merah atau kuning jingga pada lapisan amil alkohol (Depkes, 1995)	(+) Mengandung flavonoid	(+) Mengandung flavonoid
Tanin	Terbentuk warna hijau kehitaman	Terbentuk warna hijau kehitaman	Reaksi positif jika terbentuknya warna hijau kehitaman (Depkes, 1995).	(+) Mengandung tanin	(+) Mengandung tanin
Saponin	Terbentuk busa <10 menit + HCl 2N busa tidak hilang	Terbentuk busa <10 menit + HCl 2N busa tidak hilang	Ada busa <10 menit + 1 tetes HCl 2 N, busa tidak hilang (Depkes, 1995).	(+) Mengandung saponin	(+) Mengandung saponin

Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak daun sirsak dan daun sirih disimpulkan bahwa kedua daun mengandung senyawa kimia golongan flavonoid, tanin dan saponin yang memiliki aktivitas antibakteri.

#### **6. Hasil uji bebas etanol pada ekstrak daun sirsak (*Annona muricata L.*) dan daun sirih (*Piper betle L.*)**

Ekstrak etanol 70% daun sirsak dan daun sirih dilakukan uji bebas etanol dengan melakukan uji esterifikasi. Tujuan dilakukannya uji ini adalah untuk mengetahui masih ada atau tidaknya pelarut dalam ekstrak, jika masih terdapat pelarut maka tidak dapat dibuat dalam bentuk sediaan krim karena akan mempengaruhi stabilitas krim yang akan dibuat. Ekstrak dinyatakan bebas etanol jika tidak tercium bau ester yang khas. Hasil pengujian dapat dilihat pada tabel 9 di bawah ini.

**Tabel 9. Hasil uji bebas etanol ekstrak daun sirsak dan daun sirih**

Simplisia	Uji bebas etanol	Hasil uji	Pustaka
Ekstrak daun sirsak	Ekstrak + H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> pekat + CH <sub>3</sub> COOH, dipanaskan	Tidak tercium bau ester yang khas	Tidak tercium bau ester yang khas
Ekstrak daun sirih	Ekstrak + H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> pekat + CH <sub>3</sub> COOH, dipanaskan	Tidak tercium bau ester yang khas	Tidak tercium bau ester yang khas

### C. Hasil Pembuatan Krim Kombinasi Ekstrak Etanol Daun (*Annona muricata* L.) sirsak dan Daun sirih (*Piper betle* L.)

#### 1. Pembuatan krim

Pembuatan krim kombinasi dimulai dengan sterilisasi peralatan yang digunakan dengan autoklaf suhu 115°-116°C selama 30 menit. Sterilisasi peralatan yang digunakan bertujuan agar krim yang dibuat nantinya tidak terkontaminasi mikroba patogen.

**Tabel 10. Formulasi sediaan krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun sirih (*Piper betle* L.)**

Komposisi	F1	F2	F3	F4	F5	F6
Ekstrak daun sirsak (g)	-	2,5	-	1,25	2,5	1,25
Ekstrak daun sirih (g)	-	-	1,0	0,5	0,5	1,0
Acid stearin (g)	20,83	20,83	20,83	20,83	20,83	20,83
Glycerin (g)	14,67	14,67	14,67	14,67	14,67	14,67
Natr. Biborat (g)	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37
Triaethanolamin (g)	1,47	1,47	1,47	1,47	1,47	1,47
Nipagin (g)	0,13	0,13	0,13	0,13	0,13	0,13
Aq. dest. (g)	Ad. 100					

**Keterangan : F1 = Formula 1, F2 = Formula 2, F3 = Formula 3, F4= Formula 4, F5 = Formula 5, F6 = Formula 6**

Sediaan krim dipilih basis *vanishing cream* yang merupakan basis krim dengan tipe minyak dalam air. Basis ini dipilih karena mudah dioleskan dan tidak berlemak, memiliki efek dingin, serta sifatnya yang lentur dan lembut.

Ekstrak yang ditambahkan pada pembuatan krim dilakukan dengan cara mencampur ekstrak dengan fase air (glycerin, natrium biborat, triaethanolamin) yang kemudian dipanaskan di atas *waterbath*. Nipagin (pengawet) ditambahkan dengan cara melarutkannya dengan aquadest terlebih dahulu, baru ditambahkan pada campuran fase air dan fase minyak (asam stearat) dalam mortir.

Bahan-bahan tersebut dapat membentuk sediaan krim karena mengalami reaksi saponifikasi (penyabunan) antara fase minyak dan fase air yang dibantu dengan emulgator (triaethanolamin) sehingga massa krim dapat terbentuk.

#### 2. Hasil pengujian organoleptis krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun sirih (*Piper betle* L.)

Pengujian ini dilakukan sebanyak empat kali, yaitu 2 hari setelah krim dibuat hingga pembuatan setelah 3 minggu, yang diamati adalah warna, bau dan konsistensi. Hasil dapat dilihat pada tabel 11 berikut ini.

**Tabel 11. Hasil pengujian organoleptis krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun sirih**

Pemeriksaan	Hari ke	F1	F2	F3	F4	F5	F6
Warna	2	Putih	KC	PH	KC	KC	KC
	7	Putih	KC	PH	KC	KC	KC
	14	Putih	KC	PH	KC	KC	KC
	21	Putih	KC	PH	KC	KC	KC
Bau	2	TB	Khas	Khas	Khas	Khas	Khas
	7	TB	Khas	Khas	Khas	Khas	Khas
	14	TB	Khas	Khas	Khas	Khas	Khas
	21	TB	Khas	Khas	Khas	Khas	Khas
Konsistensi	2	SP	SP	SP	SP	SP	SP
	7	SP	SP	SP	SP	SP	SP
	14	SP	SP	SP	SP	SP	SP
	21	SP	SP	SP	SP	SP	SP

**Keterangan :** Keterangan : F1 = Formula 1, F2 = Formula 2, F3 = Formula 3, F4= Formula 4, F5 = Formula 5, F6 = Formula 6, KC = kuning kecoklatan, PH = putih kehijauan, TB = tidak berbau, SP = semi padat

Hasil pengujian krim kombinasi ekstrak daun sirsak dan daun sirih menunjukkan warna, bau dan konsistensi yang sama dari hari ke-2 setelah pembuatan hingga hari ke-21. Warna yang berbeda ditunjukkan oleh krim formula 3 yang hanya ditambahkan ekstrak daun sirih, hal ini karena ekstrak daun sirih memiliki warna hijau, sedangkan pada krim formula 2, 4, 5, dan 6 warna yang mendominasi adalah warna dari ekstrak daun sirsak yaitu coklat. Pengujian organoleptis pada setiap formula menunjukkan hasil yang tetap stabil tidak ada perubahan. Kesimpulan dari hasil pengamatan adalah warna, bau, dan konsistensi stabil selama penyimpanan, serta penambahan ekstrak tidak mempengaruhi stabilitas basis krim yang digunakan, tetapi hanya mempengaruhi warna krim tersebut.

### **3. Hasil pengujian homogenitas sediaan krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun sirih (*Piper betle* L.)**

Pengujian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui homogenitas krim yang digunakan dalam penelitian ini. Pengujian ini dilakukan dengan observasi secara fisik mengenai keseragaman bentuk krim. Sediaan krim dikatakan homogen apabila tidak terdapat gumpalan atau butiran kasar pada tiap tiap bagian. Susunan partikel-partikel tidak ada yang menggumpal atau tidak

tercampur (Depkes, 1979). Hasil uji homogenitas dapat dilihat pada tabel 12 di bawah ini.

**Tabel 12. Hasil uji homogenitas krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan ekstrak etanol daun sirih**

Formula	Hari ke-2	Hari ke-7	Hari ke-14	Hari ke-21
Formula 1	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
Formula 2	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
Formula 3	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
Formula 4	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
Formula 5	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
Formula 6	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen

**Keterangan : Formula 1 = basis krim**

**Formula 2 = sirsak (25 mg/ml)**

**Formula 3 = sirih (10 mg/ml)**

**Formula 4 = sirsak (12,5 mg/ml) dan sirih (5 mg/ml)**

**Formula 5 = sirsak (12,5 mg/ml) dan sirih (10 mg/ml)**

**Formula 6 = sirsak (25 mg/ml) dan sirih (5 mg/ml)**

Hasil pengujian menunjukkan susunan yang homogen dari hari ke-2 setelah pembuatan sampai hari ke-21. Sediaan krim yang homogen mengindikasikan bahwa ketercampuran dari bahan krim dengan kombinasi ekstrak daun sirsak dan daun sirih sempurna, sehingga tidak didapatkan gumpalan atau butiran kasar pada sediaan. Sediaan krim yang homogen diharapkan tidak menimbulkan iritasi dan dapat terdistribusi merata ketika digunakan.

#### **4. Hasil pengujian pH krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun sirih (*Piper betle* L.)**

Pengujian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui pH krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan ekstrak etanol daun sirih dengan menggunakan pH stik.

**Tabel 13. Hasil pengujian pH krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan ekstrak etanol daun sirih**

Hari ke	pH					
	Formula 1	Formula 2	Formula 3	Formula 4	Formula 5	Formula 6
2	6	6	6	6	6	6
7	6	6	6	6	6	6
14	6	6	6	6	6	6
21	6	6	6	6	6	6

Hasil pengujian menunjukkan pH sediaan krim yang stabil tidak ada perubahan, hal ini dikarenakan tidak terjadi perubahan selama penyimpanan krim

tersebut, serta penambahan ekstrak juga tidak mempengaruhi pH. Nilai pH krim kombinasi sesuai dengan pH kulit (4,5-6,5), sehingga diharapkan dalam pemakaiannya krim tersebut tidak menjadikan kulit kering dan bersisik.

### 5. Hasil pengujian viskositas sediaan krim kombinasi ekstrak etanol daun sirisak (*Annona muricata* L.) dan daun sirih (*Piper betle* L.)

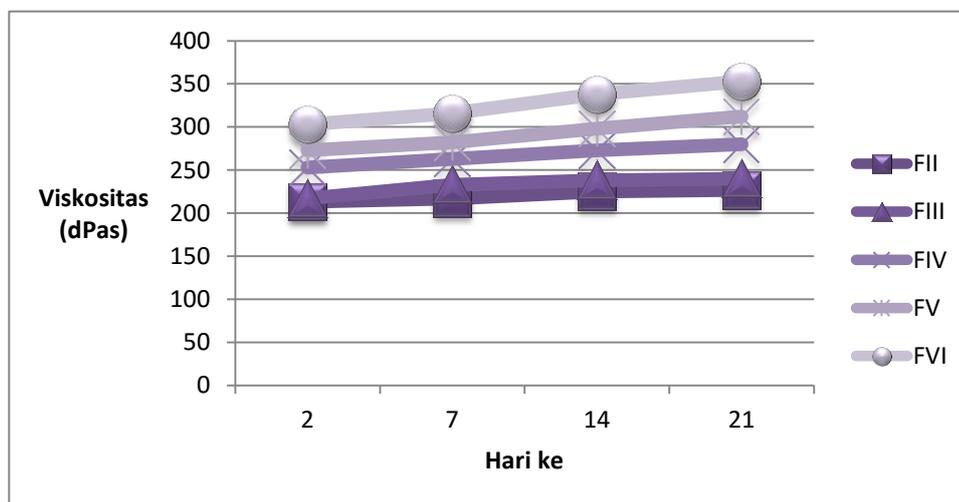
Pengujian ini dilakukan dengan menggunakan alat yang dinamakan viskosimeter. Tujuan dilakukannya pengujian ini adalah untuk mengetahui viskositas (kekentalan) krim yang digunakan dalam penelitian ini. Viskositas sangat berpengaruh terhadap efektifitas terapi yang diinginkan serta kenyamanan penggunaan sehingga tidak boleh terlalu kental dan terlalu encer. Formula krim yang diteliti mempunyai viskositas yang berbeda dengan enam kali replikasi. Hasil pengamatan uji viskositas dapat dilihat pada tabel 14 di bawah ini.

**Tabel 14. Hasil uji viskositas krim kombinasi ekstrak etanol daun sirisak dan ekstrak etanol daun sirih**

Hari ke	Rata-rata $\pm$ SD (dPas)				
	Formula 2	Formula 3	Formula 4	Formula 5	Formula 6
2	213,33 $\pm$ 5,77	216,67 $\pm$ 2,89	253,33 $\pm$ 5,77	273,33 $\pm$ 5,77	303,33 $\pm$ 5,77
7	216,67 $\pm$ 2,89	233,33 $\pm$ 2,89	263,33 $\pm$ 5,77	281,67 $\pm$ 2,88	316,67 $\pm$ 5,77
14	225,00 $\pm$ 5,00	238,33 $\pm$ 2,89	273,33 $\pm$ 5,77	298,33 $\pm$ 7,63	338,33 $\pm$ 2,88
21	226,67 $\pm$ 5,77	240,00 $\pm$ 5,00	280,00 $\pm$ 10,0	311,67 $\pm$ 2,88	353,33 $\pm$ 5,77

Data viskositas dari lima formula tersebut menunjukkan bahwa viskositas yang semakin meningkat atau dapat dikatakan krim semakin kental, hal ini dapat disebabkan karena penambahan ekstrak mempengaruhi viskositas krim, selain itu semakin lama penyimpanan krim mengalami proses pengentalan yang mungkin disebabkan juga oleh suhu penyimpanan. Viskositas pada formula 3 lebih besar dari formula 2, hal ini disebabkan karena formula 3 hanya mengandung ekstrak etanol sirih yang bersifat lebih pekat daripada ekstrak etanol sirisak yang ada pada krim formula 2, hal ini juga dibuktikan dengan viskositas krim formula 6 yang mengandung ekstrak etanol daun sirih lebih besar daripada ekstrak etanol daun sirisak pada formula 4 dan 5 dengan perbandingan sebesar 1,25 g ekstrak sirisak dan 1,0 g ekstrak sirih. Pengujian kemudian dilanjutkan uji statistik ANOVA dua jalan untuk mengetahui adanya perbedaan viskositas diantara kelima formula. Hasil uji ANOVA dua jalan menunjukkan terdapat pengaruh antar formula terhadap viskositas, waktu penyimpanan terhadap viskositas sediaan krim, hal ini

dapat dilihat dari nilai signifikan  $0,00 < 0,05$ , yang berarti terdapat perbedaan viskositas pada masing masing formula yang diakibatkan oleh penambahan ekstrak dalam jumlah yang berbeda.



**Gambar 5. Gambar. Kurva hasil uji viskositas krim kombinasi ekstrak daun sirsak dan daun sirih.**

Viskositas krim menunjukkan mudah tidaknya krim itu diambil atau dituangkan dalam wadah. Viskositas krim juga berpengaruh terhadap daya sebar dan daya lekat krim. Viskositas krim semakin besar, maka daya lekat semakin meningkat dan daya sebar akan semakin menurun, sedangkan jika krim tersebut memiliki viskositas yang kecil (encer) daya lekat krim akan menurun tetapi daya sebar krim akan semakin luas atau bertambah. Krim yang terlalu kental juga menimbulkan ketidaknyamanan saat dipakai, sedangkan krim yang terlalu encer dapat menyebabkan efektivitas penghantaran zat aktif turun.

#### **6. Hasil pengujian daya sebar krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.)**

Pengujian daya sebar krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan ekstrak etanol daun sirih ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui luas penyebaran krim pada permukaan kulit yang akan diobati. Daya sebar krim juga dapat dipengaruhi oleh viskositas, semakin besar viskositas krim maka daya sebar krim akan mengalami penurunan, dengan kata lain krim yang terlalu kental akan sulit bagi krim tersebut untuk menyebar pada permukaan kulit. Pengujian ini

dilakukan dengan penambahan beban secara bertahap. Hasil uji daya sebar dapat dilihat pada tabel 15 yang akan disajikan berikut ini.

**Tabel 15. Uji daya sebar krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun sirih**

Formula	Berat Beban (gram)	Rata-rata diameter penyebaran hari ke (cm ± SD)			
		2	7	14	21
Formula 2	Kaca (49,124)	2,47±0,25	2,17±0,11	2,23±0,06	1,83±0,06
	Kaca + 100	3,07±0,37	2,17±0,15	2,83±0,25	2,61±0,08
	Kaca + 200	4,23±0,11	3,97±0,11	3,97±0,06	2,48±0,08
Formula 3	Kaca (49,124)	2,27±0,15	2,07±0,11	1,87±0,06	1,65±0,08
	Kaca + 100	2,83±0,25	2,73±0,06	2,63±0,06	2,48±0,08
	Kaca + 200	4,03±0,15	3,57±0,06	3,73±0,06	3,08±0,10
Formula 4	Kaca (49,124)	1,97±0,05	1,80±0,00	1,63±0,05	1,43±0,05
	Kaca + 100	2,80±0,10	2,60±0,10	2,50±0,10	2,33±0,11
	Kaca + 200	3,93±0,05	3,73±0,05	3,60±0,10	3,53±0,05
Formula 5	Kaca (49,124)	1,67±0,05	1,53±0,05	1,40±0,00	1,30±0,10
	Kaca + 100	2,47±0,05	2,40±0,10	2,23±0,05	2,13±0,05
	Kaca + 200	3,63±0,05	3,43±0,05	3,37±0,11	3,17±0,05
Formula 6	Kaca (49,124)	1,57±0,11	1,50±0,10	1,43±0,05	1,33±0,05
	Kaca + 100	2,30±0,10	2,23±0,05	2,13±0,05	2,00±0,00
	Kaca + 200	3,20±0,10	3,03±0,05	2,93±0,05	2,87±0,05

Data uji daya sebar dari kelima formula tersebut menunjukkan daya sebar yang semakin menurun selama penyimpanan, hal ini dapat dipengaruhi oleh viskositas krim yang semakin kental selama penyimpanan, selain itu hal ini juga dipengaruhi oleh penambahan ekstrak yang mengakibatkan krim menjadi lebih kental sehingga daya sebar semakin menurun. Pengujian kemudian dilakukan uji ANOVA dua jalan untuk mengetahui adanya perbedaan daya sebar antara kelima formula. Hasil uji ANOVA dua jalan menunjukkan terdapat pengaruh antar formula terhadap daya sebar, waktu penyimpanan terhadap daya sebar sediaan krim, hal ini dapat dilihat dari nilai signifikan  $0,00 < 0,05$ , yang berarti terdapat perbedaan daya sebar pada masing-masing krim dan selama penyimpanannya juga mengalami perbedaan daya sebar. Hasil tersebut karena jumlah ekstrak yang ditambahkan berbeda-beda pada masing-masing krim yang mempengaruhi kekentalan krim serta perubahan viskositas selama penyimpanan juga mempengaruhi daya sebar krim. Daya sebar mempengaruhi kemampuan krim dalam penyebarannya di kulit, semakin stabil daya sebar maka distribusi

sediaan dan zat aktif dalam sediaan makin merata dan efektivitas penyembuhan semakin baik.

### 7. Hasil pengujian daya lekat krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan ekstrak etanol daun sirih

Tujuan dari pengujian ini adalah untuk mengetahui kemampuan melekatnya krim pada kulit. Kemampuan daya lekat krim merupakan salah satu syarat krim dapat diaplikasikan pada kulit. Tabel 16 berikut ini menunjukkan hasil uji daya lekat krim.

**Tabel 16. Hasil uji daya lekat krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun sirih**

Hari ke	Rata-rata $\pm$ SD dari uji daya lekat (detik)				
	Formula 2	Formula 3	Formula 4	Formula 5	Formula 6
2	106,67 $\pm$ 2,88	116,67 $\pm$ 2,88	125,67 $\pm$ 1,15	153,33 $\pm$ 2,88	184,33 $\pm$ 0,57
7	188,33 $\pm$ 2,51	128,00 $\pm$ 3,46	136,67 $\pm$ 1,52	169,33 $\pm$ 1,15	184,67 $\pm$ 0,57
14	126,00 $\pm$ 3,47	134,00 $\pm$ 3,46	143,67 $\pm$ 0,57	173 $\pm$ 1,00	185,87 $\pm$ 1,154
21	127,33 $\pm$ 4,04	143,66 $\pm$ 5,13	153,33 $\pm$ 2,08	178,67 $\pm$ 0,57	186 $\pm$ 1,00

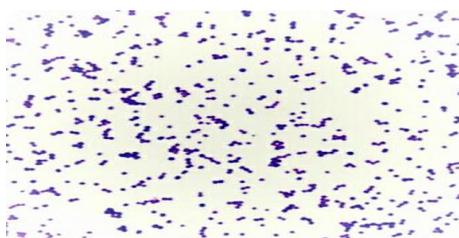
Uji daya lekat berpengaruh terhadap efektivitas krim tersebut dalam menyembuhkan jerawat. Semakin lama daya lekat krim maka zat aktif dalam krim akan bekerja semakin efektif. Daya lekat krim juga dipengaruhi oleh viskositas yang juga dipengaruhi banyaknya ekstrak yang ditambahkan. Ekstrak yang ditambahkan pada krim menyebabkan viskositas semakin meningkat sehingga berpengaruh terhadap daya lekatnya yang juga mengalami peningkatan. Dari hasil pengujian krim dengan formula 6 menunjukkan hasil daya lekat yang paling lama, hal ini karena penambahan ekstrak terutama jumlah ekstrak daun sirih yang lebih banyak pada formula ini yaitu sebesar (1,0 g ekstrak sirih dan 1,25 g ekstrak sirsak) dibandingkan krim kombinasi formula 4 yang mengandung ekstrak sirih sebesar 0,5 g dan sirsak 1,25 g, serta formula 5 dengan ekstrak sirih 0,5 g dan sirsak sebesar 2,5 g. Data uji kelima krim tersebut lalu diuji dengan ANOVA dua jalan, diperoleh hasil sig 0,00 ( $<0,05$ ) dapat disimpulkan bahwa antara krim yang satu dengan lainnya terdapat perbedaan hasil daya lekat yang bermakna. Perbedaan hasil daya lekat krim dipengaruhi oleh jumlah ekstrak yang berbeda-beda pada masing-masing formula, serta selama penyimpanan krim juga

mengalami peningkatan kekentalannya, sehingga kedua hal ini juga berpengaruh terhadap daya lekat krim yang diuji.

#### **D. Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri**

##### **1. Hasil identifikasi bakteri *Staphylococcus epidermidis***

Identifikasi bakteri *Staphylococcus epidermidis* dilakukan dengan dua cara yaitu dengan identifikasi umum dan identifikasi khusus. Identifikasi umum dilakukan dengan cara pewarnaan gram, pewarnaan ini akan menghasilkan koloni bakteri yang berwarna ungu, dan berbentuk kokus (bulat) menggerombol. *Staphylococcus epidermidis* merupakan bakteri gram positif, jika dilakukan pewarnaan gram bakteri ini akan berwarna ungu, sebab bakteri ini hanya memiliki satu membran, sehingga bakteri ini akan menyerap warna ungu dari kristal violet yang digunakan sebagai pewarna dalam pengecatan ini.



**Gambar 6. Pewarnaan gram bakteri *Staphylococcus epidermidis***

Identifikasi khusus dilakukan dengan cara penggoresan biakan murni *Staphylococcus epidermidis* pada media *Vogel-Johnson's Agar* (VJA) yang tidak ditambah dengan kalium tellurite. Media *Vogel-Johnson's Agar* digunakan dalam identifikasi ini karena media ini merupakan media selektif terhadap strain bakteri *Staphylococci*. Kadar garam (*lithium chloride*) dalam media ini sangat tinggi, sehingga hanya dapat ditumbuhi oleh bakteri yang tahan kadar garam tinggi seperti bakteri *Staphylococci*. Fungsi dari *trypton* dan *yeast extract* sebagai nutrisi bagi bakteri yang diinokulasikan.



**Gambar 7. Identifikasi dengan media *Vogel Johnson's Agar***

Hasil identifikasi khusus menunjukkan bahwa *Staphylococcus epidermidis* yang ditanam pada VJA menunjukkan warna media yang tetap merah dengan biakan bakteri yang berwarna putih dan menonjol, hal ini disebabkan karena *Staphylococcus epidermidis* merupakan strain bakteri *Staphylococci* bukan merupakan strain bakteri koagulasi positif. Warna media setelah ditanam bakteri ini tetap merah karena bakteri ini tidak dapat memfermentasi atau meragi manitol yang terdapat pada media VJA sehingga *phenol red* yang terkandung dalam VJA tidak mendeteksi adanya perubahan suasana asam-basa dan tidak terjadi perubahan warna pada media yang ditanami bakteri ini.

Identifikasi bakteri *Staphylococcus epidermidis* juga dilakukan di Balai Laboratorium Kesehatan Yogyakarta dengan hasil identifikasi yang berupa sertifikat yang dapat dilihat pada lampiran 14.

## 2. Hasil pengujian aktivitas antibakteri secara *in vivo*

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan hingga jerawat pada punggung kelinci sembuh. Parameter yang dilihat dari uji ini adalah hilangnya jerawat (pustula) dan nanah. Tabel 16 di bawah ini menunjukkan hasil lamanya penyembuhan jerawat punggung kelinci.

**Tabel 17. Uji aktivitas antibakteri krim kombinasi daun sirsak dan daun sirih secara *in vivo***

Kelinci	Lama penyembuhan (hari)					
	Formula 1	Formula 2	Formula 3	Formula 4	Formula 5	Formula 6
1	26	16	20	10	10	8
2	26	18	20	6	8	10
3	24	12	10	6	16	12
4	22	14	20	10	14	10
5	28	18	8	8	12	6
6	24	16	6	10	8	8

**Keterangan : Formula 1 = basis krim**

**Formula 2 = sirsak (2,5 g)**

**Formula 3 = sirih (1,0 g)**

**Formula 4 = sirsak (1,25 g) dan sirih (0,5 g)**

**Formula 5 = sirsak (1,25 g) dan sirih (1,0 g)**

**Formula 6 = sirsak (2,5 g) dan sirih (0,5 g)**

Hasil pengamatan lamanya penyembuhan jerawat dianalisis dengan menggunakan uji statistik ANOVA satu jalan. Hasil uji ini menunjukkan nilai sig 0,00 ( $<0,05$ ) yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna pada lama penyembuhan jerawat dari masing-masing perlakuan. Pengujian selanjutnya dilakukan uji Post-Hoc yang digunakan adalah uji SNK (*Student Newman Keuls*) untuk melihat formula krim yang paling cepat menyembuhkan jerawat kelinci. Hasil uji menunjukkan krim perbandingan konsentrasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun sirih sebesar 1,25 g : 0,5 g (formula 4) yang menyembuhkan jerawat yang paling cepat. Perlakuan dengan krim formula 1 memiliki waktu penyembuhan jerawat yang paling lama, karena krim ini hanya berisi basis krim saja.

Penyembuhan jerawat pada punggung kelinci dapat terjadi karena basis krim yang digunakan merupakan basis yang baik karena zat aktif mudah terlepas dari basis sehingga cepat berpenetrasi ke dalam kulit, selain itu pada tanaman yang digunakan mengandung senyawa kimia yang bersifat anti bakteri, yaitu flavonoid, tanin dan saponin. Flavonoid berfungsi sebagai antibakteri dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri yang diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Nuria 2009). Tanin berfungsi sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan protein melalui ikatan hidrogen, inaktivasi enzim-enzim esensial, serta destruksi atau inaktivasi fungsi dan materi genetik bakteri. Saponin berfungsi sebagai antibakteri dengan cara merusak membran sitoplasma bakteri. Zat aktif yang terkandung pada kedua tanaman tersebut menunjukkan efek farmakologi sinergis.

Proses penyembuhan jerawat pada kulit punggung kelinci juga dipengaruhi oleh keadaan fisiologis hewan uji yang dapat mempertahankan tubuh dari benda asing (bakteri). Cepat waktu penyembuhan infeksi dapat ditentukan dengan cepatnya jerawat hilang dari punggung kelinci.

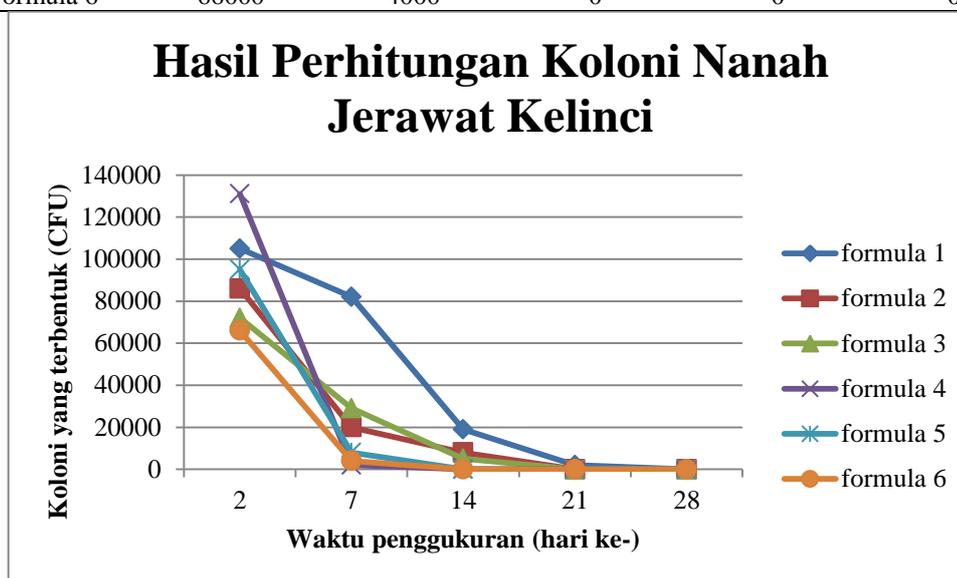
### **3. Hasil perhitungan jumlah bakteri dari jerawat yang terbentuk**

Perhitungan jumlah bakteri dari jerawat yang terbentuk bertujuan untuk mengetahui jumlah bakteri dari nanah jerawat punggung kelinci. Setelah

diinkubasi, jumlah koloni yang tumbuh dihitung dengan metode *Plate Count* dan merupakan perkiraan atau dugaan dari jumlah bakteri dari nanah jerawat punggung kelinci. Hasil perhitungan dapat dilihat pada tabel 17 berikut ini.

**Tabel 18. Hasil perhitungan jumlah bakteri dari nanah jerawat pada punggung kelinci**

Formula	Jumlah koloni (CFU)				
	Hari ke-2	Hari ke-7	Hari ke-14	Hari ke-21	Hari ke-28
Formula 1	105000	82000	19000	2000	0
Formula 2	86000	20000	8000	0	0
Formula 3	72000	29000	5000	0	0
Formula 4	131000	2000	0	0	0
Formula 5	95000	8000	0	0	0
Formula 6	66000	4000	0	0	0



**Gambar 8. Kurva hasil perhitungan koloni nanah jerawat kelinci**

Kemampuan krim kombinasi ekstrak daun sirsak dan daun sirih sebagai antibakteri pada jerawat punggung kelinci dapat diamati juga dari perhitungan jumlah koloni bakteri yang diinokulasi pada media VJA. Jumlah koloni bakteri yang dilihat setiap 7 hari sekali. Tabel 17 diatas, menunjukkan hasil pengamatan perhitungan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus epidermidis* yang mengalami penurunan tercepat pada pengobatan menggunakan krim kombinasi ekstrak daun sirsak dan sirih padaperbandingan konsentrasi 1,25 g : 0,5 g (Formula 4), kemudian diikuti krim dengan konsentrasi sirsak : sirih sebesar 1,25 g : 1,0 g (Formula 6), selanjutnya adalah krim Formula 5, Formula 2, Formula 3, dan yang terakhir Formula 1. Perlakuan dengan krim kombinasi membeikan hasl berupa berkurangnya koloni yang terbentuk dari jerawat punggung kelinci, oleh sebab itu

dapat dikatakan bahwa krim kombinasi ini memiliki aktivitas antibakteri dengan efek farmakologi sinergisme.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

Pertama, krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) dapat berefek sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* yang diinduksikan pada hewan uji (secara *in vivo*).

Kedua, konsentrasi krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) yang efektif sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* yang diujikan secara *in vivo* adalah krim dengan konsentrasi ekstrak etanol daun sirsak sebesar 1,25 g dan sirih sebesar 0,5 g.

Ketiga, sifat efek farmakologi dari kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* adalah sinergisme karena kerja zat aktif yang terkandung dalam tanaman sirih dan sirsak saling bekerja sama dengan cara menghambat pertumbuhan dan membunuh sel bakteri.

Keempat, kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) yang dibuat dalam bentuk sediaan krim memiliki stabilitas krim yang cukup stabil selama digunakan dalam penelitian ini.

#### **B. Saran**

Pertama, perlu dilakukan penelitian lain yang menguji krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan ekstrak etanol daun sirih terhadap bakteri lain selain *Staphylococcus epidermidis*.

Kedua, perlu dilakukan penelitian lagi yang menguji kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun sirih yang dibuat dalam sediaan selain krim.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ameliana, Lidya. 2013. *Buku Petunjuk Praktikum Farmasetika Sediaan Farmasetika Sediaan Semisolida (Edisi Revisi I)*. Jember : Universitas Jember.
- Anggota IKAPI. 2008. *Informatorium Obat Nasional Indonesia 2008 Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia*. CV. Sagung Seto.
- Ansel. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi Edisi IV*. Jakarta : Universitas Indonesia Press.
- Anonim. 1981. *Pemanfaatan Tanaman Obat*. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Departemen Kesehatan Republik Indonesia p. 19, 38, 43.
- Anonim. 1985. Cara Pembuatan Simplisia, 4-10, 51. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Anonim. 1986. Sediaan galenik, 4, 10-14. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Anonim. 2000. *Sirih (Piper betle Linn)*. <http://www.asiamaya.com/jamu/isi/sirih-piperbetle.html>. Diakses 16 Oktober 2016.
- Anonim. 2016. *Manitol Salt Agar (MSA) : Composition, Uses, and Colony Characteristics (online)*. (<http://microbeonline.com/mannitol-salt-agar-msa-composition-uses-and-colony-characteristics/>). Diakses 20 Januari 2017.
- Ansel, H.C., (1989). *Pengantar Bentuk sediaan Farmasi. Edisi 4*. UI Press. Jakarta.
- Arambewela, Lakshmi, et al. 2004. *Studies on Piper betle of Sri Lanka*. Sri Lanka : J. Natn.Sci.Foundation Sri Lanka 2005 33(2) : 133-139.
- Armanto, R. 2009. *Memproduksi 15 Minyak Atsiri Berkualitas*. Bogor : Penebar Swadaya.
- Assani, S. (1994). Ultrastruktur, Morfologi dan Pewarnaan Kuman, dalam Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran Edisi Revisi. Jakarta : Binarupa Aksara. Halaman 10-11.

- Azrifitria, dkk. 2010. *Aktivitas antibakteri ekstrak etanolik daun dan umbi Crinum asiaticum L. terhadap bakteri penyebab jerawat*. Jakarta : Majalah Farmasi Indonesia, 21(4), 2010.
- Aziz, S., 2010. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun dan Umbi Bakung Putih (Crinum asiaticum L.) Terhadap Bakteri Penyebab Jerawat . Skripsi. Program Studi Farmasi*. Jakarta : Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. UIN Syarif Hidayatullah.
- Breed,R.S. Murray, E.G.D. and Smith N.R. (1957). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Seventh Edition*. U.S.A: The williams and Wilkins Company. p. 454, 464-466, 506-529, 67, 88, 99-100, 332,341-344.
- Burkhart, C.G., Burkhart, C.N., & Lehmann, P.F.. 1999. *A Review of Immunologic and Microbiologic Factors. Postgrad Med. J.*, **75**, 328-329.
- Curnin DM Mc dan JM Bassert. 1985. *Clinical Textbook for Veterinary Technicians*. China: Saunders.
- Dalimartha S. 2005. *Tanaman Obat di Lingkungan Sekitar*. Jakarta : Puspa Swara.
- Depkes. 1979. *Farmakope Indonesia Edisi Ketiga*. Jakarta : Departemen Kesehatan RI.
- Depkes. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Depkes. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Depkes. 1995. *Farmakope Indonesia Edisi Keempat*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Diktorat Jendral POM–Depkes RI.
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Acuan Sediaan Herbal*. Jakarta: Diktorat Jendral POM–Depkes RI.
- Ditjen POM. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Cetakan Pertama. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Halaman 3-5, 10-11
- Hambali, Rahmawati M.. 2012. *Bioaktivitas Ekstrak Metanol Daun Tua Sirsak Annona muricata L. Sebagai Antibakteri Terhadap Staphylococcus aureus dan Propionibacterium acnes*. Makassar : Universitas Hasanuddin Makassar.

- Hardy Diagnostics. 2017. *Mannitol Salt Agar : Instruction For Use (IFU)*. ([https://catalog.hardydiagnostics.com/cp\\_prod/Content/hugo/MannitolSaltAgar.htm](https://catalog.hardydiagnostics.com/cp_prod/Content/hugo/MannitolSaltAgar.htm)). Diakses 20 Januari 2017.
- HiMedia Laboratories. 2016. *Vogel-Johnson Agar Medium*. Mumbai : HiMedia Laboratories Pvt. Ltd.
- Hustamin, R.. 2006. *Panduan Memelihara Kelinci Hias*. Jakarta : Agromedia Pustaka.
- Ikatan Sardjana Farmasi Indonesia (ISFI). 1968. *Formularium Medicamentorum Selectum Tjetakan Ketiga*. Surabaya : ISFI.
- Jawetz, Melnick, and Adelberg,S. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran ; Edisi I*. Jakarta : Salemba Medika.
- Kandaswami, C and Middleton, E. (1997). Flavonoids as antioxidant, In F. Shahidi (Ed). *Natural Antioxidant Chemistry, Health Effects and Applications*. Champaign Illions, AOCS Press.flavonoid.
- Katzung MD. 2010. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Edisi X. Jakarta: EGC
- Knutsen-Larson S, Dawson AL, Dunnick CA, Dellavalle RP. Acne vulgaris: Pathogenesis, Treatment, and Needs Assessment. *Dermatol Clin*. 2012;30:99–106.
- Kurnianto, Budi. 2009. *UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI TIDAK LARUT AIR DARI EKSTRAK ETANOL KAYU SECANG (Caesalpinia sappan L.) TERHADAP Staphylococcus aureus DAN Shigella dysenteriae SERTA BIOAUTOGRAFI*. Skripsi thesis, Univerversitas Muhammadiyah Surakarta.
- Kursia, Sukriani, dkk. 2016. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etilasetat Daun Sirih Hijau (Piper betle L.) Terhadap Bakteri Staphylococcus epidermidis*. Makassar : Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar.
- Lachman, L, Lieberman, H, A, dkk. 1994. *Teori dan Praktek Farmasi Industri, Edisi III*. Jakarta : Penerbit Universitas Indonesia, UI – Press.
- Maharani, Ayu. 2015. *Penyakit Kulit : Perawatan, Pencegahan, Pengobatan*. Yogyakarta : Pustaka Baru Press.
- Mulyanti, Dina, dkk. 2015. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirsak (Annona muricata L.) Pada Bakteri Propionobacterium acnes, Staphylococcus aureus, dan Staphylococcus epidermidis*. Bandung : Universitas Islam Bandung.

- Munson, J. W.. 1991. *Analisis Farmasi Metode Modern*. Surabaya : Airlangga University Press.
- Murini, T.. 2003. *Obat Jerawat Topical dan Bentuk Sediaannya yang Beredar di Indonesia*. *Jurnal Kedokteran Yarsi*. 11 (2), 104-110.
- Nila, Aster. 2013. *Dasar-Dasar Farmakologi 2 Kelas X Smester 2*. Jakarta : Kementrian Pendidikan dan Kebudayaan.
- Nuria, Cut. 2009. *Uji Aktivitas Antibakteri ekstrak etanol daun jarak pagar (Jatropha curcas L.) terhadap bakteri Staphylococcus aureus, Escherechia coli, dan Salmonella thypi*. *Jurnal uji anti bakteri*, 5 (2), halaman 10-12.
- Pelczar, Michael, J., E.C.S Chan. 1988. *Dasar – Dasar Mikrobiologi*. Jakarta : UI Press.
- Plewig and Kligman. 1975. *Acne morphogenesis and treatment*. New York : Apringer Verlag Heidelberg.
- Priyatna, N. 2011. *Beternak dan Bisnis Kelinci Pedaging*. Jakarta : PT Agromedia Pustaka.
- Putri, Zenda Fadila. 2010. *UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH (Piper betle L.) TERHADAP Propionibacterium acne DAN Staphylococcus aureus MULTIRESISTEN*. Surakarta : Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. Edisi ke-4 Terjemahan Kosasih Padmawinata*. ITB Press. Bandung.
- S.Sastrodiharjo, G.Kim, L.Zeng, F.Alali, L.Rogers, F.Wu, J.McLaughlin. *Two New Mono-Tetrahydrofuran Ring Acetoginins, Annomuricin E and Muricapentocin, from the Leaves of Annona muricata*. *J Nat Prod* Vol. 61. No. 4 (1997) p.432-6.
- Setiabudy, R., Gan, V. H. 2007. *Pengantar Antimikroba. Dalam: Farmakologi dan Terapi Edisi 5*. Jakarta : Gaya Baru.
- Sunarjono, H. (2005). *Sirsak dan Srikaya Cetakan pertama*. Jakarta: Penebar Swadaya. Hal.14-15,22-25.
- Smith JB dan S Mangkoewidjojo. 1998. *Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Jakarta; UI Press.
- Sunarya, Yayan, Agus Setiabudi. 2007. *Mudah dan Aktif Belajar Kimia*. Jakarta: PT.Setia Purna Inves.

- Syamsuhidayat dan Hutapea, J.R., 1991, *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Voigt, R.. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi, diterjemahkan oleh Soendani Noerono Soewandhi, 561*. Yogyakarta : Gajah Mada University Press.
- Wahdaningsih, Sri. 2014. *Antibakteri Fraksi n-Heksana Kulit *Hylocereus polyrhizus* Terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acnes**. Pontianak : Pharm Sci Res ISSN 2407-2354.
- Wasitaatmaja, S.M.. 1997. *Penuntun Ilmu Kosmetik Medik*, 3-15; 181-188. Jakarta : UI Press.
- Widodo, H. 2013. *Ilmu Meracik Obat Untuk Apoteker*. Yogyakarta: D-Medika.
- Wikipedia. 2016. *Mannitol Salt Agar*. ([https://en.wikipedia.org/wiki/Mannitol\\_salt\\_agar](https://en.wikipedia.org/wiki/Mannitol_salt_agar)). Diakses 20 Januari 2017.
- Wikipedia. 2016. *Staphylococcus epidermidis*, (online). ([https://en.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus\\_epidermidis](https://en.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus_epidermidis)). Diakses 20 Januari 2017.
- Wolfensohn S dan M Iloyd. 1988. *Handbook of laboratory Animal Management and Welfare*. USA : Blackwell science.
- Yulianti, Rika. 2015. *Gel Kombinasi Ekstrak Daun Sirsak dan Daun Jambu Biji Sebagai Obat Anti Jerawat*. Jurnal Farmasi Indonesia Vol. 7 No. 3 Januari 2015.

# LAMPIRAN

## Lampiran 1. Surat keterangan determinasi tanaman sirsak



No : 175/DET/UPT-LAB/07/IV/2017  
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :

Nama : Mulya Dewi  
NIM : 19133796 A  
Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : **Sirsak (*Annona muricata.*)**

Hasil determinasi berdasarkan : Steenis : FLORA

1b – 2b – 3b – 4b – 6b – 7b – 9b – 10b – 11b – 12b – 13b – 15a. golongan 8. 109b – 119b – 120b – 128b – 129b – 135b – 136b – 139b – 140b – 142b – 143b – 146b – 154b – 155b – 156a – 162b – 163a – 164b – 165b – 166a. familia 50. Annonaceae. 1b – 2. Annona. 1a. ***Annona muricata.***

Deskripsi :

Habitus : Pohon, tinggi mencapai 8 meter.  
Akar : Tunggang.  
Batang : Bulat, berkayu, percabangan monopodial.  
Daun : **Tunggal, bangun bulat memanjang sampai bulat telur terbalik, ujung meruncing pendek, pangkal tumpul, tepi rata, tulang daun menyirip, seperti kulit, panjang 12,3 – 13,2 cm, permukaan atas hijau tua dan mengkilat, permukaan bawah hijau muda, tangkai pendek.**  
Bunga : Tunggal, beraturan, berhadapan dengan daun. Daun kelopak 3, kecil. Daun mahkota 6, berdaging, 3 yang terluar hijau kemudian kuning panjang 3,5 – 5 cm, 3 yang terdalam bulat telur, kuning muda. Daun kelopak dan daun mahkota terluar pada kuncup tersusun seperti katup, daun mahkota terdalam seperti genting. Dasar bunga sangat cekung. Benangsari banyak. Penghubung ruangsari di atas ruang sari melebar, menutup ruangnya, putih. Bakal buah banyak, bakal biji 1. Tangkai putik langsing, berambut. Kepala putik silindris.  
Buah : Buah majemuk tak beraturan, berduri tempel, bentuk telur miring atau bengkok, hijau tua, daging buah putih, masam.  
Biji : Bentuk bulat telur, hitam, mengkilat.  
Pustaka : Steenis C.G.G.J., Bloembergen S. Eyma P.J. (1978): *FLORA*, PT Pradnya Paramita. Jl. Kebon Sirih 46. Jakarta Pusat, 1978.

Surakarta, 07 April 2017

Tentu determinasi

Dra. Kartinah Wiryosoendjojo, SU.

## Lampiran 2. Surat determinasi tanaman sirih



### UPT- LABORATORIUM

No : 175/DET/UPT-LAB/07/IV/2017  
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :

Nama : Mulya Dewi  
NIM : 19133796 A  
Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : **Sirih (*Piper betle L.*)**

Hasil determinasi berdasarkan : Steenis : FLORA

1a – 2b – 3b – 4b – 6b – 7b – 9a. golongan 4. 41b – 42b – 43b – 54b – 59b – 61b – 62b – 63a – 64a. familia 37. 1a. ***Piper betle L.***

Deskripsi :

Habitus : Herba, tumbuh memanjat.

Akar : Serabut.

Batang : Segitiga, beralur.

**Daun : Tunggal, duduk daun berseling atau tersebar, herbaceous, daun penumpu cepat rontok dan meninggalkan tanda bekas berbentuk cincin. Helaian daun bulat telur sampai memanjang, pangkal bentuk jantung, ujung meruncing, tulang daun menjari, panjang 4,5 – 5,7 cm, permukaan atas berwarna hijau tua, permukaan bawah hijau muda, berbau aromatis.**

Bunga : Bunga berkelamin 1, berumah 1 atau 2. Bulirberdiri sendiri, di ujung dan berhadapan dengan daun. Daun pelindung bentuk lingkaran, bulat telur terbalik atau bulat telur memanjang, panjang lk 1 mm.

Buah : Buni dengan ujung bebas dan membulat.

Pustaka : Steenis C.G.G.J., Bloembergen S. Eyma P.J. (1978): *FLORA*, PT Pradnya Paramita. Jl. Kebon Sirih 46. Jakarta Pusat, 1978.

Surakarta, 07 April 2017

Pada determinasi

Dra. Kartunah Wiryosoendjojo, SU.

### Lampiran 3. Foto serbuk dan ekstrak daun sirsak dan daun sirih

#### Serbuk daun sirsak



#### Serbuk daun sirih



#### Ekstrak etanol daun sirsak dan sirih



**Lampiran 4. Gambar alat dan bahan**

Oven



Penggiling



Neraca analitik

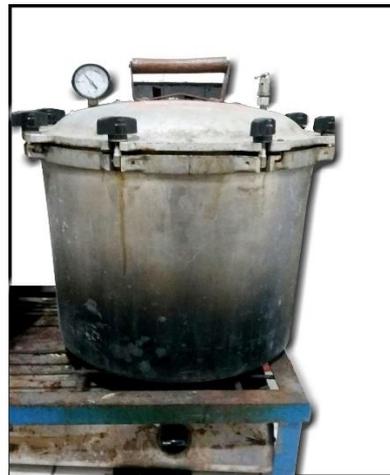
*Moisture balance*

Evaporator

*Water Bath**Incubator**Autoclave*



*Vogel-Johnson's Agar (VJA)*



*Inkas*



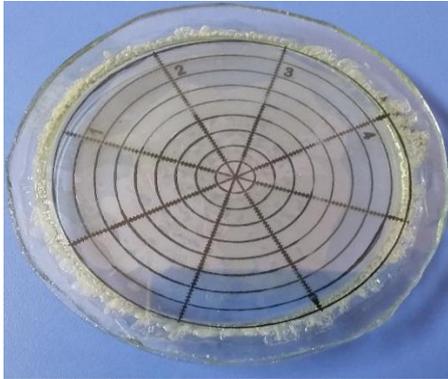
*Autovortex*



*Viskosimeter*



Alat uji daya sebar krim



alat uji daya lekat krim



Anak timbang



pH stick



Uji homogenitas krim



Kapas lidi



Krim kombinasi formula 1, 2, dan 3



Krim kombinasi formula 4, 5, dan 6



Suspensi bakteri dan bakteri pada media nutrisi agar



**Lampiran 5. Perhitungan rendemen bobot kering terhadap bobot basah daun sirsak dan sirih**

Serbuk daun sirsak dan daun sirih diperoleh dengan bobot basah masing-masing adalah 5000 gram, setelah dikeringkan diperoleh bobot 1500 gram untuk daun sirsak dan 1250 gram untuk daun sirih.

<b>Bahan</b>	<b>Bobot (gram)</b>	<b>Basah</b>	<b>Bobot (gram)</b>	<b>Kering</b>	<b>Rendemen (%b/b)</b>
Daun sirsak	5000		1500		30
Daun sirih	5000		1250		25

Perhitungan rendemen :

$$\frac{\text{Bobot kering (gram)}}{\text{Bobot basah (gram)}} \times 100\%$$

Perhitungan rendemen daun sirsak :

$$\frac{1500 \text{ gram}}{5000 \text{ gram}} \times 100\% = 30\%$$

Perhitungan rendemen daun sirih :

$$\frac{1250 \text{ gram}}{5000 \text{ gram}} \times 100\% = 25\%$$

Kesimpulan :

Prosentase rendemen daun sirsak kering terhadap daun sirsak basah adalah 30% dan daun sirih kering terhadap daun sirih basah adalah 25%.

### Lampiran 6. Penetapan susut pengeringan serbuk daun sirsak dan daun sirih

Hasil penetapan susut pengeringan daun sirsak :

No	Berat awal (gram)	Berat akhir (gram)	Susut pengeringan (%)
1	2,00	1,90	8,1
2	2,00	1,92	8,7
3	2,00	1,92	8,9
Rata-rata			8,57%

$$\text{Rata-rata susut pengeringan daun sirsak} = \frac{8,1\% + 8,7\% + 8,9\%}{3} = 8,57\%$$

Hasil penetapan susut pengeringan daun sirih :

No	Berat awal (gram)	Berat akhir (gram)	Susut pengeringan (%)
1	2,00	1,85	8,4
2	2,00	1,85	8,9
3	2,00	1,82	8,6
Rata-rata			8,63%

$$\text{Rata-rata susut pengeringan daun sirih} = \frac{8,4\% + 8,9\% + 8,6\%}{3} = 8,63\%$$

Kesimpulan :

Rata-rata prosentase susut pengeringan daun sirsak adalah 8,57% dan rata-rata susut pengeringan daun sirih adalah 8,63%

**Lampiran 7. Perhitungan rendemen ekstrak etanol daun sirsak dan daun sirih**

<b>Daun</b>	<b>Berat (gram)</b>	<b>serbuk</b>	<b>Berat (gram)</b>	<b>ekstrak</b>	<b>Rendemen (%b/b)</b>
Sirsak	600		153,6		25,6%
Sirih	600		115,2		19,2%

$$\text{Persen rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak (gram)}}{\text{Bobot serbuk (gram)}} \times 100\%$$

$$\text{Persen rendemen ekstrak etanol daun sirsak} = \frac{153,6 \text{ gram}}{600 \text{ gram}} \times 100\% = 25,6\%$$

$$\text{Persen rendemen ekstrak etanol daun sirih} = \frac{115,2 \text{ gram}}{600 \text{ gram}} \times 100\% = 19,2\%$$

Kesimpulan :

Persen rendemen ekstrak etanol daun sirsak adalah 25,6% dan persen rendemen ekstrak etanol daun sirih adalah 19,2%.

**Lampiran 8. Hasil identifikasi senyawa kimia serbuk dan ekstrak etanol daun sirsak dan daun sirih**

Kandungan kimia serbuk dan ekstrak etanol daun sirsak :

Kandungan Kimia	Serbuk	Ekstrak
Flavonoid		
Tanin		
Saponin		

Kandungan kimia serbuk dan ekstrak etanol daun sirih :

Kandungan Kimia	Serbuk	Ekstrak
Flavonoid		
Tanin		
Saponin		

### Lampiran 9. Perhitungan penimbangan bahan krim

Formula 1 (basis) :

Acid stearin	=	$\left(\frac{142}{750} \times 100\right) + 10\%$	=	20,83
Glycerin	=	$\left(\frac{100g}{750} \times 100\right) + 10\%$	=	14,67
Na. Biborat	=	$\left(\frac{2,5g}{750 ml} \times 100\right) + 10\%$	=	0,37
TEA	=	$\left(\frac{10g}{750 ml} \times 100\right) + 10\%$	=	1,47
Nipagin	=	$\left(\frac{0,1g}{750 ml} \times 100\right) + 10\%$	=	0,13
Aq. dest	=	$\left(\frac{750 ml}{1004,5g} \times 100\right) + 10\%$	=	74,66

Formula 2 (ekstrak sisak = 1,25 g) :

Ekstrak Sirsak	=	2,5 g		
Acid stearin	=	$\left(\frac{142}{750} \times 100\right) + 10\%$	=	20,83
Glycerin	=	$\left(\frac{100g}{750} \times 100\right) + 10\%$	=	14,67
Na. Biborat	=	$\left(\frac{2,5g}{750 ml} \times 100\right) + 10\%$	=	0,37
TEA	=	$\left(\frac{10g}{750 ml} \times 100\right) + 10\%$	=	1,47
Nipagin	=	$\left(\frac{0,1g}{750 ml} \times 100\right) + 10\%$	=	0,13
Aq. dest	=	$\left(\frac{750 ml}{1004,5g} \times 100\right) + 10\%$	=	74,66

Formula 3 (ekstrak sirih = 10mg/ml) :

Ekstrak Sirih	=	1,0 g		
Acid stearin	=	$\left(\frac{142}{750} \times 100\right) + 10\%$	=	20,83
Glycerin	=	$\left(\frac{100g}{750} \times 100\right) + 10\%$	=	14,67
Na. Biborat	=	$\left(\frac{2,5g}{750 ml} \times 100\right) + 10\%$	=	0,37
TEA	=	$\left(\frac{10g}{750 ml} \times 100\right) + 10\%$	=	1,47
Nipagin	=	$\left(\frac{0,1g}{750 ml} \times 100\right) + 10\%$	=	0,13
Aq. dest	=	$\left(\frac{750 ml}{1004,5g} \times 100\right) + 10\%$	=	74,66

Formula 4 (ekstrak sirsak 25mg/ml dan ekstrak sirih 10mg/ml) :

Ekstrak Sirsak	=	1,25 g	
Ekstrak Sirih	=	0,5 g	
Acid stearin	=	$(\frac{142}{750} \times 100) + 10\%$	= 20,83
Glycerin	=	$(\frac{100g}{750} \times 100) + 10\%$	= 14,67
Na. Biborat	=	$(\frac{2,5g}{750 ml} \times 100) + 10\%$	= 0,37
TEA	=	$(\frac{10g}{750 ml} \times 100) + 10\%$	= 1,47
Nipagin	=	$(\frac{0,1g}{750 ml} \times 100) + 10\%$	= 0,13
Aq. dest	=	$(\frac{750 ml}{1004,5g} \times 100) + 10\%$	= 74,66

Formula 5 (ekstrak sirsak 25mg/ml dan ekstrak sirih 5mg/ml) :

Ekstrak Sirsak	=	2,5 g	
Ekstrak Sirih	=	0,5 g	
Acid stearin	=	$(\frac{142}{750} \times 100) + 10\%$	= 20,83
Glycerin	=	$(\frac{100g}{750} \times 100) + 10\%$	= 14,67
Na. Biborat	=	$(\frac{2,5g}{750 ml} \times 100) + 10\%$	= 0,37
TEA	=	$(\frac{10g}{750 ml} \times 100) + 10\%$	= 1,47
Nipagin	=	$(\frac{0,1g}{750 ml} \times 100) + 10\%$	= 0,13
Aq. dest	=	$(\frac{750 ml}{1004,5g} \times 100) + 10\%$	= 74,66

Formula 6 (ekstrak sirsak 12,5mg/ml dan ekstrak sirih 10mg/ml) :

Ekstrak Sirsak	=	1,25 g	
Ekstrak Sirih	=	1,0 g	
Acid stearin	=	$(\frac{142}{750} \times 100) + 10\%$	= 20,83
Glycerin	=	$(\frac{100g}{750} \times 100) + 10\%$	= 14,67
Na. Biborat	=	$(\frac{2,5g}{750 ml} \times 100) + 10\%$	= 0,37
TEA	=	$(\frac{10g}{750 ml} \times 100) + 10\%$	= 1,47
Nipagin	=	$(\frac{0,1g}{750 ml} \times 100) + 10\%$	= 0,13
Aq. dest	=	$(\frac{750 ml}{1004,5g} \times 100) + 10\%$	= 74,66

### Lampiran 10. Uji viskositas sediaan krim

Hari ke	viskositas (dPas)														
	formula II			formula III			formula IV			formula V			formula VI		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
2	210	210	220	215	215	220	250	250	260	270	270	280	300	310	300
7	215	215	220	235	230	235	260	270	260	280	280	285	310	320	320
14	220	225	230	240	235	240	270	270	280	290	300	305	340	340	335
21	220	230	230	240	235	245	270	290	280	310	310	315	350	360	350

Rata-rata  $\pm$  SD :

Hari ke	Rata-rata $\pm$ SD (dPas)				
	Formula 2	Formula 3	Formula 4	Formula 5	Formula 6
2	213,33 $\pm$ 5,77	216,67 $\pm$ 2,89	253,33 $\pm$ 5,77	273,33 $\pm$ 5,77	303,33 $\pm$ 5,77
7	216,67 $\pm$ 2,89	233,33 $\pm$ 2,89	263,33 $\pm$ 5,77	281,67 $\pm$ 2,88	316,67 $\pm$ 5,77
14	225,00 $\pm$ 5,00	238,33 $\pm$ 2,89	273,33 $\pm$ 5,77	298,33 $\pm$ 7,63	338,33 $\pm$ 2,88
21	226,67 $\pm$ 5,77	240,00 $\pm$ 5,00	280,00 $\pm$ 10,0	311,67 $\pm$ 2,88	353,33 $\pm$ 5,77

### Uji Statistik Kolmogorof-Smirnov dan Analisis ANOVA Dua Jalan Viskositas Krim Kombinasi

#### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Viskositas
N		60
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	267,83
	Std. Deviation	41,796
	Absolute	,131
Most Extreme Differences	Positive	,131
	Negative	-,083
Kolmogorov-Smirnov Z		1,012
Asymp. Sig. (2-tailed)		,258

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Kesimpulan : data terdistribusi normal dengan nilai sig 0,258 (>0,05)

## Univariate Analysis of Variance

### Between-Subjects Factors

		Value Label	N
formula	2	F 3	12
	3	F 4	12
	4	F 5	12
	5	F 6	12
	6	6	12
waktu	1	Hari ke-2	15
	2	Hari ke-7	15
	3	Hari ke-14	15
	4	Hari ke-21	15

### Descriptive Statistics

Dependent Variable: Viskositas

formula	waktu	Mean	Std. Deviation	N
F 3	Hari ke-2	215,00	5,000	3
	Hari ke-7	215,00	5,000	3
	Hari ke-14	225,00	5,000	3
	Hari ke-21	226,67	5,774	3
	Total	220,42	7,217	12
F 4	Hari ke-2	230,00	13,229	3
	Hari ke-7	228,33	12,583	3
	Hari ke-14	230,00	8,660	3
	Hari ke-21	240,00	5,000	3
	Total	232,08	10,104	12
F 5	Hari ke-2	260,00	10,000	3
	Hari ke-7	263,33	11,547	3
	Hari ke-14	273,33	15,275	3
	Hari ke-21	273,33	11,547	3
	Total	267,50	12,154	12
F 6	Hari ke-2	280,00	10,000	3
	Hari ke-7	286,67	20,817	3
	Hari ke-14	296,67	15,275	3
	Hari ke-21	301,67	15,275	3
	Total	291,25	16,114	12
6	Hari ke-2	316,67	20,817	3
	Hari ke-7	326,67	20,817	3
	Hari ke-14	333,33	30,551	3
	Hari ke-21	335,00	15,000	3
	Total	327,92	20,611	12
Total	Hari ke-2	260,33	38,981	15
	Hari ke-7	264,00	43,679	15
	Hari ke-14	271,67	44,748	15
	Hari ke-21	275,33	42,193	15
	Total	267,83	41,796	60

**Levene's Test of Equality of Error Variances<sup>a</sup>**

Dependent Variable: Viskositas

F	df1	df2	Sig.
1,836	19	40	,052

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

a. Design: Intercept + formula + waktu + formula \* waktu

Kesimpulan : data homogen dengan nilai sig 0,052 (>0,05).

**Estimated Marginal Means****1. formula**

Dependent Variable: Viskositas

formula	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
F 2	220,417	4,167	211,996	228,838
F 3	232,083	4,167	223,662	240,504
F 4	267,500	4,167	259,079	275,921
F 5	291,250	4,167	282,829	299,671
F 6	327,917	4,167	319,496	336,338

**2. waktu**

Dependent Variable: Viskositas

waktu	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
Hari ke-2	260,333	3,727	252,801	267,865
Hari ke-7	264,000	3,727	256,468	271,532
Hari ke-14	271,667	3,727	264,135	279,199
Hari ke-21	275,333	3,727	267,801	282,865

Kesimpulan : viskositas tertinggi ditunjukkan oleh formula 6, selain itu semakin lama viskositas dari masing-masing formula menunjukkan peningkatan.

## Post Hoc Tests

### formula

#### Homogeneous Subsets

#### Viskositas

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

formula	N	Subset			
		1	2	3	4
F 2	12	220,42			
F 3	12	232,08			
F 4	12		267,50		
F 5	12			291,25	
F 6	12				327,92
Sig.		,294	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) = 208,333.

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

b. Alpha = ,05.

### waktu

#### Homogeneous Subsets

#### Viskositas

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

waktu	N	Subset	
		1	2
Hari ke-2	15	260,33	
Hari ke-7	15	264,00	264,00
Hari ke-14	15	271,67	271,67
Hari ke-21	15		275,33
Sig.		,155	,155

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

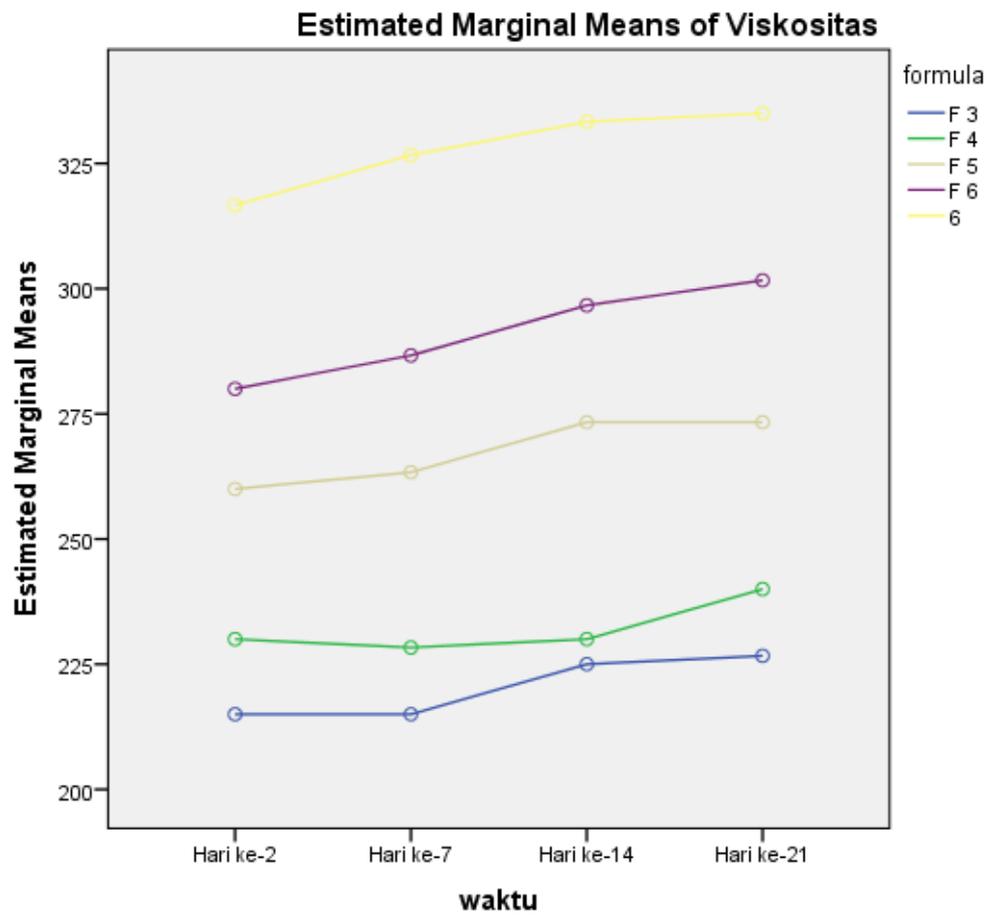
The error term is Mean Square(Error) = 208,333.

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

b. Alpha = ,05.

Kesimpulan : terdapat perbedaan viskositas pada masing-masing formula krim,  
dan perbedaan viskositas pada waktu penyimpanan

## Profile Plots



**Lampiran 11. Uji daya sebar sediaan krim**

Daya sebar hari ke-2 :

Formula	Beban (gram)	Daya sebar hari ke-2		
		1	2	3
Formula II	Kaca (49,124)	2,2	2,5	2,7
	Kaca + 100	2,9	2,8	3,5
	Kaca + 200	4,2	4,3	4,2
Formula III	Kaca (49,124)	2,1	2,2	2,3
	Kaca + 100	2,8	2,6	3,1
	Kaca + 200	4,2	4	3,9
Formula IV	Kaca (49,124)	1,9	2,0	2,0
	Kaca + 100	2,7	2,7	2,9
	Kaca + 200	3,9	4,0	3,9
Formula V	Kaca (49,124)	1,7	1,7	1,6
	Kaca + 100	2,5	2,4	2,5
	Kaca + 200	3,6	3,7	3,6
Formula VI	Kaca (49,124)	1,5	1,5	1,7
	Kaca + 100	2,3	2,4	2,2
	Kaca + 200	3,3	3,2	3,1

Daya sebar hari ke-7 :

Formula	Beban (gram)	Daya sebar hari ke-7		
		1	2	3
Formula II	Kaca (49,124)	2,1	2,1	2,3
	Kaca + 100	2,8	2,9	3,1
	Kaca + 200	3,9	3,9	4,1
Formula III	Kaca (49,124)	2	2	2,2
	Kaca + 100	2,7	2,7	2,8
	Kaca + 200	3,5	3,6	3,6
Formula IV	Kaca (49,124)	1,9	1,9	2,1
	Kaca + 100	2,6	2,5	2,7
	Kaca + 200	3,8	3,7	3,7
Formula V	Kaca (49,124)	1,6	1,5	1,5
	Kaca + 100	2,5	2,4	2,3
	Kaca + 200	3,5	3,4	3,4
Formula VI	Kaca (49,124)	1,6	1,4	1,5
	Kaca + 100	2,2	2,3	2,2
	Kaca + 200	3,0	3,1	3,0

Daya sebar hari ke-14 :

Formula	Beban (gram)	Daya sebar hari ke-14		
		1	2	3
Formula II	Kaca (49,124)	2,1	2,2	2,3
	Kaca + 100	2,8	2,6	3,1
	Kaca + 200	4,1	4	3,9
Formula III	Kaca (49,124)	1,9	1,9	1,8
	Kaca + 100	2,6	2,5	2,7
	Kaca + 200	3,8	3,7	3,7
Formula IV	Kaca (49,124)	1,6	1,7	1,6
	Kaca + 100	2,6	2,4	2,5
	Kaca + 200	3,6	3,7	3,5
Formula V	Kaca (49,124)	1,4	1,4	1,4
	Kaca + 100	2,2	2,3	2,2
	Kaca + 200	3,5	3,3	3,3
Formula VI	Kaca (49,124)	1,4	1,4	1,5
	Kaca + 100	2,1	2,2	2,1
	Kaca + 200	3,0	2,9	2,9

Daya sebar hari ke-21 :

Formula	Beban (gram)	Daya sebar hari ke-21		
		1	2	3
Formula II	Kaca (49,124)	1,8	1,8	1,9
	Kaca + 100	2,6	2,55	2,7
	Kaca + 200	3,8	3,7	3,7
Formula III	Kaca (49,124)	1,6	1,6	1,75
	Kaca + 100	2,55	2,4	2,5
	Kaca + 200	3,55	3,7	3,5
Formula IV	Kaca (49,124)	1,5	1,4	1,4
	Kaca + 100	2,4	2,4	2,2
	Kaca + 200	3,6	3,5	3,5
Formula V	Kaca (49,124)	1,4	1,3	1,2
	Kaca + 100	2,1	2,2	2,1
	Kaca + 200	3,2	3,2	3,1
Formula VI	Kaca (49,124)	1,4	1,3	1,3
	Kaca + 100	2,0	2,0	2,0
	Kaca + 200	2,9	2,8	2,9

Formula	Berat Beban (gram)	Rata-rata diameter penyebaran hari ke (cm ± SD)			
		2	7	14	21
Formula II	Kaca (49,124)	2,47±0,25	2,17±0,11	2,23±0,06	1,83±0,06
	Kaca + 100	3,07±0,37	2,17±0,15	2,83±0,25	2,61±0,08
	Kaca + 200	4,23±0,11	3,97±0,11	3,97±0,06	2,48±0,08
Formula III	Kaca (49,124)	2,27±0,15	2,07±0,11	1,87±0,06	1,65±0,08
	Kaca + 100	2,83±0,25	2,73±0,06	2,63±0,06	2,48±0,08
	Kaca + 200	4,03±0,15	3,57±0,06	3,73±0,06	3,08±0,10
Formula IV	Kaca (49,124)	1,97±0,05	1,80±0,00	1,63±0,05	1,43±0,05
	Kaca + 100	2,80±0,10	2,60±0,10	2,50±0,10	2,33±0,11
	Kaca + 200	3,93±0,05	3,73±0,05	3,60±0,10	3,53±0,05
Formula V	Kaca (49,124)	1,67±0,05	1,53±0,05	1,40±0,00	1,30±0,10
	Kaca + 100	2,47±0,05	2,40±0,10	2,23±0,05	2,13±0,05
	Kaca + 200	3,63±0,05	3,43±0,05	3,37±0,11	3,17±0,05
Formula VI	Kaca (49,124)	1,57±0,11	1,50±0,10	1,43±0,05	1,33±0,05
	Kaca + 100	2,30±0,10	2,23±0,05	2,13±0,05	2,00±0,00
	Kaca + 200	3,20±0,10	3,03±0,05	2,93±0,05	2,87±0,05

### Uji Statistik Kolmogorof-Smirnov dan Analisis ANOVA Dua Jalan Daya Sebar Krim Kombinasi

#### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		dayasebar
N		60
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	2,57
	Std. Deviation	,798
	Absolute	,084
Most Extreme Differences	Positive	,084
	Negative	-,069
Kolmogorov-Smirnov Z		,650
Asymp. Sig. (2-tailed)		,792

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Kesimpulan : data terdistribusi normal dengan nilai sig 0,792 (>0,05)

## Univariate Analysis of Variance

### Between-Subjects Factors

		Value Label	N
formula	2	F 3	12
	3	F 4	12
	4	F 5	12
	5	F 6	12
	6	6	12
waktu	1	hari ke-2	15
	2	hari ke-7	15
	3	hari ke-14	15
	4	hari ke-21	15

### Descriptive Statistics

Dependent Variable: dayasebar

formula	waktu	Mean	Std. Deviation	N
F 3	hari ke-2	3,26	,895	3
	hari ke-7	2,77	1,039	3
	hari ke-14	3,01	,884	3
	hari ke-21	2,31	,418	3
	Total	2,84	,806	12
F 4	hari ke-2	3,04	,899	3
	hari ke-7	2,79	,752	3
	hari ke-14	2,74	,935	3
	hari ke-21	2,40	,718	3
	Total	2,75	,748	12
F 5	hari ke-2	2,90	,984	3
	hari ke-7	2,71	,970	3
	hari ke-14	2,58	,987	3
	hari ke-21	2,43	1,054	3
	Total	2,65	,871	12
F 6	hari ke-2	2,59	,985	3
	hari ke-7	2,45	,951	3
	hari ke-14	2,33	,989	3
	hari ke-21	2,20	,937	3
	Total	2,39	,837	12
6	hari ke-2	2,36	,816	3
	hari ke-7	2,25	,765	3
	hari ke-14	2,16	,751	3
	hari ke-21	2,07	,772	3
	Total	2,21	,672	12
Total	hari ke-2	2,83	,844	15
	hari ke-7	2,60	,793	15
	hari ke-14	2,57	,831	15
	hari ke-21	2,28	,698	15
	Total	2,57	,798	60

**Levene's Test of Equality of Error Variances<sup>a</sup>**

Dependent Variable: dayasebar

F	df1	df2	Sig.
,175	19	40	1,000

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

a. Design: Intercept + formula + waktu + formula \* waktu

Kesimpulan : data homogen dengan nilai sig 1,00 ( $>0,05$ ).

**Estimated Marginal Means****1. formula**

Dependent Variable: dayasebar

formula	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
F 2	2,836	,256	2,318	3,353
F 3	2,745	,256	2,227	3,263
F 4	2,654	,256	2,137	3,172
F 5	2,394	,256	1,877	2,912
F 6	2,210	,256	1,692	2,728

**2. waktu**

Dependent Variable: dayasebar

waktu	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
hari ke-2	2,829	,229	2,366	3,292
hari ke-7	2,595	,229	2,132	3,058
hari ke-14	2,565	,229	2,102	3,028
hari ke-21	2,281	,229	1,818	2,744

Kesimpulan : formula 2 menunjukkan daya sebar krim yang paling besar selain itu semakin lama daya sebar dari masing-masing formula menunjukkan penurunan.

## Post Hoc Tests

### formula Homogeneous Subsets

**dayasebar**

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

formula	N	Subset
		1
F 6	12	2,21
F 5	12	2,39
F 4	12	2,65
F 3	12	2,75
F 2	12	2,84
Sig.		,429

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,787.

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

b. Alpha = ,05.

### waktu Homogeneous Subsets

**dayasebar**

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

waktu	N	Subset
		1
hari ke-21	15	2,28
hari ke-14	15	2,57
hari ke-7	15	2,60
hari ke-2	15	2,83
Sig.		,341

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

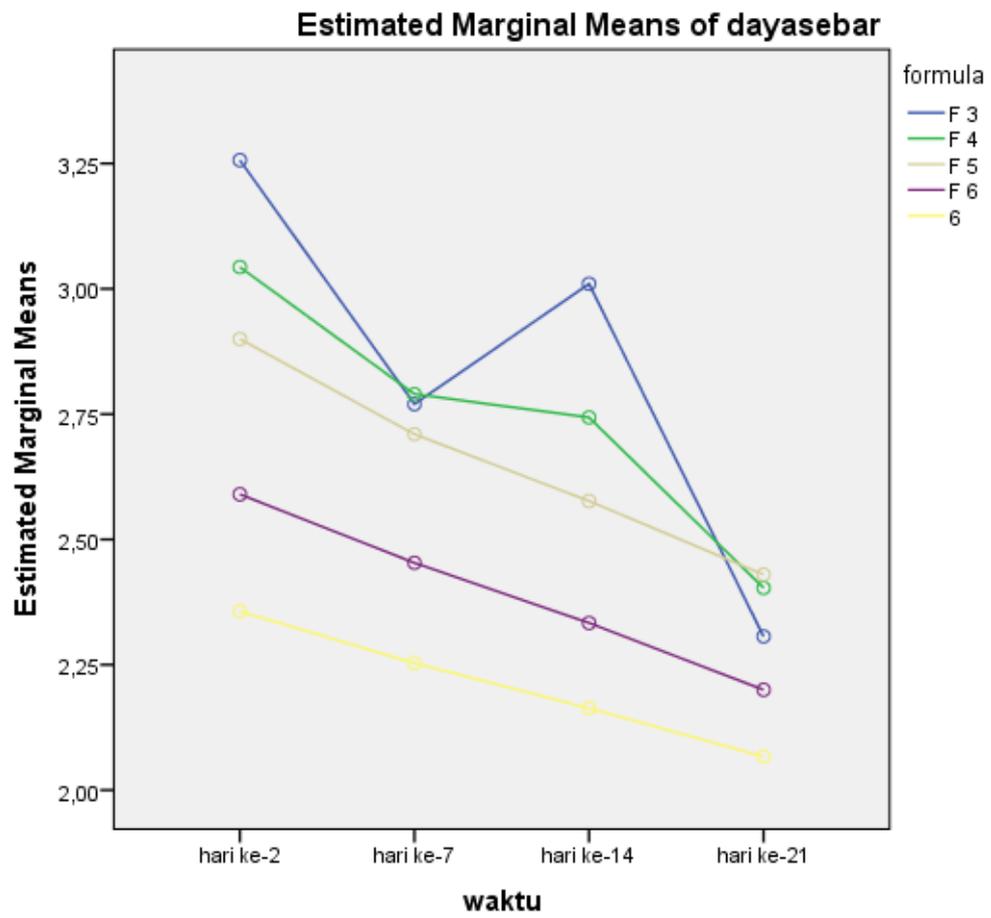
The error term is Mean Square(Error) = ,787.

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

b. Alpha = ,05.

Kesimpulan : daya sebar masing-masing formula hampir sama, selain itu semakin lama daya sebar dari masing-masing formula menunjukkan penurunan.

## Profile Plots



### Lampiran 12. Uji daya lekat sediaan krim

Hari ke	Daya lekat (detik)														
	formula II			formula III			formula IV			formula V			formula VI		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
2	105	105	110	115	115	120	125	127	125	155	150	155	184	184	185
7	116	118	121	126	126	132	137	138	135	170	168	170	185	185	184
14	122	128	128	132	132	138	143	144	144	174	173	172	185	185	187
21	125	125	132	138	145	148	151	155	154	179	179	178	185	187	186

Rata-rata daya lekat  $\pm$  SD (detik) :

Hari ke	Rata-rata $\pm$ SD dari uji daya lekat (detik)				
	formula II	formula III	formula IV	formula V	formula VI
2	106,67 $\pm$ 2,88	116,67 $\pm$ 2,88	125,67 $\pm$ 1,15	153,33 $\pm$ 2,88	184,33 $\pm$ 0,57
7	118,33 $\pm$ 2,51	128,00 $\pm$ 3,46	136,67 $\pm$ 1,52	169,33 $\pm$ 1,15	184,67 $\pm$ 0,57
14	126,00 $\pm$ 3,47	134,00 $\pm$ 3,46	143,67 $\pm$ 0,57	173 $\pm$ 1,00	185,87 $\pm$ 1,154
21	127,33 $\pm$ 4,04	143,66 $\pm$ 5,13	153,33 $\pm$ 2,08	178,67 $\pm$ 0,57	186 $\pm$ 1,00

### Uji Statistik Kolmogorof-Smirnov dan Analisis ANOVA Dua Jalan Daya Lekat Krim Kombinasi

#### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		dayalekat
N		60
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	148,75
	Std. Deviation	26,121
	Absolute	,126
Most Extreme Differences	Positive	,126
	Negative	-,125
Kolmogorov-Smirnov Z		,979
Asymp. Sig. (2-tailed)		,294

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Kesimpulan : data terdistribusi normal dengan sig 0,294 (>0,05)

## Univariate Analysis of Variance

### Between-Subjects Factors

		Value Label	N
formula	2	F 3	12
	3	F 4	12
	4	F 5	12
	5	F 6	12
	6	6	12
waktu	1	hari ke 2	15
	2	hari ke 7	15
	3	hari ke 14	15
	4	hari ke 21	15

### Descriptive Statistics

Dependent Variable: dayalekat

formula	waktu	Mean	Std. Deviation	N
F 3	hari ke 2	106,67	2,887	3
	hari ke 7	118,33	2,517	3
	hari ke 14	126,00	3,464	3
	hari ke 21	127,33	4,041	3
	Total	119,58	9,020	12
F 4	hari ke 2	116,67	2,887	3
	hari ke 7	128,00	3,464	3
	hari ke 14	134,00	3,464	3
	hari ke 21	143,67	5,132	3
	Total	130,58	10,732	12
F 5	hari ke 2	125,67	1,155	3
	hari ke 7	136,67	1,528	3
	hari ke 14	143,67	,577	3
	hari ke 21	153,33	2,082	3
	Total	139,83	10,616	12
F 6	hari ke 2	153,33	2,887	3
	hari ke 7	169,33	1,155	3
	hari ke 14	173,00	1,000	3
	hari ke 21	178,67	,577	3
	Total	168,58	9,931	12
6	hari ke 2	184,33	,577	3
	hari ke 7	184,67	,577	3
	hari ke 14	185,67	1,155	3
	hari ke 21	186,00	1,000	3
	Total	185,17	1,030	12
Total	hari ke 2	137,33	29,227	15
	hari ke 7	147,40	26,273	15
	hari ke 14	152,47	23,877	15
	hari ke 21	157,80	22,729	15
	Total	148,75	26,121	60

**Levene's Test of Equality of Error Variances<sup>a</sup>**

Dependent Variable: dayalekat

F	df1	df2	Sig.
3,682	19	40	,000

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

a. Design: Intercept + formula + waktu + formula \* waktu

Kesimpulan : data tidak homogen dengan nilai sig 0,00 (<0,05).

**Estimated Marginal Means****1. formula**

Dependent Variable: dayalekat

formula	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
F 2	119,583	,719	118,131	121,036
F 3	130,583	,719	129,131	132,036
F 4	139,833	,719	138,381	141,286
F 5	168,583	,719	167,131	170,036
F 6	185,167	,719	183,714	186,619

**2. waktu**

Dependent Variable: dayalekat

waktu	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
hari ke 2	137,333	,643	136,034	138,633
hari ke 7	147,400	,643	146,101	148,699
hari ke 14	152,467	,643	151,167	153,766
hari ke 21	157,800	,643	156,501	159,099

Kesimpulan : formula 6 menunjukkan daya lekat krim yang paling lama, selain itu semakin lama daya lekat dari masing-masing formula menunjukkan peningkatan.

## Post Hoc Tests

### formula

#### Homogeneous Subsets

##### dayalekat

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

formula	N	Subset				
		1	2	3	4	5
F 3	12	119,58				
F 4	12		130,58			
F 5	12			139,83		
F 6	12				168,58	
6	12					185,17
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) = 6,200.

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

b. Alpha = ,05.

### waktu

#### Homogeneous Subsets

##### dayalekat

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

waktu	N	Subset			
		1	2	3	4
hari ke 2	15	137,33			
hari ke 7	15		147,40		
hari ke 14	15			152,47	
hari ke 21	15				157,80
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

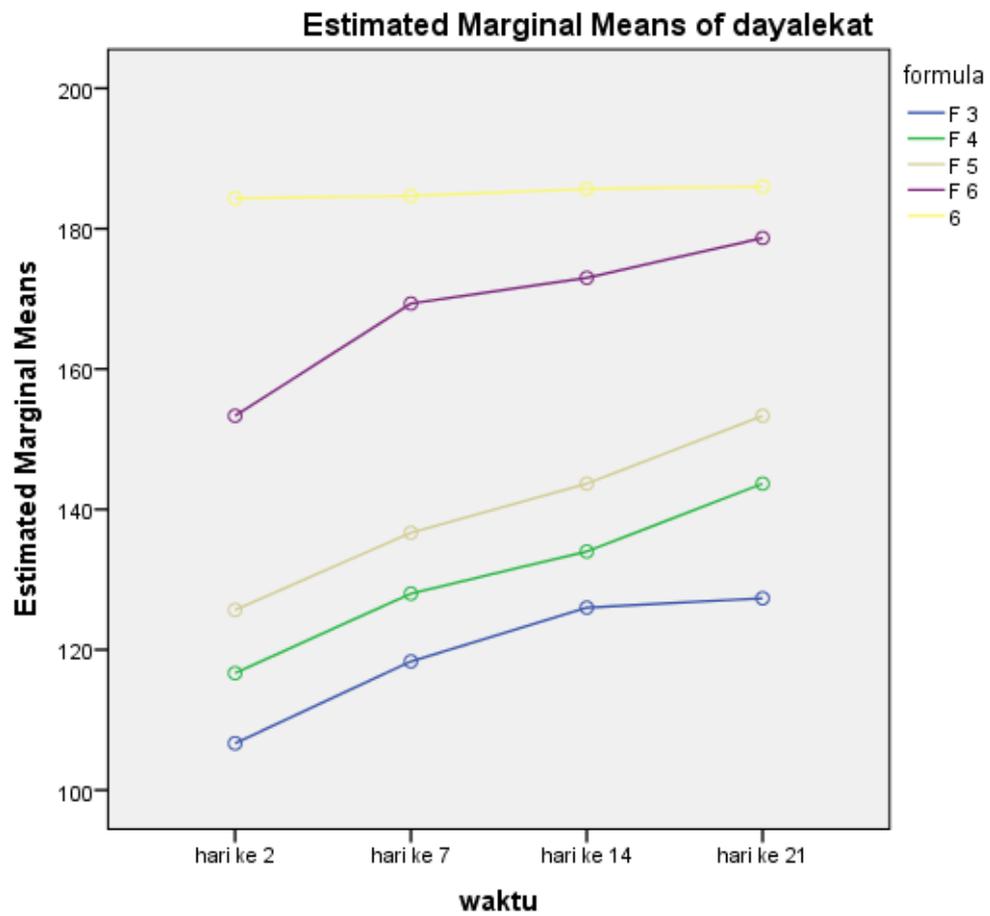
The error term is Mean Square(Error) = 6,200.

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

b. Alpha = ,05.

Kesimpulan : daya lekat masing-masing formula terdapat perbedaan, selain itu semakin lama daya lekat dari masing-masing formula menunjukkan peningkatan.

## Profile Plots



### Lampiran 13. Pembuatan media *Nutrient Agar*

Komposisi (gram/liter) :

<i>Peptic digest of animal tissue</i>	5.000
<i>Sodium chloride</i>	5.000
<i>Beef extract</i>	1.500
<i>Yeast extract</i>	1.500
<i>Agar</i>	15.000
<i>Final pH (at 25<sup>0</sup>C)</i>	7.4±0.2

Cara pembuatan :

Larutkan 28 gram dalam 1000 ml aqua dest. Panaskan hingga mendidih agar media tercampur sempurna, lalu masukkan dalam tabung reaksi dan sterilisasi menggunakan *autoclave* (121<sup>0</sup>C) selama 15 menit.

Penimbangan bahan :

Pembuatan media sebanyak 15ml (1 tabung reaksi) =  $\frac{28 \text{ gram}}{1000 \text{ ml}} 15 \text{ ml} = 0,42 \text{ gram}$

Jadi untuk pembuatan 1 tabung media *Nutrient Agar* yang dibutuhkan sebanyak 0,42 gram.

#### Lampiran 14. Pembuatan media *Vogel Johnson's Agar* (VJA)

Komposisi (gram/liter) :

<i>Tryptone</i>	10.000
<i>Yeast extract</i>	5.000
<i>Mannitol</i>	10.000
<i>Dibasic potassium phosphate</i>	5.000
<i>Lithium chloride</i>	5.000
<i>Glycine</i>	10.000
<i>Phenol red</i>	0.0025
<i>Agar</i>	16.000
<i>pH after sterilization (at 25°C)</i>	7.2±0.2

Cara pembuatan :

Larutkan 61 gram media dalam 1000 ml aqua dest, lalu panaskan sambil diaduk hingga larut. Sterilisasi dengan *autoclave* (121°C) selama 15 menit. Dinginkan hingga 50°C kemudian tambahkan 1 tetes kalium tellurite 1%.

Penimbangan bahan :

Pembuatan untuk 1 tabung (10 ml) =  $\frac{61 \text{ gram}}{1000 \text{ ml}} \times 10 \text{ ml} = 0,61 \text{ gram}$

Penimbangan untuk 31 tabung =  $31 \times 0,61 \text{ gram} = 18,91 \text{ gram}$

Jadi penimbangan media VJA untuk 31 tabung adalah 18,91 gram.

**Lampiran 15. Identifikasi bakteri *Staphylococcus epidermidis***

Identifikasi umum (pewarnaan gram) :



Identifikasi khusus (penggoresan pada media VJA) :



Identifikasi yang dilakukan di Balai Laboratorium Kesehatan Yogyakarta :



PEMERINTAH DAERAH DAERAH ISTIMEWA YOGYAKARTA  
DINAS KESEHATAN  
**BALAI LABORATORIUM KESEHATAN YOGYAKARTA**  
Ngadinegaran MJ III/62 Yogyakarta Telepon (0274) 378187 Facsimile (0274) 381582  
Website : <http://jogjaprovo.go.id> Email : [labkes\\_yk@yahoo.com](mailto:labkes_yk@yahoo.com) Kode Pos 55143

SERTIFIKAT HASIL UJI

Pengujian Mikrobiologi

1. Contoh Uji : Stock Strain Balai Laboratorium Kesehatan Yogyakarta
2. Asal Contoh uji : Oxoid
3. Penguji : Evina WA, SST.
4. Jabatan : PLK Ahli Pertama Balai Lab. Kesehatan Yogyakarta
5. Tanggal Pengujian : 13-20 Maret 2017
6. Peminta : Mulya Dewi
7. Alamat : Univ. Setia Budi Surakarta

Uraian : Biakan murni *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228

NO	PARAMETER	SATUAN	HASIL UJI	METODE
1	<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	Tabung	Uji isolasi dan Identifikasi sesuai dengan karakteristik strain <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228.	Biakan & Identifikasi

Catatan :

1. Hasil uji ini hanya berlaku untuk contoh yang diuji

Yogyakarta, 20 Maret 2017

Manager Teknik,



Septi Widayastuti, S.Si., M.Kes.  
NIP.197109051996032004





## Lama penyembuhan jerawat :

Kelinci	Lama penyembuhan (hari)					
	Formula 1	Formula 2	Formula 3	Formula 4	Formula 5	Formula 6
1	26	16	20	10	10	8
2	26	18	20	6	8	10
3	24	12	10	6	16	12
4	22	14	20	10	14	10
5	28	18	8	8	12	6
6	24	16	6	10	8	8

## Analisis ANOVA Satu Jalan Lama Penyembuhan Jerawat Punggung Kelinci

## One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Hari
N		36
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	13,89
	Std. Deviation	6,537
Most Extreme Differences	Absolute	,196
	Positive	,196
	Negative	-,114
Kolmogorov-Smirnov Z		1,178
Asymp. Sig. (2-tailed)		,125

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Kesimpulan : data terdistribusi normal dengan sig 0,125 (&gt;0,05)

## Oneway

## Descriptives

Hari

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Formula 1	6	25,00	2,098	,856	22,80	27,20	22	28
Formula 2	6	15,67	2,338	,955	13,21	18,12	12	18
Formula 3	6	14,00	6,693	2,733	6,98	21,02	6	20
Formula 4	6	8,33	1,966	,803	6,27	10,40	6	10
Formula 5	6	11,33	3,266	1,333	7,91	14,76	8	16
Formula 6	6	9,00	2,098	,856	6,80	11,20	6	12
Total	36	13,89	6,537	1,089	11,68	16,10	6	28

## ANOVA

Hari

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1127,556	5	225,511	18,384	,000
Within Groups	368,000	30	12,267		
Total	1495,556	35			

Kesimpulan : terdapat perbedaan yang bermakna pada setiap krim dalam waktu penyembuhan jerawat punggung kelinci

## Post Hoc Tests

## Homogeneous Subsets

Hari

Student-Newman-Keuls<sup>a</sup>

Formula Krim	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Formula 4	6	8,33		
Formula 6	6	9,00		
Formula 5	6	11,33	11,33	
Formula 3	6		14,00	
Formula 2	6		15,67	
Formula 1	6			25,00
Sig.		,313	,098	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

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

Kesimpulan : krim formula 4 (sirsak 25mg/ml : sirih 10mg/ml) merupakan krim yang paling cepat untuk menyembuhkan jerawat

**Lampiran 17. Gambar jerawat punggung kelinci**

Sehari setelah penyuntikan bakteri



Perlakuan selama 4 hari kelinci ke-6



Perlakuan selama 24 hari kelinci ke-5



Pengambilan nanah jerawat punggung kelinci



Kelinci ke-1 setelah diberi perlakuan selama 28 hari

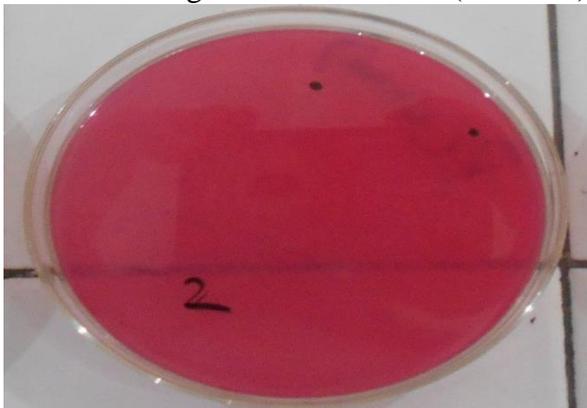


**Lampiran 18. Gambar perhitungan koloni bakteri *Staphylococcus epidermidis***

Perlakuan dengan krim Formula 4 (hari ke-2)



Perlakuan dengan krim Formula 4 (hari ke-7)



Perlakuan dengan krim formula 3 (hari ke-2)



## Lampiran 19. 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 : Mulya Dewi

Nim : 19133796 A

Institusi : Universitas Setia Budi Surakarta

Merupakan hewan uji dengan spesifikasi sebagai berikut:

Jenis hewan : Kelinci New Zealand

Umur : 2-3 bulan

Jumlah : 6 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, 9 Agustus 2017

Hormat kami



Sigit Pramono  
 "ABIMANYU FARM"