

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



**Oleh :**

**Indah Ana Resti  
19133952A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2017**

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

**SKRIPSI**

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

**Oleh :**

**Indah Ana Resti  
19133952A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2017**

**PENGESAHAN SKRIPSI**  
**Berjudul:**

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

**Oleh :**

**Indah Ana Resti  
19133952A**

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji  
Skripsi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta  
Pada tanggal : 24 Juli 2017



Mengetahui,  
Fakultas Farmasi  
Universitas Setia Budi

Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt.

Pembimbing Utama,

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

## **PERSEMBAHAN**

**“ Yakinlah ada sesuatu yang menantimu selepas banyak kesabaran (yang kau jalani), yang akan membuatmu terpana hingga kau lupa betapa pedihnya rasa sakit”**

**–Ali bin Abi Thalib-**

Ku persembahkan skripsi ini sebagai rasa syukurku kepada **Allah Swt** yang selalu memberikan rahmat, taufiq, dan hidayahnya dan kepada junjungan besar **Nabi Muhammad Saw.**

Trimakasih, kedua orangtua **Ayah Dan Ibu** yang sangat aku cintai sebagai ungkapan hormat dan baktiku atas dukungan, segala kesabaran, pengertian, perhatian, cinta dan kasih serta do'a yang tiada putus-putusnya.

Trimakasih, **Kakakku dan Adikku** atas semangat dan cinta kasih persaudaraan yang begitu kuat. Semoga kita sukses dan bisa sama – sama membahagiakan kedua orangtua kita Amin.

Trimakasih, **keluarga Besarku** atas do'a, dukungan, dan nasehat selama ini.

Trimakasih, **Guru dan Dosen** yang telah memberikan ilmu pengetahuan, nasehat dan do'a selama ini.

Trimakasih, keluargaku di tanah Perantauan **kak Fadillah Gobel, bang Angga, bang Miko, kak Elsa, Insani fitri, Sasa, Desinta, Meida, Qurota dan keluarga besar IKAMALA SOLO** untuk dukungan doa, semangat, motivasi dan hiburan selama kota Surakarta

Trimakasih, Sahabat-sahabatku **Heplin, kak Uwik, Ayunda, Zahrina, Yanda, Mufarica, Faiz, Nuzul, Tanti, kak Imam, kak Dono** untuk bantuan, dukungan, doa, semangat selama ini

Trimakasih, Sahabat-sahabat terbaikku dilampung, **shafina azzahra, fitria, rita, andika, andre, fitra, arif** atas dukungan semangat serta doanya walaupun hanya lewat social media.

Terimakasih untuk seluruh **Teori 4 FKK 4 dan FKK 2** yang telah sama-sama berjuang selama 4 tahun ini, selalu memberikan semangat satu sama lain, semoga kedepannya kita sama-sama berhasil Amin.

Seluruh teman-temanku yang selalu ada dalam suka dan dukaku.

Agama, Almamater, Bangsa, dan Negara.

## **PERNYATAAN**

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

Saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari peneliti/karya ilmiah/skripsi orang lain.

Surakarta, 24 Juli 2017



Indah Ana Resti

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat, nikmat, dan karunia-Nya. Sholawat serta salam semoga senantiasa tercurahkan kepada baginda Nabi Muhammad SAW, kepada keluarganya, para sahabatnya, hingga kepada umatnya sampai akhir zaman. Alhamdullah penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul: “**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI SEDIAAN KRIM KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona muricata L.*) DAN EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH (*Piper betle L.*) TERHADAP INFEKSI PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus aureus* SECARA *in vivo***” Penyusunan skripsi ini bertujuan untuk memenuhi persyaratan guna mencapai gelar Sarjana dalam Ilmu Farmasi pada Universitas Setia Budi Surakarta.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini, banyak mendapatkan bantuan, bimbingan, saran dari berbagai pihak. Oleh karena itu pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Dr. Djoni Tarigan, MBA., selaku rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
2. Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Dwi Ningsih, S.Si., M. Farm., Apt dan Fransiska leviana, S.Farm., M.Si., Apt. selaku pembimbing utama dan pembimbing pendamping yang telah bersedia banyak meluangkan waktu, memberi bimbingan, nasihat, dan semangat selama penelitian dan penulisan skripsi ini.
4. Tim penguji yang telah meluangkan waktu untuk menguji dan memberi masukan untuk menyempurnakan skripsi ini.
5. Pembimbing akademik Ilham Kuncahyo, S.Si., Apt., M.Sc yang telah membantu dan mendukung sejak awal kuliah hingga akhir.
6. Segenap dosen, karyawan, dan staf Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta yang telah banyak membantu demi kelancaran dan selesainya skripsi ini.

7. Segenap karyawan Laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta yang telah memberikan fasilitas dan bantuan selama penelitian.
8. Segenap karyawan perpustakaan Universitas Setia Budi Surakarta yang telah menyediakan fasilitas dan referensi buku-buku untuk menunjang dan membantu kelancaran dan selesainya skripsi ini.
9. Ayah, Ibu, Kakak, Adik, dan seluruh keluarga besar, terimakasih untuk cinta, kasih sayang, doa, dukungan, semngat, perhatian moril maupun material yang diberikan selama ini.
10. Sahabatku di lampung, Shafina, Fitri, Rita, Septy, Andre, Andika, Arif, Fitra dan Roy terimakasih atas doa, dukungan selama ini.
11. Teman tim Mulya Dewi terimakasih untuk kerjasamanya, terimakasih telah menjadi teman yang baik, selalu ada dikala sulit dan bahagia.
12. Keluarga besar IKAMALA SOLO terimakasih telah menjadi keluarga serta sahabat yang baik, sahabat yang selalu mendukung dan mendoakan aku selama ini.
13. Keluarga besar Kost Dessy, untuk kejailannya, perhatian, doa, dan kasih sayangnya selama ini.
14. Seluruh teman-teman Farmasi angkatan 2013, terutama Yanda, Zahrina, Faiza, Mufarica, FKK 4, FKK 2, dan teman-teman semuanya, terimakasih untuk doa dan semngatnya selama ini.
15. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Akhir kata “Tak ada gading yang tak retak“ begitu pula dengan penyusunan skripsi ini, yang masih jauh dari kata sempurna karena kesempurnaan hanyalah milik Allah. Oleh karena itu penulis sangat mengharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun untuk memperbaiki skripsi ini. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat diambil manfaatnya sehingga dapat memberikan inspirasi dan pembelajaran bagi siapa saja yang mempelajarinya.

Surakarta, 24 juli 2017

## DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL .....	i
PENGESAHAN SKRIPSI.....	ii
PERNYATAAN .....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
INTISARI .....	xvi
ABSTRACT.....	xvii
BAB I PENDAHULUAN .....	1
A. Latar Belakang .....	1
B. Rumusan Masalah .....	5
C. Tujuan Penelitian.....	5
D. Kegunaan Penelitian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
A. Klasifikasi Tanaman.....	7
1. Klasifikasi tanaman sirsak ( <i>Annona muricata L.</i> ).....	7
2. Nama daerah.....	7
3. Morfologi tanaman .....	7
4. Kandungan kimia dalam daun sirsak ( <i>Annona muricata L.</i> ) ....	8
5. Kegunaan daun sirsak ( <i>Annona muricata L.</i> ).....	8
B. Sirih ( <i>Piper betle L.</i> ) .....	8
1. Klasifikasi tanaman sirih ( <i>Piper betle L.</i> ) .....	8
2. Nama daerah.....	9
3. Morfologi tanaman .....	9
4. Kandungan kimia daun sirih ( <i>Piper betle L.</i> ).....	9
5. Kegunaan daun sirih ( <i>Piper betle L.</i> ) .....	9
C. Simplisia.....	10
1. Penggolongan simplisia.....	10
1.1 Simplisia nabati.....	10
1.2 Simplisia hewani .....	10

1.3	Simplisia pelican.....	10
2.	Pengeringan simplisia .....	10
2.1	Pengeringan alamiah. ....	10
2.2	Pengeringan buatan. ....	11
D.	Ekstrak.....	11
1.	Metode Ekstraksi.....	11
2.	Penggolongan ekstrak .....	11
2.1	Ekstrak kering ( <i>Extractum siccum</i> ). ....	11
2.2	Ekstrak cair ( <i>Extractum liquidum</i> ). ....	12
2.3	Ekstrak kental ( <i>Extractum spissum</i> ). ....	12
3.	Merasi .....	12
4.	Pelarut.....	13
E.	Efek Kombinasi .....	13
F.	<i>Staphylococcus aureus</i> .....	14
1.	Klasifikasi <i>Staphylococcus aureus</i> .....	14
2.	Morfologi Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	14
3.	Pathogenesis .....	15
4.	Mekanisme Kerja Antibakteri .....	15
5.	Infeksi.....	16
G.	Krim.....	16
1.	Penggolongan krim .....	17
2.	Metode pembuatan krim.....	17
3.	Stabilitas sediaan krim .....	17
4.	Evaluasi sediaan krim.....	18
4.1	Organoleptis.....	18
4.2	Evaluasi pH.....	18
4.3	Evaluasi daya sebar.....	18
4.4	Evaluasi penentuan ukuran droplet.....	18
H.	Binatang Percobaan.....	19
1.	Sistematika binatang percobaan .....	19
2.	Data biologi .....	19
3.	Cara penanganan kelinci .....	20
I.	Landasan Teori .....	20
J.	Hipotesis.....	24
BAB III	METODE PENELITIAN .....	25
A.	Populasi dan Sampel .....	25
1.	Populasi .....	25
2.	Sampel.....	25
B.	Variabel Penelitian .....	25
1.	Identifikasi Variabel Utama .....	25
2.	Klasifikasi Variabel Utama .....	25
3.	Definisi Oprasional Variabel Utama .....	26
C.	Bahan dan Alat .....	27
1.	Bahan.....	27
1.1.	Bahan Sampel.....	27

1.2. Hewan Uji. ....	28
1.3. Bakteri Uji. ....	28
1.4. Media.....	28
1.5. Krim untuk kelompok kontrol obat,.....	28
1.6. Bahan-bahan lain.....	28
2. Alat.....	28
D. Jalannya Penelitian .....	28
1. Determinasi dan identifikasi tanaman .....	28
2. Pembuatan Serbuk.....	29
3. Identifikasi Serbuk .....	29
4. Pemeriksaan Organoleptis Serbuk .....	29
5. Penetapan Susut Pengeringan.....	29
6. Pembuatan kombinasi ekstrak.....	30
7. Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia.....	31
7.1 Penyiapan Sampel.....	31
7.2 Identifikasi Flavonoid. ....	31
7.3 Identifikasi Tanin. ....	31
7.4 Identifikasi Saponin. ....	31
8. Uji Bebas Etanol.....	31
9. Pembuatan krim.....	32
10. Pengujian Sediaan krim.....	32
10.1. Uji Organoleptik.....	32
10.2. Uji Homogenitas. ....	33
10.3. Uji viskositas.....	33
10.4. Uji daya sebar.....	33
10.5. Uji daya lekat. ....	34
11. Pembuatan Suspensi Bakteri Uji <i>Staphylococcus aureus</i> .....	34
12. Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	34
13. Penyiapan Hewan Uji .....	35
14. Pengujian Efek Antibakteri .....	35
15. Pengujian bakteri dari nanah .....	37
16. Perhitungan jumlah bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dari nanah .....	38
 BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	39
A. Hasil Determinasi Daun Sirsak ( <i>Annona muricata L.</i> ) Dan Daun Sirihi ( <i>Piper betle L.</i> ) .....	39
B. Hasil Pembuatan Kombinasi Ekstrak Daun Sirsak ( <i>Annona         muricata L.</i> ) Dan Daun Sirihi.....	40
1. Pengumpulan bahan daun sirsak ( <i>Annona muricata L.</i> ) dan daun sirih ( <i>Piper betle L.</i> ) .....	40
2. Pembuatan serbuk daun sirsak ( <i>Annona muricata L.</i> ) dan daun sirih ( <i>Piper betle L.</i> ) .....	40
3. Identifikasi Serbuk Daun Sirsak ( <i>Annona muricata L.</i> ) Dan Daun Sirihi ( <i>Piper betle L.</i> ). ....	41
Hasil pemeriksaan organoleptis serbuk daun sirsak.....	41

4.	Hasil penetapan susut pengeringan daun sirsak ( <i>Annona muricata</i> L.) dan daun sirih ( <i>Piper betle</i> L.) .....	41
5.	Hasil pembuatan ekstrak etanol 70% daun sirsak ( <i>Annona muricata</i> L.) dan daun sirih ( <i>Piper betle</i> L.) .....	42
6.	Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak daun sirsak ( <i>Annona muricata</i> L.) dan daun sirih ( <i>Piper betle</i> L.) .....	43
7.	Hasil uji bebas etanol pada ekstrak etanol 70% pada daun sirsak ( <i>Annona muricata</i> L.) dan daun sirih ( <i>Piper betle</i> L.) ..	43
C.	Hasil Pembuatan Krim Kombinasi Ekstrak Daun sirsak ( <i>Annona muricata</i> L.) dan daun sirih ( <i>Piper betle</i> L.) .....	44
1.	Hasil pengujian mutu fisik sediaan krim kombinasi daun sirsak ( <i>Annona muricata</i> L.) daun sirih ( <i>Piper betle</i> L.).....	44
1.1	Uji organoleptis krim. ....	44
1.3.	Uji pH krim. ....	45
1.4.	Uji viskositas krim. ....	46
1.5.	Uji daya sebar krim. ....	47
1.6.	Uji daya lekat krim. ....	49
D.	Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri.....	49
1.	Hasil identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	49
1.1.	Identifikasi bakteri dengan cawan gores. ....	49
2.	Hasil pengujian aktivitas antibakteri secara <i>in vivo</i> .....	51
3.	Hasil perhitungan jumlah bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dari nanah .....	54
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN .....	57
A.	Kesimpulan.....	57
B.	Saran .....	57
DAFTAR PUSTAKA .....	58	
LAMPIRAN .....	63	

## DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 1.	Skema Pembuatan Ekstrak Etanol 70% kombinasi Daun sirsak ( <i>Annona mucarita L</i> ) dan daun sirih ( <i>Piper betle L</i> ). ....	30
Gambar 2.	Skema Identifikasi Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	35
Gambar 3.	Skema Pengujian Efek Antibakteri.....	36
Gambar 4.	Lokasi bagian kulit kelinci diberi perlakuan .....	37
Gambar 5.	Skema pengujian bakteri dari nanah.....	37
Gambar 6.	Histogram hasil uji pH krim kombinasi ekstrak daun sirsak dan daun sirih. ....	46
Gambar 7.	Kurva hasil uji viskositas krim kombinasi ekstrak daun sirsak dan daun sirih. ....	47
Gambar 8.	Histogram hasil uji daya sebar krim kombinasi ekstrak daun sirsak dan daun sirih. ....	48
Gambar 9.	Hasil identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dalam media VJA.....	50
Gambar 10.	Hasil pengecatan bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	50
Gambar 11.	kurva prosentase penyembuhan infeksi. ....	53
Gambar 12.	Grafik hasil pengamatan jumlah koloni bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dari nanah.....	55

## DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 1.	Formulasi krim (fms).....	32
Tabel 2.	Hasil prosentasi bobot kering terhadap bobot basah daun sirsak dan daun sirih .....	40
Tabel 3.	Hasil identifikasi organoleptis serbuk daun sirsak dan daun sirih .....	41
Tabel 4.	Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun sirsak dan daun sirih.....	41
Tabel 5.	Hasil prosentase rendemen ekstrak daun sirsak ( <i>Annona muricata L.</i> ) dan daun sirih ( <i>Piper betle L.</i> ).....	42
Tabel 6.	Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak daun sirsak ( <i>Annona muricata L.</i> ) dan daun sirih ( <i>Piper betle L.</i> ) .....	43
Tabel 7.	Hasil pengujian bebas etanol pada ekstrak etanol 70% daun sirsak ( <i>Annona muricata L.</i> ) dan daun sirih. ....	44
Tabel 8.	Hasil pengujian organoleptis formula krim ekstrak etanol 70% daun sirsak ( <i>Annona muricata L.</i> ) dan daun sirih ( <i>Piper betle L.</i> ) .....	44
Tabel 9.	Hasil Uji Homogenitas Krim Ekstrak Etanol Daun Sirsak Dan Daun Sirih .....	45
Tabel 10.	Uji pH krim ekstrak etanol 70% daun sirsak dan daun sirih. ....	46
Tabel 11.	Hasil Uji Viskositas Krim Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Sirsak Dan Daun Sirih.....	47
Tabel 12.	Hasil uji daya sebar krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun sirih .....	48
Tabel 13.	Hasil uji daya lekat krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun sirih .....	49
Tabel 14.	Rata-rata pengukuran luka pada punggung kelinci dari hari ke-0 sampai hari-20. ....	52
Tabel 15.	Rata-rata penyembuhan infeksi pada punggung kelinci dari hari ke-0 sampai hari 20. ....	53
Tabel 16.	Hasil pengamatan perhitungan jumlah koloni.....	55

## DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1.	Surat keterangan determinasi daun sirsak .....	64
Lampiran 2.	Surat keterangan determinasi daun sirih.....	65
Lampiran 3.	Foto daun sirsak dan daun sirih dan proses maserasi.....	66
Lampiran 4.	Foto alat.....	67
Lampiran 5.	Gambar hasil krim dan alat uji krim.....	70
Lampiran 6.	Perhitungan prosentase rendemen bobot kering terhadap bobot basah daun sirsak dan daun sirih .....	72
Lampiran 7.	Perhitungan penetapan susut pengeringan serbuk daun sirsak dan daun sirih .....	73
Lampiran 8.	Identifikasi organoleptis serbuk daun sirsak dan daun sirih.....	74
Lampiran 9.	Perhitungan prosentase rendemen ekstrak daun sirsak dan daun sirih.....	75
Lampiran 10.	Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak etanol 70% daun sirsak dan sirih.....	76
Lampiran 11.	Perhitungan penimbangan bahan krim .....	78
Lampiran 12.	Gambar uji aktivitas antibakteri krim kombinasi ekstrak etanol 70% daun sirsak dan daun sirih dengan 5 konsentrasi krim pada punggung kelinci yang dibuat infeksi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> . ....	80
Lampiran 13.	Hasil pengamatan inokulasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> pada nanah punggung kelinci setelah pemberian krim kombinasi ekstrak etanol 70% daun sirsak dan sirih. ....	82
Lampiran 14.	Uji viskositas ekstrak etanol 70% daun sirsak dan daun sirih.....	83
Lampiran 15.	Uji daya sebar krim kombinasi ekstrak etanol 70% daun sirsak dan sirih. ....	88
Lampiran 16.	Uji daya lekat krim kombinasi ekstrak etanol 70% daun sirsak dan daun sirih. ....	94
Lampiran 17.	Diameter infeksi pada punggung kelinci hari ke-0 sampai dengan hari ke-22. ....	99

Lampiran 18. Prosentase penyembuhan infeksi <i>Staphylococcus aureus</i> . ....	100
Lampiran 19. Formula dan pembuatan Media.....	103

## INTISARI

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

Tanaman yang diketahui memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* antara lain adalah sirsak (*Annona muricata L.*) dan sirih (*Piper betle L.*). Flavonoid, tanin dan saponin yang terkandung dalam kedua tanaman ini memiliki aktivitas antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun sirih untuk menyembuhkan luka pada punggung kelinci akibat bakteri *Staphylococcus aureus*, mengetahui konsentrasi efektif sediaan krim yang dapat menyembuhkan luka, mengetahui efek farmakologi sediaan krim, dan untuk mengetahui stabilitas krim selama penelitian.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi dengan pelarut etanol 70% Parameter sediaan krim yang diuji adalah kombinasi konsentrasi 12,5%:5%, 25%:5%, 12,5%:10% dan waktu penyimpanan selama 21 hari. Pengamatan waktu penyembuhan luka punggung kelinci dilakukan dengan mengamati lamanya penyembuhan setelah pemberian krim yang ditandai dengan hilangnya eritema, udema dan nanah. Data yang diperoleh dianalisis dengan ANOVA satu jalan (signifikan  $p<0,05$ ).

Krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun sirih memiliki efektivitas penyembuhan infeksi bakteri *Staphylococcus aureus*. Krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun sirih dengan perbandingan konsentrasi sirsak 12,5% : sirih 10% memiliki aktivitas antibakteri yang paling efektif untuk penyembuhan luka akibat *Staphylococcus aureus*. Sediaan krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak 12,5% dan daun sirih 10% memiliki stabilitas krim yang baik.

---

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

## ABSTRACT

**RESTI IA, 2017, ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF CREAM COMBINATION OF SOURSOP (*Annona muricata L.*) LEAVES ETHANOL EXTRACT WITH BETEL (*Piper betel L.*) LEAVES ETHANOL EXTRACT AGAINST *Staphylococcus aureus* *in vivo*, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.**

Plants which were known to have antibacterial effect were soursop (*Annona muricata L.*) and betel (*Piper betel L.*). Flavonoids, tanins, and saponins contained in both soursop and betel had antibacterial activity. The aim of this research was to know the ability of combination cream of ethanol extract of soursop leaves and betel leaves to heal wound on back of rabbit caused by *Staphylococcus aureus* bacteria, to know effective concentration of cream combination that could heal wound, to know pharmacology effect of cream combination, and to know stability of cream during research.

The solvent used in this research was 70% ethanol with the method of extraction was maceration. The parameters of the cream combination observed were concentration 12,5%:5%, 25%:5%, 12,5%:10% and storage time for 21 days. Observation of healing time of rabbit's back wounds was done by observing the duration of healing after the administration of cream characterized by loss of erythema, edema and pus. The data obtained were analyzed by one-way ANOVA (significant p <0.05).

The combination cream of ethanol extract of soursop leaves and betel leaves had the effectiveness of healing bacterial infection of *Staphylococcus aureus*. The combination cream of ethanol extract of soursop leaves and betel leaves with the comparison of soursop concentration 12,5%: betel 10% had the most effective antibacterial activity for wound healing caused by *Staphylococcus aureus*. The combined cream of ethanol extract of soursop leaves and betel leaves had good cream stability.

---

Keywords : Soursop (*Annona muricata L.*), betel (*Piper betel L.*), antibacterial, cream combination, *Staphylococcus aureus*.

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **A. Latar Belakang**

Indonesia merupakan negara tropis, dimana penyakit yang disebabkan oleh bakteri patogen banyak diderita oleh masyarakat (Warsa 1994). *Staphylococcus aureus* adalah bakteri gram positif yang merupakan flora normal pada saluran pernapasan atas dan kulit. *Staphylococcus aureus* biasanya hanya berperan sebagai karier. Infeksi serius akan terjadi ketika resistensi inang melemah karena adanya perubahan hormon; adanya penyakit, luka, atau perlakuan menggunakan steroid atau obat lain yang mempengaruhi imunitas sehingga terjadi pelemahan inang. Kurang lebih 80% obat-obatan yang digunakan oleh masyarakat Indonesia berasal dari tumbuhan. Tumbuhan yang sudah dikenal mengandung berbagai golongan senyawa kimia tertentu sebagai bahan obat yang mempunyai efek fisiologis terhadap organisme lain. Senyawa alam hasil isolasi dari tumbuhan juga digunakan sebagai bahan asal untuk sintesis bahan-bahan biologis aktif dan sebagai senyawa untuk mengobati penyakit infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* (Supardi dan Sukamto dalam Tri, 2010).

Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan penyakit hampir disemua organ, bagian yang paling rentang terkena adalah kulit. Salah satu bakteri pathogen Gram positif adalah *Staphylococcus aureus* yang habitatnya di saluran pernafasan atas (berkoloni di orofaring dan nasofaring), muka, tangan, rambut, dan vagina. Infeksi kulit dan jaringan lunak akibat bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki tanda-tanda yang khas, yaitu peradangan, nekrosis dan pembentukan abses (Shulmat *et al*, 1994).

Kontaminasi bakteri terhadap luka banyak terjadi di Indonesia, itu merupakan alasan mengapa begitu pentingnya sediaan krim yang dibuat dengan memanfaatkan senyawa aktif dari daun sirsak dan sirih sebagai krim untuk luka infeksi. Infeksi adalah invasi tubuh oleh pathogen atau mikroorganisme yang mampu menyebabkan sakit. Beberapa penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* seperti bisul, jerawat, impetigo, dan infeksi luka.

Infeksi yang lebih berat diantaranya pneumonia, mastitis, phlebitis, meningitis, infeksi saluran kemih, osteomyelitis, dan endocarditis (Warsa 1994). Pengobatan infeksi telah banyak dilakukan dengan menggunakan tanaman tradisional baik di Indonesia maupun dunia. Pengobatan terhadap infeksi akibat *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan sediaan yang mengandung antibakteri. Salah satunya Fusycom yang beredar di pasaran, di dalamnya mengandung asam fusidat yang berguna untuk membunuh bakteri terutama *Staphylococcus aureus*. Bakteri *Staphylococcus aureus* sering menjadi resisten terhadap banyak zat antimikroba sehingga sering menimbulkan masalah dalam pengobatan, seperti antibiotik yang telah beredar dipasaran yaitu penisilin, eritromisin, dan amoksisilin (Shulmat et al, 1994).

Masyarakat Indonesia mengenal dan menggunakan tanaman berkhasiat obat sebagai salah satu upaya dalam penanggulangan masalah kesehatan yang dihadapi, jauh sebelum pelayanan kesehatan formal dengan obat-obatan moderen (Wijayakusuma 1992). Tanaman obat telah terbukti aman dikonsumsi karena sudah berabad-abad lamanya dikonsumsi oleh nenek moyang kita. Tanaman obat lebih mudah didapat karena bisa tumbuh dilingkungan sekitar, dikenali orang, mudah digunakan dan tidak berbahaya dalam penggunaan (Soedibyo 1998).

Salah satu tanaman obat yang teridentifikasi dan mungkin sangat berpotensi sebagai sumber baru untuk terapi adalah tanaman kombinasi daun sirsak (*Annona muricata L.*) dan daun sirih (*Piper betle L.*)

Daun sirsak (*Annona muricata L.*) Menurut peneliti dari Institut Teknologi Bandung, Soelaksono Sastrodiharjo daun ke-4 dan ke-5 dari pucuk merupakan daun yang paling berkhasiat dan memiliki kandungan asetogenin pada daun sirsak dapat dimanfaatkan untuk mengobati infeksi pada kulit yang disebabkan oleh beberapa bakteri seperti *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acnes*. Analisis kimia dari ekstrak daun sirsak yang telah dilakukan oleh penelitian sebelumnya, menunjukkan hasil bahwa adanya metabolit sekunder antara lain tannin, steroid, kardiak glikosida dan Mempunyai efek anti bakteri pada beberapa strain bakteri seperti *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*,

*Streptococcus pyogenes*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhimurium* *Klebsiela pneumonia*, dan *Enterobacter aerogenes*.

penelitian sebelumnya yang diujikan terhadap hewan menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata L.*) memiliki aktivitas anti inflamasi.

Sirih adalah tanaman yang tumbuh subur di daerah tropis dan telah digunakan sejak zaman dahulu sebagai tanaman obat. Berbagai penelitian telah dilakukan untuk mengeksplorasi potensi tanaman ini, dari beberapa penelitian dilaporkan bahwa tanaman ini bermanfaat sebagai antifungi, antibakteri, antioksidan, antiinflamasi dan antifertility khasiat anti bakteri daun sirih telah dibuktikan oleh penelitian Suliantari (2008). Daun sirih dapat digunakan untuk pengobatan berbagai macam penyakit diantaranya obat sakit gigi dan mulut, sariawan, abses rongga mulut, luka bekas cabut gigi, penghilang bau mulut, batuk dan serak, hidung berdarah, keputihan, wasir, tetes mata, gangguan lambung, gatal-gatal, kepala pusing, jantung berdebar dan trachoma.

Efek farmakologi dari tanaman sirih bermanfaat sebagai obat menyembuhkan luka yaitu sirih (*Piper betle L.*) Daun sirih digunakan sebagai obat batuk, obat cacing, dan antiseptik pada luka. Pemanfaatan sirih dalam pengobatan tradisional disebabkan adanya sejumlah zat kimia atau alami yang mempunyai aktivitas antimikroba. Menurut Suliantari *et al.* (2008) ekstrak sirih hijau mampu membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* dan karena di dalamnya terkandung bahan kimia yang mempunyai aktivitas anti bakteri yaitu: minyak atsiri, tanin, flavonoid, dan saponin.

Daun sirsak dan daun sirih juga mudah ditemukan di Indonesia, sehingga peluang besar dalam mengembangkan produk tertentu yang berbahan dasar daun sirsak dan daun sirih. Daun sirsak dan daun sirih memiliki aktivitas antibakteri, sehingga penelitian lanjutan dengan membuat sediaan farmasi untuk mempermudah penggunaannya secara topikal yaitu sediaan krim, Sediaan krim dengan berbagai konsentrasi zat aktif diuji efektivitasnya untuk penyembuhan kulit punggung kelinci yang terinfeksi bakteri *Staphylococcus aureus*. Efek farmakologi pada daun sirsak Analisis kimia dari ekstrak daun sirsak yang telah dilakukan oleh penelitian sebelumnya, menunjukkan hasil bahwa adanya metabolit sekunder

antara lain tannin, steroid, kardiak glikosida. dan Mempunyai efek anti bakteri pada beberapa strain bakteri seperti *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Streptococcus pyogenes*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiela pneumonia*, dan *Enterobacter aerogenes*. dari penelitian sebelumnya yang diujikan terhadap hewan menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata L.*) memiliki aktivitas anti inflamasi.

Daun sirsak memiliki potensi sebagai alternatif pengobatan alami yang semakin banyak diteliti. Daun 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 dan secara empiris buah atau daun *Annona muricata L.* manjur mengatasi beragam penyakit. Daun sirsak dapat digunakan untuk mengatasi luka borok, bisul, kejang, jerawat, dan kutu rambut, sedangkan buahnya berkhasiat untuk mengobati kanker, diare, ambeien, dan liver, dari penelitian sebelumnya yang diujikan terhadap hewan menunjukkan bahwa ekstrak etanol dari daun sirsak (*Annona muricata L.*) dapat menjadi sumber zat aktif sebagai anti inflamasi dan penelitian lain mengenai efek antibakteri dari ekstrak sirsak yang diujikan terhadap bakteri Gram positif dan negatif, antara lain *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio cholerae* menunjukkan adanya efek anti bakteri.

Daun sirsak dan daun sirih memiliki aktivitas antibakteri, sehingga penelitian lanjutan dengan membuat krim sediaan farmasi dari kombinasi daun sirsak (*Annona muricata L.*) dan daun sirih (*Piper betle L.*) untuk mempermudah penggunaannya secara topikal yaitu sediaan krim tipe m/a Sediaan krim dengan berbagai konsentrasi zat aktif diuji efektivitasnya untuk penyembuhan kulit punggung kelinci yang terinfeksi bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil penelitian ini diharapkan krim kombinasi daun sirsak (*Annona muricata L.*) dan daun sirih (*Piper betle L.*) memiliki aktivitas yang baik dalam menghambat bakteri secara *in vivo*. Kontaminasi bakteri terhadap luka banyak terjadi di Indonesia, itu merupakan alasan mengapa begitu pentingnya sediaan krim yang dibuat dengan

memanfaatkan senyawa aktif dari daun sirsak (*Annona muricata L.*) dan daun sirih (*Piper betle L.*) krim w/a sebagai krim untuk luka infeksi.

Pemilihan krim sebagai bentuk sediaan karna krim memiliki sifat umum mampu melekat pada permukaan tempat pemakaian dalam waktu cukup lama sebelum sediaan tersebut dibersihkan atau dihilangkan (Lachman dkk. 1994). Selain itu krim lebih mudah dioleskan dan tidak berlemak layak nya sediaan salep (Murini,2003). Krim dikatakan memiliki stabilitas yang baik jika krim tersebut stabil selama masih di pakai untuk mengobati, oleh sebab itu krim harus bebas dari imkompatibilitas dan stabil pada suhu kamar (Widodo 2013).

## B. Rumusan Masalah

Permasalahan yang ada dalam penelitian adalah :

1. Apakah krim dari kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata L.*) dan daun sirih (*Piper betle L.*) dapat menyembuhkan kulit punggung kelinci yang diinfeksi dengan bakteri *Staphylococcus aureus* ?
2. Berapa kombinasi konsentrasi krim yang efektif dalam menyembuhkan kulit punggung kelinci yang diinfeksi dengan bakteri *Staphylococcus aureus* ?
3. Bagaimana efek Farmakologi dari kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata L.*) dan daun sirih (*Piper betle L.*) ?
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

1. Menguji kemampuan krim dengan kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata L.*) dan ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*) dalam menyembuhkan kulit punggung kelinci yang diinfeksi dengan bakteri *Staphylococcus aureus*.
2. Mencari konsentrasi efektif dalam menyembuhkan kulit punggung kelinci yang diinfeksi dengan bakteri *Staphylococcus aureus*.

3. Mengetahui efek farmakodinamik dari daun sirsak (*Annona mucarita* L) dan daun sirih (*Piper betle* L)
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 penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi tentang kegunaan kombinasi dari ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) sebagai antibakteri, khususnya terhadap yang terinfeksi bakteri *Staphylococcus aureus* dan dapat memberi informasi baru bagi masyarakat tentang ilmu pengetahuan khususnya menjadi dasar pengembangan obat tradisional yang menggunakan bahan alam yang banyak terdapat di Indonesia serta dalam upaya meningkatkan pelayanan kesehatan secara lebih luas dan merata kepada masyarakat.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Klasifikasi Tanaman**

##### **1. Klasifikasi tanaman sirsak (*Annona muricata L.*)**

Klasifikasi tanaman sirsak (*Annona muricata L.*) 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 L.</i> (Sunarjono. 2005)

##### **2. Nama daerah**

Nama daerahnya diantaranya: nangka sabrang, nangka landa (Jawa) nangka walanda, sirsak (Sunda) nangka buris (Madura) srikaya jawa (Bali) deureuyan belanda (Aceh) durio ulondro (Nias) durian betawi (Minangkabau) jambu landa (Lampung) langelo walanda (Gorontalo) sirikaya balanda (Bugis) wakano (Nusa laut) naka walanda (Ternate) naka (Flores) ai ata malai (Timor). (Sunarjono. 2005)

##### **3. Morfologi tanaman**

Tanaman sirsak (*Annona muricata L.*) tumbuhan atau pohon yang berbatang utama berukuran kecil dan rendah. memiliki daun berwarna hijau muda, dan tua dengan panjang 6-18 cm lebar 3-7 cm, berbentuk bulat telur, ujung lacip dan ada juga yang tumpul daun bagian atas mengkilap, pinggiran rata dan gundul kusam di bagian bawah daun. Daun tanaman sirsak ini memiliki bau yang sangat menyengat dengan tangkai 3-10 mm (Sunarjono. 2005)

#### **4. Kandungan kimia dalam daun sirsak (*Annona muricata L.*)**

Daun sirsak memiliki kandungan kimia berupa alkaloid, tannin dan beberapa kandungan lainnya termasuk senyawa annonaceous acetogenin. annonaceous acetogenins merupakan senyawa yang memiliki potensi sitotoksik. Bersifat toksik untuk menghambat dan menghentikan pertumbuhan sel kanker (Mardiana 2011). Menurut Robinson (1995) kandungan senyawa dalam daun sirsak antara lain steroid/terpenoid, flavonoid, kumarin, alkaloid dan tannin. Senyawa flavonoid berfungsi sebagai antioksidan untuk penyakit kanker, anti mikroba, antivirus, pengatur fotosintesis, dan pengatur tubuh.

#### **5. Kegunaan daun sirsak (*Annona muricata L.*)**

Daun sirsak (*Annona muricata L.*) dimanfaatkan sebagai pengobatan alternatif untuk pengobatan kanker, demam, diare, anti kejang, anti jamur, anti parasit, anti mikroba, sakit pinggang, asam urat, gatal-gatal, bisul, flu dan lainnya (Mardiana 2011).

Menurut Holdworth (1990) dalam Restuati (2013) juga menyebutkan bahwa daun sirsak juga berpotensi sebagai anti hipertensi, anti pasmodik, obat Pereda nyeri, hipoglikemik, anti kanker, emetik (menyebabkan muntah), vermifuge (pembasmi cacing), kaena banyak manfaat dari daun sirsak membuat orang beralih mengkonsumsi suplemen herbal daun sirsak sebagai alternatif pencegahan dan pengobatan konvensional.

### **B. Sirih (*Piper betle L.*)**

#### **1. Klasifikasi tanaman sirih (*Piper betle L.*)**

Klasifikasi tanaman sirih (*Piper betle L.*) menurut Steenis (1963) adalah sebagai berikut :

Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Classis	: Dicotyledoneae
Ordo	: Piperales
Familia	: Piperaceae
Genus	: Piper

Spesies : *Piper betle* L.

## **2. Nama daerah**

Nama daerahnya diantaranya: sumatra sirih (*Piper betle* L.) disebut dengan ranub, purokuwo (Aceh) demban, burangir, (Batak) sireh, suruh (Palembang) cambia (Lampung) sedah, suruh (Jawa) seureuh (sunda) sere (Madura) base, sedah (Bali) nahi, kuta, mota (Nusa tenggara) uwit, buyu, sirih (Kalimantan) ganjang, gapura, lalama (sulewesi) papek, rambika, kakina (Maluku) reman (Irian) (Sudewo 2009).

## **3. Morfologi tanaman**

Tanaman sirih biasanya mencapai tinggi 5-15 cm. batang sirih berwarna coklat kehijauan, berbentuk bulat, beruas dan merupakan keluarnya akar. Tanaman sirih mempunyai banyak spesies dan memiliki jenis yang beragam, seperti jingga, sirih hijau, sirih kuning, sirih hitam, dan sirih merah. jenis tanaman sirih memiliki ciri ciri hampir sama yaitu tumbuh merambat dan memiliki daun yang berbentuk seperti hati. Lebar daun 2,5 -10,5 cm dan panjang daun 5-18 cm (Syamsuhidayat dan Hutapea. 1991).

## **4. Kandungan kimia daun sirih (*Piper betle* L.)**

Kandungan kimia daun sirih yang memberi khas adalah minyak asitri. Daun sirih dapat digunakan sebagai antibakteri karena mengandung 4,2% minyak asitri yang sebagian besar terdiri dari betaphenol, yang merupakan isomer eugenol allypirocatechine, cineol methyl eugenol, caryophyllen (siskuiterpen) kavikol, kavibekol, estragol dan terpinen (Syamsuhidayat dan Hutapea. 1991).

## **5. Kegunaan daun sirih (*Piper betle* L.)**

Daun sirih (*Piper betle* L.) berkhasiat menghilangkan bau badan yang ditimbulkan bakteri dan cendawan. Daun sirih juga bersifat menahan pendarahan menyembuhkan luka pada kulit, dan gangguan saluran pencernaan dan juga besifat mengerutkan, mengeluarkan dahak, meluruhkan ludah, hemostatik, dan menghentikan perdarahan (Syamsuhidayat dan Hutapea. 1991).

### C. 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 dibagi menjadi 3 jenis yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan atau mineral (Anonim 1985). Cara pembuatan simplisia melalui tahap yaitu pengumpulan bahan baku, sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering, pengepakan, penyimpanan dan pemeriksaan mutu (Anonim 1985).

#### 1. Penggolongan simplisia

**1.1 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 1985).

**1.2 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 1985).

**1.3 Simplisia pelican.** 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 1985).

#### 2. 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 aktifitasnya berubah. Berdasarkan metode pengeringan simplisia ada 2 macam yaitu pengeringan secara alamiah dan pengeringan secara buatan.

**2.1 Pengeringan alamiah.** Pengeringan alamiah 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.

**2.2 Pengeringan buatan.** Pengeringan buatan 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.

#### D. Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan cara mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa dilakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan. Pembuatan ekstrak dimaksudkan agar zat berkhasiat yang terkandung dalam bentuk yang mempunyai kadar tinggi dan memudahkan pengaturan dosis zat berkhasiat (Anief 2000). Campuran bahan padat dan cair (misalnya bahan alami) seringkali tidak dapat atau sukar dipisahkan dengan metode pemisahan mekanis atau termis. Faktor yang dapat mempengaruhi metode ekstraksi seperti sifat-sifat bahan mentah, adanya penyesuaian dari tiap macam metode ekstraksi dan kepentingan dalam memperoleh ekstrak yang sempurna atau mendekati sempurna (Ansel 1989).

##### 1. Metode Ekstraksi

Beberapa metode yang sering digunakan dalam ekstraksi diantaranya: Maserasi, infusa, digesti, dekoksi, perkolasii, soxhlet, ekstraksi aqueous alkoholik yang difermentasi, ekstraksi Counter-current, dan sonikasi.

##### 2. Penggolongan ekstrak

Berdasarkan konsistensinya, ekstrak dapat digolongkan menjadi 3 :

**2.1 Ekstrak kering (Extractum siccum).** Ekstrak kering adalah sediaan berbentuk serbuk, dibuat dari ekstrak tumbuhan melalui penguapan pelarutnya.

Sediaan ini konsistensinya kering dan mudah digosokkan dan penguapan cairan pengekstraksi dan pengeringan sisanya, akan terbentuk suatu produk yang sebaiknya memiliki kandungan lembab tidak lebih dari 5% (Voigt 1994)

**2.2 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).

**2.3 Ekstrak kental (*Extractum spissum*).** Ekstrak kental adalah sediaan kental yang dibuat dari simplisia yang kemudian diuapkan pelarutnya ekstrak ini di liat dalam keadaan dingin dan tidak dapat dituang. Kandungan airnya berjumlah sampai 30% (Voigt 1994). Ekstraksi dengan penggunaan pelarut dengan menggunakan metode pelarut.

### 3. Maserasi

Maserasi berasal dari kata macerase 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 temperatur 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). 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 teknologi 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).

#### **4. 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 dapat juga 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).

#### **E. Efek Kombinasi**

Kombinasi obat adalah campuran dua atau lebih obat dalam satu formulasi atau dua obat yang berbeda diminum dalam waktu yang sama. Kombinasi obat dapat menimbulkan interaksi, sehingga terjadi suatu peningkatan atau penurunan efek dari obat tersebut.

Efek kombinasi dari beberapa agent kimia yang berbeda dapat dilihat dengan cara melihat hubungan dosis yang linier dan terdapat interaksi antara dua agent kimia yaitu aditif, sinergis, dan antagonis. Aditif dapat terjadi jika efek gabungan yang ditimbulkan oleh dua zat kimia sebanding dengan jumlah efek dari masing-masing agent. Antagonis merupakan kebalikan dari sinergis yaitu jika efek antagonis muncul akibat penetralan zat kimia atau efeknya lebih lemah dari pada jumlah yang diberikan dari masing-masing agent (Alatas & Nurhayati 2006).

#### **F. *Staphylococcus aureus***

##### **1. Klasifikasi *Staphylococcus aureus***

Klasifikasi *Staphylococcus aureus* menurut (Brooks ad al, 2005) adalah sebagai berikut :

Kingdom	:	Monera
Divisio	:	Eukariota
Classis	:	Schizomycetes
Ordo	:	Eubacteriales
Familia	:	Micrococcaceae
Genus	:	<i>Staphylococcus</i>
Spesies	:	<i>Staphylococcus aureus</i>

##### **2. Morfologi Bakteri *Staphylococcus aureus***

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif, berbentuk kokus atau sferis (bulat) yang berukuran 0,8-1,0 mikron, yang mempunyai susunan seperti buah anggur, dan pada kondisi tertentu bisa mempunyai susunan satu-satu, berpasangan, atau dalam bentuk rantai pendek tidak bergerak dan tidak membentuk sepora sehingga hampir dapat tumbuh di segala macam medium pertumbuhan. Pertumbuhan paling baik berada di dalam kondisi aerobik (banyak oksigen) walaupun dapat juga tumbuh pada kondisi sedikit oksigen. Tumbuh subur pada suhu antara 25°C-35°C dan pH optimum 7,4 (Anonim 1994)

*Staphylococcus aureus* mengandung polisakarida dan protein yang berfungsi sebagai antigen dan merupakan substansi penting didalam struktur dinding sel, tidak membentuk sepora, dan tidak membentuk flagel.

*Staphylococcus aureus* dapat meragikan banyak karbohidrat dengan lambat, menghasilkan asam laktat tetapi tidak menghasilkan gas. strain resisten terhadap penisilin karena membentuk penisilinase (beta-laktamase), suatu enzim yang merusak penisilin dengan memecahkan cincin beta-laktam. Pembentukannya diatur oleh plasmid yang dapat dipindahkan oleh bakteriofage (transduksi). Plasmid juga membawa kontrol genetik resistensi terhadap antibiotika lainnya, misalnya eritromisin dan tetrasiiklin (Anonim 1994)

### **3. Pathogenesis**

*Staphylococcus aureus* memproduksi enzim koagulase positif sebagai faktor patogenitasnya, itu yang membedakan *Staphylococcus aureus* dari Stafilocokus lainnya (Jawetz *et al* 2012). *Staphylococcus aureus* merupakan penyebab infeksi yang bersifat pyogenes (pembentuk pus/nanah). Bakteri ini masuk ke dalam tubuh melalui folikel rambut, kelenjar keringat atau luka-luka kecil. *Staphylococcus aureus* paling rentang terhadap penyakit kulit seperti bisul. Infeksi kulit akibat bakteri ini termasuk penyakit infeksi yang paling sering ditularkan secara langsung keorang lain. *Staphylococcus aureus* patogen sering menghemolisis darah dan mengkoagulasi serta menyebar luas dalam jaringan sekitarnya melalui darah dan limfa. Pernanahan yang bersifat menahun dan timbul radang yang disebut osteomyelitis. Perluasan lain juga dapat sampai paru-paru, selaput otak dan sebagainya (Jawetz *et al* 2012).

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

### **4. Mekanisme Kerja Antibakteri**

Mekanisme kerja antibakteri merupakan peristiwa penghambatan antibakteri. 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 yaitu menghambat sintesis dinding sel bakteri, menghambat metabolisme sel bakteri, mengganggu keutuhan membrane sel bakteri, menghambat sintesis protein sel bakteri, dan menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri.

## 5. Infeksi

Infeksi bakteri ekstraseluler adalah infeksi bakteri yang mampu berkembang biak di luar sel, seperti pada sirkulasi, jaringan ikat, dan jaringan yang berongga., infeksi bakteri merangsang timbulnya inflamasi dan memproduksi toksin. Mikroorganisme sebagai makhluk hidup tentunya ingin bertahan hidup dengan cara berkembang biak pada suatu inang yang cocok dan mampu mencari inang baru dengan cara berpindah atau menyebar. Organisme penginfeksi atau patogen, menggunakan sarana yang dimiliki inang untuk dapat memperbanyak diri, yang pada akhirnya merugikan inang. Patogen mengganggu fungsi normal reservoir dan dapat berakibat pada luka kronik, gangrene, kehilangan organ tubuh, dan bahkan kematian. Respon inang terhadap infeksi disebut peradangan. Patogen umumnya dikategorikan sebagai organisme mikroskopik, walaupun sebenarnya definisinya lebih luas, mencakup bakteri, parasit, fungsi, virus, prion dan viroid. Symbiosis antara parasit dan inang, di mana satu pihak diuntungkan dan satu pihak dirugikan, digolongkan sebagai parasitisme. Cabang kedokteran yang menitik beratkan infeksi dan patogen adalah cabang penyakit infeksi (Anonim 1994).

## G. 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 relatif 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 diantranya: 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). Sediaan krim yang homogen mengindikasikan bahwa ketercampuran dari bahan krim dengan kombinasi ekstrak daun sirsak dan daun sirih, tidak didapat gumpalan atau butiran kasar pada sediaan.

### **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. Krim dibagi 2 tipe, 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. Biasanya 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 berair 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. Campuran perlahan-lahan didinginkan dengan pengadukan yang terus-menerus sampai campuran mengental, jika larutan berair tidak sama temperaturnya dengan leburan lemak, maka beberapa lilin akan menjadi padat, sehingga terjadi pemisahan antara fase lemak dengan fase cair (Saifullah dan Kuswahuning 2008).

### **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 sedian, konsistensi pelaksanaan menggunakan subyek responden (dengan kriteria tertentu) dengan menetapkan kriterianya pengujinya (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 beban, 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.

## H. Binatang Percobaan

### 1. Sistematika binatang percobaan

Sistematika dari hewan percobaan kelinci menurut Hustamin (2006) :

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

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 Lloyd, 1988).

### 2. Data biologi

Bobot lahir kelinci sekitar 30-100 g dan bobot dewasa 4 -5,5 kg untuk jantan serta 4,5-6,5 untuk betina. Biasanya kelinci memiliki usia hidup 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 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 diatas meja (Wolfensohn dan Lloyd, 1988).

## **I. Landasan Teori**

Daun sirsak (*Annona muricata L.*) Menurut peneliti dari Institut Teknologi Bandung, prof. Soelaksono Sastrodiharjo Phd, daun ke-4 dan ke-5 dari pucuk merupakan daun yang paling berkhasiat. Kandungan asetogenin pada yang ada pada daun sirsak dapat dimanfaatkan untuk mengobati infeksi pada kulit yang disebabkan oleh beberapa bakteri seperti *Staphylococcus aureus* Analisis kimia dari ekstrak daun sirsak yang telah dilakukan oleh penelitian sebelumnya, menunjukkan hasil bahwa adanya metabolit sekunder antara lain tannin, steroid, kardiak glikosida dan memiliki efek antibakteri pada beberapa strain bakteri seperti *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Streptococcus pyrogenes*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiela pneumonia*, dan *Enterobacter aerogenes*. Penelitian sebelumnya yang diujikan terhadap hewan menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata L.*) memiliki aktivitas anti inflamasi.

Sirih adalah tanaman yang tumbuh subur di daerah tropis dan telah digunakan sejak zaman dahulu sebagai tanaman obat. Penelitian yang telah dilakukan untuk mengeksplorasi potensi tanaman ini, dari beberapa penelitian dilaporkan bahwa tanaman ini bermanfaat sebagai antifungi, antibakteri, antioksidan, antiinflamasi dan antifertilitas khasiat anti bakteri daun sirih telah di

buktikan oleh penelitian Suliantari (2008). Daun sirih dapat digunakan untuk pengobatan berbagai macam penyakit diantaranya obat sakit gigi dan mulut, sariawan, abses rongga mulut, luka bekas cabut gigi, penghilang bau mulut, batuk dan serak, hidung berdarah, keputihan, wasir, tetes mata, gangguan lambung, gatal-gatal, kepala pusing, jantung berdebar dan trachoma (Syukur dan Hernani, 1999)

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan cara mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa dilakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan, Pembuatan ekstrak dimaksudkan agar zat berkhasiat yang terkandung dalam bentuk yang mempunyai kadar tinggi dan memudahkan pengaturan dosis zat berkhasiat (Anief 2000). Maserasi adalah suatu penyarian zat aktif yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari yang sesuai selama 3-5 hari pada temperatur kamar terlindung dari cahaya langsung untuk mencegah reaksi yang dikatalisis cahaya. Endapan yang diperoleh dipisahkan dan filtratnya dipekatkan. 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).

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif, berbentuk kokus atau sferis (bulat). Bakteri ini masuk ke dalam tubuh melalui folikel rambut, kelenjar keringat atau luka-luka kecil. Bakteri ini merupakan penyebab infeksi yang bersifat *pyogenes* (pembentuk pus/nanah). Bakteri ini masuk ke dalam tubuh melalui folikel rambut, kelenjar keringat atau luka-luka kecil. *Staphylococcus aureus* paling rentang terhadap penyakit kulit seperti bisul. Infeksi kulit akibat bakteri ini termasuk penyakit infeksi yang paling sering ditularkan secara langsung keorang lain. *Staphylococcus aureus* patogen sering menghemolisis darah dan mengkoagulasi serta menyebar luas dalam jaringan sekitarnya melalui darah dan limfa. Pernanahan yang bersifat menahun dan timbul radang yang disebut osteomyelitis. Perluasan lain juga dapat sampai paru-paru, selaput otak dan sebagainya (Jawetz *et al* 2012).

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 *Staphylococcus aureus*. Ekstrak 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 dibuat sediaan farmasi untuk mempermudah penggunaannya secara topikal yaitu Krim, karna Krim adalah keadaan setengah padat, berupa emulsi mengandung air kurang dari 60% dan dimaksudkan untuk pemakaian luar, dan krim yang baik memiliki beberapa sifat diantranya: 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).

Pemilihan krim sebagai bentuk sediaan karna krim memiliki sifat umum mampu melekat pada permukaan tempat pemakaian dalam waktu cukup lama sebelum sediaan tersebut di cuci atau di hilangkan (Lachman dkk. 1994). Krim lebih mudah di oleskan dan tidak berlemak layaknya sediaan salep (Murini 2003). Krim dikatakan memiliki stabilitas yang baik jika krim tersebut stabil selama masih dipakai untuk mengobati, oleh karna itu krim harus bebas dari imkompatibilitas dan stabil pada suhu kamar (Widodo 2003).

Uji aktifitas antibakteri menggunakan metode *in vivo* adalah eksperimen dengan menggunakan keseluruhan hidup organisme, dengan menggunakan hewan uji sebagai media pengujian aktivitas antibakteri. Pengujian *in vivo* digunakan untuk mengamati efek keseluruhan eksperimen di subjek hidup. Penelitian ini menggunakan hewan uji kelinci yang telah diinfeksi bakteri *Staphylococcus aureus*, dengan berbagai macam konsentrasi ekstrak etanol kombinasi ekstrak Daun sirsak (*Annona muricata L.*) dan ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*)

Penelitian sebelumnya Menurut peneliti Rahmawati M dan Cahyono Hendra. ekstrak Daun sirsak (*Annona muricata L.*) mempunyai konsentrasi efektif

25% yang efektif dan hasil baik, sedangkan ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) mempunyai konsentrasi 10000 ppm yang efektif dan hasil yang baik juga. Jadi dari penelitian yang sebelumnya saya akan menguji konsentrasi yang efektif dari perbandingan ekstrak Daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan ekstrak daun sirih (*Piper betle* L) dengan konsentrasi tunggal sirsak 25% dan sirih dengan konsentrasi tunggal 10% dan kombinasi ekstrak Daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan ekstrak daun sirih (*Piper betle*.L.) sebagai kelompok perbandingan .Pada perbandingan yang pertama konsentrasi ekstrak etanol daun sirsak yang digunakan sebanyak 12,5% dan konsentrasi ekstrak etanol daun sirih sebanyak 5% untuk perbandingan yang kedua konsentrasi ekstrak etanol daun sirsak sebanyak 25% dan konsentrasi ekstrak etanol daun sirih sebanyak 5% serta untuk perbandingan ketiga konsentrasi ekstrak etanol daun sirsak yang digunakan sebanyak 12,% dan untuk ekstrak etanol daun sirih yang digunakan sebanyak 10%.

Penelitian tentang daun sirsak dan daun sirih menunjukkan bahwa kedua tanaman tersebut terutama bagian daunnya memiliki efek yang sama terhadap *Staphylococcus aureus*. Pengkombinasian kedua daun tersebut diharapkan mampu memberikan efek potensiasi, yaitu efek yang diberikan kedua senyawa yang diberikan bersama-sama dengan aksi-aksi yang tidak sama, memberikan efek yang lebih besar. mekanisme senyawa tanin sebagai antibakteri membentuk senyawa kompleks dengan protein bakteri dengan ikatan hidrogen, inaktivasi enzim-enzim esensial destruksi fungsi dari materi genetik daun sirsak yang menghambat pertumbuhan bakteri, serta senyawa minyak atsiri yang sebagian besar dari cavikol paraallyphenol yang bekerja sebagai desinfektan dan antijamur, saponin dan flavonoid daun sirih yang bekerja dengan merusak membran sitoplasma, merusak membran sel, mendenaturasi protein sel bakteri, hingga dapat membunuh sel bakteri.

### J. Hipotesis

Berdasarkan uraian diatas yang ada dapat disusun suatu hipotesis dalam penelitian ini yaitu :

1. Sediaan krim, kombinasi ekstrak Daun sirsak (*Annona muricata L.*) dan ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*) mampu menyembuhkan kulit punggung kelinci yang diinfeksi dengan bakteri *Staphylococcus aureus*.
2. Sediaan krim, kombinasi ekstrak Daun sirsak (*Annona muricata L.*) dan ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*) dengan pelarut etanol pada konsentrasi sirsak 12,5 % dan sirih 10 % dapat menyembuhkan kulit punggung kelinci yang diinfeksi dengan bakteri *Staphylococcus aureus*.
3. Sediaan krim kombinasi dari ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata L.*) dengan ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle L.*) diduga memiliki efek potensiasi (efek yang diberikan kedua senyawa yang diberikan bersama-sama dengan aksi-aksi yang tidak sama, memberikan efek yang lebih besar).
4. Uji stabilitas dari kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata L.*) dan ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle L.*) yang dibuat dalam bentuk sediaan krim memiliki stabilitas 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 daerah 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.

#### **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 aureus* yang diinfeksikan pada kulit kelinci.

Variabel utama yang kedua dalam penelitian ini adalah krim kombinasi ekstrak daun sirsak (*Annona muricata L.*) 25% yang paling efektif dan daun sirih (*Piper betle L.*) 10000 ppm yang paling efektif dengan perbandingan konsentrasi 12,5 % : 5 %, 25 % : 5 %, 12,5% : 10%.

##### **2. Klasifikasi Variabel Utama**

Variabel utama yang telah diidentifikasi dapat diklasifikasikan dalam berbagai macam variabel diantaranya yaitu, variabel bebas, variabel terkendali, 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 dan daun sirih dalam basis krim. Variabel terkendali yang dimaksud dalam penelitian ini adalah variabel yang mempengaruhi variabel tergantung sehingga perlu ditetapkan kualifikasinya agar

hasil yang diperoleh tidak tersebar dan dapat diulangi oleh penelitian lain secara tepat. Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah kemurnian, kombinasi daun sirsak (*Annona muricata L.*) dan daun sirih (*Piper betle L.*) terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus*, pembuatan sediaan krim, pemilihan kelinci (berat badan, kesehatan, kebersihan), tempat tumbuhnya tanaman, penelitian dan laboratorium. Variabel tergantung yang dimaksud dalam penelitian ini adalah pusat persoalan yang merupakan kriteria penelitian. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah aktifitas antibakteri pada kulit kelinci yang dilihat dari kesembuhan dan jumlah mikroorganisme.

### **3. Definisi Oprasional Variabel Utama**

**Pertama**, daun sirsak (*Annona muricata L.*) dan daun sirih (*Piper betle L.*) adalah dari tanaman sirsak dan sirih yang diambil dari daerah wonogiri Jawa Tengah.

**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 dengan parameter kadar air  $\leq 10\%$ , setelah kering dibuat serbuk dan diayak dengan ayakan nomor 40.

**Ketiga**, ekstrak daun sirsak (*Annona muricata L.*) dan daun sirih (*Piper betle L.*) adalah ekstrak yang diperoleh dari daun sirsak dan daun sirih diekstraksi dengan pelarut etanol 70 % menggunakan metode maserasi.

**Kempat**, ekstrak daun sirsak (*Annona muricata L.*) dan daun sirih (*Piper betle L.*) adalah sediaan semi padat yang dibuat dengan mencampurkan ekstrak kombinasi daun sirsak (*Annona muricata L.*) dan daun sirih (*Piper betle L.*) Sterilisasi basis krim adalah basis krim tipe m/a yang disterilkan dalam oven pada suhu 150 °C selama 1 jam kemudian disaring dengan kasa steril lalu ditimbang.

**Kelima**, kelinci percobaan adalah kelinci jantan putih (New Zealand White) berumur  $\pm 3$ -5 bulan, berat kelinci 1.5-3 kg dan kulit kelinci adalah pada bagian punggung kelinci yang telah dicukur.

**Keenam**, bakteri uji dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta.

**Ketujuh**, diuji aktivitas antibakteri menggunakan punggung kelinci yang telah dicukur dan diinfeksi *Staphylococcus aureus* secara subkutan per 0,25 ml pada 5 lokasi, lalu ditutup dengan perban steril dibiarkan 1 hari sampai terjadi infeksi. Kemudian diolesi krim kombinasi daun sirsak (*Annona muricata L.*) dan daun sirih (*Piper betle L.*) dengan tiga perbedaan konsentrasi dan dua digunakan sebagai konsentrasi tunggal dan kontrol negatif dengan penggunaan basis krim. Kemudian menentukan berapa lama waktu yang diperlukan sehingga sediaan krim kombinasi ekstrak daun daun sirsak (*Annona muricata L.*) dan daun sirih (*Piper betle L.*) dengan perbandingan konsentrasi secara berurutan 12,5% : 5%, 25% : 5%, 12,5% : 10% dapat bekerja secara optimal dan menyembuhkan kulit punggung kelinci yang terinfeksi.

**Kedelapan**, kesembuhan adalah proses sembahunya kelinci dari hilangnya eritema, tidak terbentuknya nanah dan tidak adanya bakteri *Staphylococcus aureus* pada kulit punggung kelinci.

**Kesembilan**, jumlah bakteri adalah perhitungan bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan metode Plate Count. Tahap pengenceran dimulai dari membuat larutan sampel sebanyak 10 ml, yaitu dimulai bakteri *Staphylococcus aureus* dari nanah 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 VJA dan penambahan kalium tellurit 4-5 tetes, 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. Bahan dan Alat

### 1. Bahan

**1.1. Bahan Sampel.** Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah dau sirsak dan daun sirih yang diambil dari daerah Wonogiri, Jawa Tengah.

**1.2. Hewan Uji.** Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah kelinci putih jantan (New Zealand White) berumur ± 3-5 bulan, berat kelinci 1,5-3kg.

**1.3. Bakteri Uji.** Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Staphylococcus aureus* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta.

**1.4. Media.** Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Vogel Johnson Agar* (VJA).

**1.5. Krim untuk kelompok kontrol obat,** krim yang digunakan sebagai kelompok kontrol basis krim masing masing daun

**1.6. Bahan-bahan lain** yang digunakan dalam penelitian ini ialah kombinasi daun sirsak (*Annona muricata L.*) dan daun sirih (*Piper betle L.*), pelarut etanol 70%, pelarut nheksana, kertas saring whatman 41, kloroform p.a, etil asetat, acid stearin, glycerin, natrium biborat, trietanolamin, nipagin, aqua dest, *alumunium foil*, kertas saring, *tissue*, NaCl 0,9%, pelarut CMC, larutan asam sulfat 0,36 N, larutan BaCl<sub>2</sub>. 2H<sub>2</sub>O 1,175%, aquades, serbet dan alkohol 70%.

## 2. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah meliputi timbangan analisa, oven, blender, neraca analitik, cawan petri, tabung reaksi, jarum ose, pembakar spiritus, pipet volum, pipet tetes, gelas ukur, batang pengaduk, mortir, erlenmeyer, kertas saring, corong kaca, deglas, kaca obyek, sudep, incubator.

## D. Jalannya Penelitian

### 1. Determinasi dan identifikasi tanaman

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

**Pengambilan dan Pengeringan Bahan** kombinasi ekstrak daun daun sirsak dan daun sirih 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.

## 2. Pembuatan Serbuk

Pembuatan Serbuk kombinasi ekstrak daun daun sirsak dan daun sirih, daun sirsak dan daun sirih yang telah dibersihkan dengan air dari kotoran dan cemaran lalu dikeringkan dengan oven pada suhu 30°-40 °C, setelah kering daun sirsak dan daun sirih diserbuk dengan alat penyerbuk, serta 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.

## 3. Identifikasi Serbuk

Identifikasi Serbuk kombinasi ekstrak daun daun sirsak (*Annona muricata L.*) dan daun sirih (*Piper betle L.*)

## 4. Pemeriksaan Organoleptis Serbuk

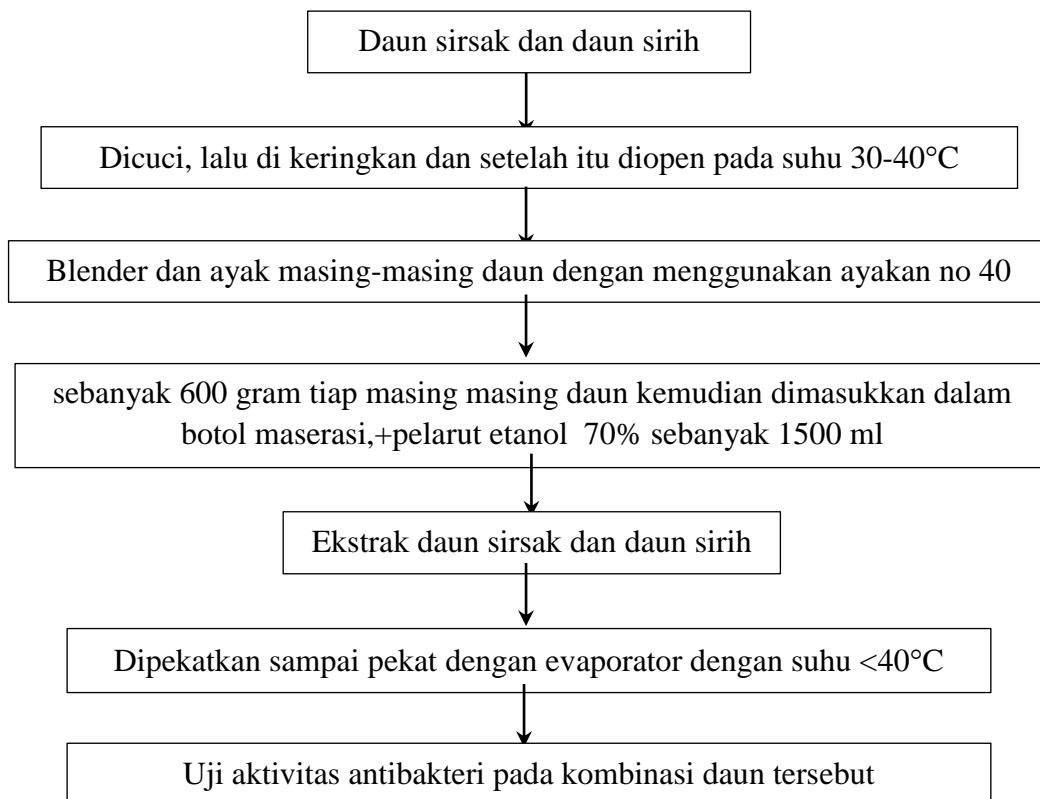
Pemeriksaan Organoleptis Serbuk kombinasi ekstrak daun daun sirsak (*Annona muricata L.*) dan daun sirih (*Piper betle L.*) secara organoleptis meliputi bentuk, warna dan bau dari serbuk daun kombinasi ekstrak daun daun sirsak dan daun sirih.

## 5. Penetapan Susut Pengeringan

Penetapan Susut Pengeringan kombinasi ekstrak daun daun sirsak (*Annona muricata L.*) dan daun sirih (*Piper betle L.*) Susut pengeringan diukur dengan menggunakan alat *Moisture Balance*, yaitu serbuk daun sirsak dan daun sirih ditimbang sebanyak 2 gram, dengan perbandingan, lalu dimasukkan ke dalam alat *Moisture Balance*, ditunggu selama 5 menit kemudian akan menunjukkan hasilnya dalam satuan (%). 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).

## 6. Pembuatan kombinasi ekstrak

Pembuatan kombinasi ekstrak daun daun sirsak (*Annona muricata L.*) dan daun sirih (*Piper betle L.*). 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, ditambah pelarut etanol 70% sebanyak 1500 ml, lalu ditutup dan dibiarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya sambil sesekali digojog atau diaduk. Hasil maserasi disaring dengan kain flannel steril, kemudian dipekatkan dengan cara di evaporator pada suhu dibawah 40 °C sampai diperoleh ekstrak yang kental. dengan konsentrasi kombinasi krim secara berurutan 12,5 mg/mL : 5 mg/mL; 25 mg/mL : 5 mg/mL; 12,5 mg/mL : 10 mg/mL.



**Gambar 1. Skema Pembuatan Ekstrak Etanol 70% kombinasi Daun sirsak (*Annona mucarita L.*) dan daun sirih (*Piper betle L.*).**

## 7. Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia

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

**7.1 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 di sebut larutan A, dan B kemudian diidentifikasi kandungan kimianya (Depkes 1995<sup>a</sup>)

**7.2 Identifikasi Flavonoid.** Larutan A dan B sebanyak 5 ml dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah 0,1 g serbuk Mg, 2 ml larutan alcohol, asam klorida dan pelarut amil alkohol dengan perbandingan (1:1) Campuran dikocok kuat-kuat kemudian dibiarkan memisah. Reaksi positif ditunjukkan adanya warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Depkes 1995<sup>b</sup>)

**7.3 Identifikasi Tanin.** Larutan A dan B sebanyak 5 ml dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah pereaksi besi (III) klorida 1 %. Reaksi positif akan ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau kehitaman (Depkes 1995<sup>b</sup>)

**7.4 Identifikasi Saponin.** Larutan A dan B sebanyak 5 ml dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian kocok kuat-kuat selama 10 menit, terbentuknya buih selama tidak kurang dari 10 menit, setinggi 1-10 cm. Penambahan 1 tetes HCL 2N, jika buih yang terbentuk tetap ada menunjukkan serbuk dan ekstrak positif mengandung saponin (Depkes 1995<sup>b</sup>)

## 8. Uji Bebas Etanol

Uji Bebas Etanol pada kombinasi ekstrak daun daun sirsak (*Annona muricata L.*) dan daun sirih (*Piper betle L.*) ekstrak ditambah dengan asam sulfat pekat ( $H_2SO_4$ ) dan ditambah dengan asam asetat  $CH_3COOH$  lalu dipanaskan. Jika tidak tercium bau ester yang khas, maka hasil dinyatakan bebas etanol.

## 9. 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 1. Formulasi krim (fms)**

Komposisi	F1	F2	F3	F4	F5	F6
Ekstrak daun sirsak	-	25 %	-	12,5 %	25 %	12,5 %
Ekstrak daun sirih	-	-	10 %	5 %	5 %	10 %
Acid stearin	20,8 g					
Glycerin	14,7 g					
Natr. Biborat	0,37 g					
Triaethanolamin	1,47 g					
Nipagin	0,1 g					
Aq. dest. ad	100 g					

Pembuatan krim kombinasi dimulai dengan sterilisasi peralatan yang digunakan dengan autoklaf suhu 115°-116°C selama 30 menit. Basis krim ditimbang pada cawan perselain 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.

## 10. Pengujian Sediaan krim

Pengujian sediaan krim pada kombinasi ekstrak daun daun sirsak (*Annona muricata L.*) dan daun sirih (*Piper betle L.*) menggunakan uji organoleptik dan homogenitas

**10.1. Uji Organoleptik.** Pengujian organoleptik dilakukan pada sediaan krim kombinasi ekstrak daun 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. Dengan mengamati sediaan krim dari bentuk, bau, dan warna sediaan (Anief 1997).

**10.2. Uji Homogenitas.** Kombinasi ekstrak daun daun sirsak (*Annona muricata L.*) dan daun sirih (*Piper betle L.*) yang sudah dibuat, dari masing-masing konsentrasi dengan perbandingan 12,5% : 5% , 25% : 5%, dan 12,5% : 10% lalu diamati dengan cara sebanyak 0,5 gram sediaan krim dioleskan pada obyek glas, 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).

**10.3. Uji viskositas.** Uji viskositas krim dilakukan dengan menggunakan alat viskometer *Cup and Bob*. Rotor dipasang pada viskotester dengan menguncinya berlawanan arah dengan jarum jam. *Cup* diisi sampel krim yang akan diuji setelah itu tempatkan rotor tepat berada ditengah-tengah *cup* yang berisi krim, kemudian alat dihidupkan. Rotor mulai berputar dan jarum penunjuk viskositas secara otomatis akan bergerak menuju ke kanan, kemudian setelah stabil viskositas dibaca pada skala dari rotor yang digunakan. Satuan yang digunakan menurut JLS 28809 standar viskositas yang telah dikalibrasi adalah *desipaskalsecond* (dPas) setelah selesai pengukuran viskotester dimatikan. Pengujian viskositas ini diulangi sebanyak tiga kali untuk tiap formula. Pengujian pertama untuk viskositas dilakukan pada hari sediaan krim dibuat. Sediaan krim kemudian disimpan selama satu minggu dan diuji lagi viskositasnya, begitu seterusnya setiap minggu selama satu bulan (Voigt 1994).

**10.4. Uji daya sebar.** Uji ini dilakukan dengan menggunakan alat-alat seperti sepasang lempeng kaca bundar (extensometer) dan anak timbang gram. Krim ditimbang  $\pm 0,5$  gram diletakkan di tengah kaca bundar, di atas kaca diberi anak timbang sebagai beban dan dibiarkan 1 menit. Diameter krim yang menyebar (dengan mengambil panjang rata-rata diameter dari beberapa sisi) diukur kemudian ditambahkan 50 gram, 100 gram, 150 gram, 200 gram sebagai beban tambahan, setiap penambahan beban didiamkan setelah 1 menit dan dicatat diameter krim yang menyebar seperti sebelumnya. Cara di atas diulangi untuk setiap formula krim yang diperiksa masing-masing 3 kali. Pengujian pertama

dilakukan pada hari sediaan krim dibuat, kemudian disimpan selama satu minggu dan diuji lagi daya sebarunya, begitu seterusnya setiap minggu selama satu bulan.

Dilakukan untuk mengetahui kecepatan penyebaran krim pada kulit yang sedang diobati dan untuk mengetahui kelunakan dari sediaan tersebut untuk dioleskan pada kulit (Voigt 1994).

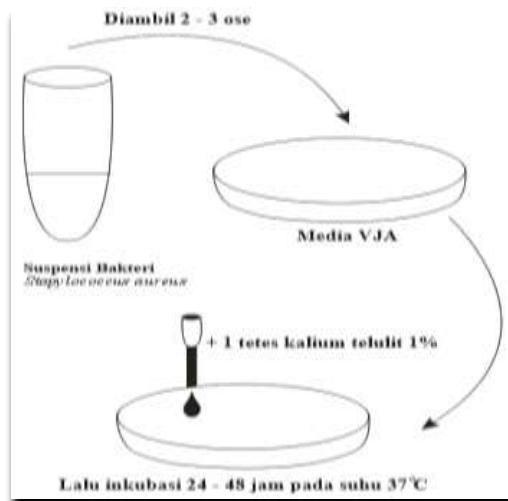
**10.5. Uji daya lekat.** Uji ini dilakukan dengan alat tes daya melekat krim. Dua objek glass, *stopwatch*, anak timbangan gram dan dilakukan dengan cara melekatkan krim secukupnya di atas objek glass yang lain di atas krim tersebut kemudian ditekan dengan beban 0,5 kg selama 5 menit kemudian pasang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

## 11. Pembuatan Suspensi Bakteri Uji *Staphylococcus aureus*

Suspensi bakteri uji *Staphylococcus aureus* pada *Nutrien Agar*, diambil dengan volume tertentu sebanyak 2-3 ose dan ditanam dalam tabung yang berisi 5 ml media VJA Kekeruhan disesuaikan dengan kekeruhan standart Brown II yang dianggap setara dengan 785 juta per mili bakteri *Staphylococcus aureus*. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam (Bonang dan Koeswardono 1982).

## 12. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus*

Suspensi bakteri uji *Staphylococcus aureus* diinokulasi pada media VJA dan ditambahkan kalium tellulit 3-5 tetes, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Hasil pengujian ditunjukkan dengan warna koloni hitam dan warna medium disekitar koloni kuning, karena *Staphylococcus aureus* dapat memfermentasi manitol menjadi suasana asam dan mereduksi tellulit sehingga membentuk koloni warna hitam. Adanya phenol red maka medium di sekitar koloni berwarna kuning karena *Staphylococcus aureus* mereduksi manitol.



Gambar 2. Skema Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus*

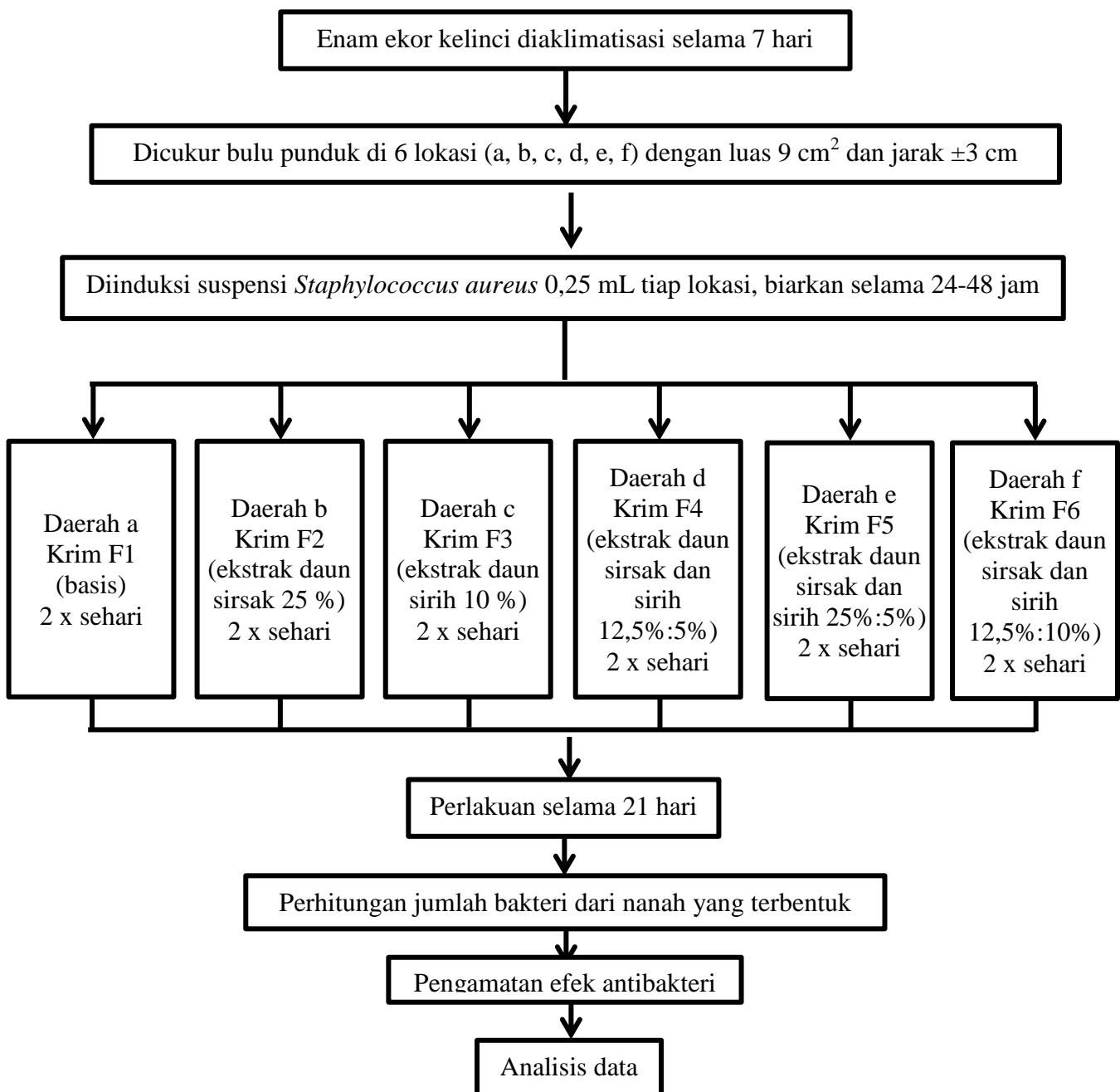
### 13. Penyiapan Hewan Uji

Hewan uji kelinci jantan putih sebanyak 5 ekor dengan umur  $\pm$  3 bulan dengan berat  $\pm$  1,5-3 kg. Sebelum diperlakukan, kelinci diaklimatisasi dengan lingkungan tempat penelitian selama 5-7 hari dengan maksud agar hewan uji tersebut terbiasa dengan lingkungan dan perlakuan yang baru. Hewan uji di tempatkan dalam kandang dan diberi makan yang cukup untuk setiap harinya.

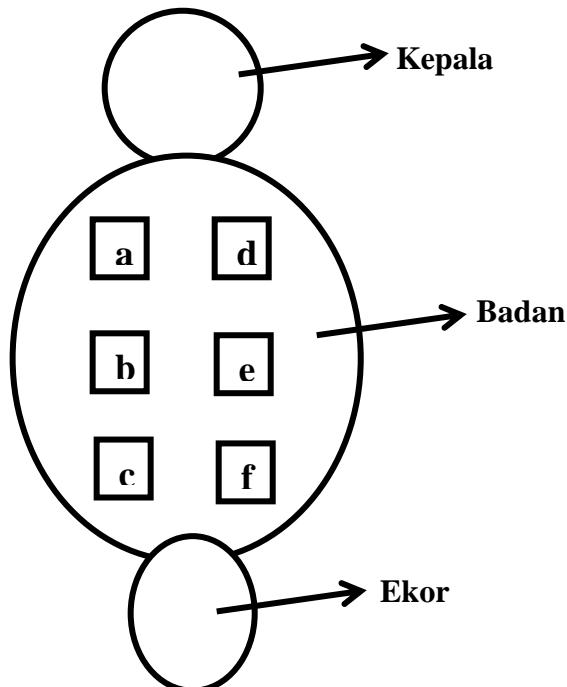
### 14. Pengujian Efek Antibakteri

Hewan uji kelinci yang sudah diaklimatisasi dicukur bulu daerah punggung sebelah kanan, sebelah kiri dan pada bagian punggung belakang sampai licin, kemudian dipilih 4 lokasi penyuntikan jarak masing-masing  $\pm$  5 cm dengan luas daerah penyuntikan  $10 \text{ cm}^2$ . Suspensi *Staphylococcus aureus* diinfeksikan secara subkutan sebanyak 0,25 ml pada masing-masing lokasi pada kulit punggung kelinci yang telah disiapkan. selama 24-48 jam untuk melihat terjadinya luka. Selanjutnya setelah nanah terbentuk, pada Kelinci I dioleskan basis krim (krim formula 1) pada daerah yang diinduksi bakteri, kelinci II dioleskan krim formula 2 yaitu krim dengan konsentrasi tunggal ekstrak daun sirsak 25 %, kelinci III dioleskan krim formula 3 dengan konsentrasi tunggal sirih 10 %, kelinci IV dioleskan krim formula 4 dengan perbandingan ekstrak daun sirsak dan daun sirih sebesar 12,5 % : 5 %, kelinci V dioleskan krim formula 5 dengan perbandingan konsentrasi antara ekstrak daun sirsak dan daun sirih sebesar 25 % : 5 %, kelinci VI dioleskan krim formula 6 dengan perbandingan konsentrasi antara ekstrak

daun sirsak dan daun sirih sebesar 12,5 % : 10 %, lalu kulit punggung kelinci tersebut dibalut dengan perban steril untuk mencegah kontaminasi. Pengolesan krim dilakukan selama 2 kali sehari (pagi dan sore) selama 21 hari dan Lokasi penyuntikan ditutup dengan perban steril untuk mencegah terjadinya kontaminasi bakteri lain. Pemberian krim dilakukan 3 kali sehari sampai nanah dan eritema hilang.



Gambar 3. Skema Pengujian Efek Antibakteri



**Gambar 4. Lokasi bagian kulit kelinci diberi perlakuan**

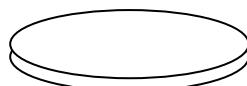
### 15. Pengujian bakteri dari nanah

Nanah pada punggung kelinci diambil dengan volume tertentu lalu digoreskan pada medium VJA.

Nanah pada punggung kelinci

↓  
Diambil dengan kapas steril

Inkubasi 6 hari



Medium VJA

**Gambar 5. Skema pengujian bakteri dari nanah**

Pengamatan secara makroskopis dilakukan dengan cara mengamati lamanya penyembuhan infeksi *Staphylococcus aureus* yang diinfeksi pada kulit punggung kelinci setelah pemberian krim, kemudian dianalisa di Laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta. Kesembuhan dinyatakan dengan hilangnya eritema dan keringnya luka pada kulit punggung kelinci.

## 16. Perhitungan jumlah bakteri *Staphylococcus aureus* dari nanah

Perhitungan bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan metode Plate Count, dengan cara menghitung jumlah pertumbuhan bakteri menggunakan *Colony Counter* agar mengetahui jumlah koloni bakteri pada kulit punggung kelinci setelah pengobatan. Cara kerja untuk menghitung angka koloni bakteri adalah membuat larutan sampel sebanyak 10 ml, yaitu dimulai dari nanah pada punggung kelinci diambil dengan kapas steril kemudian diencerkan dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml NaCl 0,9% (air fisiologis), selanjutnya diambil 1 ml dari hasil pencampuran kemudian dituang pada media *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. Jika pertumbuhan koloni pada media masih bergerombol dan sulit untuk dihitung maka bisa diencerkan kembali.

Pengamatan kesembuhan infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan menentukan lama waktu penyembuhan pada kulit punggung kelinci menggunakan krim kombinasi daun daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun sirih (*Piper betle* L.) dan menghitung jumlah penurunan koloni bakteri setelah pemberian krim yang disamakan dengan jumlah koloni pada kontrol normal.

## **BAB IV**

### **HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN**

#### **A. Hasil Determinasi Daun Sirsak (*Annona muricata L.*) Dan Daun Sirih (*Piper betle L.*)**

Determinasi daun sirsak dan daun sirih dilakukan untuk mencocokkan ciri-ciri morfologi yang ada pada daun sirsak dan daun sirih terhadap pustaka. Tujuan dilakukan uji determinasi adalah mengetahui kebenaran daun yang digunakan, menghindari terjadinya kesalahan dalam pengumpulan bahan agar penelitian ini menggunakan tanaman yang dimaksud.

Determinasi daun sirsak dan daun sirih dilakukan di Laboratorium Universitas Setia Budi. Surakarta.

Hasil determinasi untuk daun sirsak (*Annona muricata L.*) berdasarkan surat keterangan determinasi ini adalah sebagai berikut : 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 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 untuk daun sirih (*Piper betle L.*) berdasarkan surat keterangan determinasi ini adalah sebagai berikut : 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 daun sirih (*Piper betle L.*) berdasarkan hasil determinasi menunjukkan bahwa daun tunggal, duduk daun berseling atau tersebar, herbaceus, 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.

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

## **B. Hasil Pembuatan Kombinasi Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata L.*) Dan Daun Sirih**

### **1. Pengumpulan bahan daun sirsak (*Annona muricata L.*) dan daun sirih (*Piper betle L.*)**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirsak (*Annona muricata L.*) dan daun sirih (*Piper betle L.*) dengan ciri-ciri daun hijau segar yang tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda serta terbebas dari hama, yang tumbuh di daerah wonogiri jawa tengah Daun sirsak dan daun sirih yang digunakan dalam penelitian ini masing-masing sebanyak 5 kg.

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

Daun sirsak dan daun sirih yang telah terkumpul masing-masing disortasi dan dibersihkan dengan air dari kotoran dan cemaran, lalu dikeringkan dengan oven pada suhu 30°-40 °C dan diayak dengan ayakan no 40. Pengeringan dilakukan agar simplisia dapat disimpan dalam waktu yang cukup lama tanpa mengalami kerusakan yang diakibatkan oleh mikroorganisme, sedangkan penyerbukan bertujuan untuk memperluas permukaan partikel bahan yang kontak dengan pelarut sehingga penyarian dapat berlangsung efektif.

Hasil prosentase rendemen bobot kering terhadap bobot basah daun sirsak dan daun sirih dapat dilihat pada tabel 2 di bawah ini.

**Tabel 2. Hasil prosentasi bobot kering terhadap bobot basah daun sirsak dan daun sirih**

Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Rendemen (%b/b)
Daun sirsak 5000	1500	30
Daun sirih 5000	1250	25

Daun sirsak dan daun sirih masing masing dengan berat serbuk 5000 g, dimaserasi dengan etanol 70% diperoleh berat ekstrak kental daun sirsak sebanyak 1500 g, dan daun sirih 1250 g hasil rendemennya adalah 23,50%. Untuk daun sirsak dan 30 % untuk daun sirih 25 %. Perhitungan dapat dilihat pada lampiran

### **3. Identifikasi Serbuk Daun Sirsak (*Annona muricata L.*) Dan Daun Sirih (*Piper betle L.*)**

Hasil pemeriksaan organoleptis serbuk daun sirsak (*Annona muricata L.*) dan daun sirih (*Piper betle L.*). Identifikasi makroskopis serbuk daun sirsak dan daun sirih dilakukan dengan menggunakan pemeriksaan organoleptis. Identifikasi makroskopis pada serbuk ini bertujuan untuk mengetahui sifat fisik dari daun sirsak dan daun sirih. Pemeriksaan ini meliputi bentuk, bau, rasa, dan warna. Berikut hasil pemeriksaan organoleptis serbuk daun sirsak dan daun sirih dapat dilihat pada tabel 3.

**Tabel 3. 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

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

Penetapan susut pengeringan masing-masing daun sirsak dan daun sirih dilakukan dengan menggunakan Moisture Balance dengan suhu 105° C selama 5 menit ditunggu sampai alat memberikan tanda dan menunjukkan hasil dalam satuan persen (%). hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun sirsak dapat dilihat pada tabel 4.

**Tabel 4. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun sirsak dan daun sirih**

**Hasil penetapan susut pengeringan serbuk 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%

Hasil penetapan susut pengeringan serbuk 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%

Prosentasi rata-rata susut pengeringan serbuk daun sirsak 8,57 % dan sirih 8,63 %. Susut pengeringan yang diperoleh tersebut memenuhi syarat susut pengeringan yang disebutkan dalam pustaka yaitu susut pengeringan serbuk simplisia tidak boleh  $\geq 10\%$ , karena dapat menyebabkan perubahan kerja enzim dan perubahan kimia zat aktif sehingga menurunkan mutu serbuk, serta dalam penyimpanan akan tumbuh jamur kapang, dan mikroorganisme yang lain.

Hasil perhitungan dapat dilihat pada lampiran .

## 5. Hasil pembuatan ekstrak etanol 70% daun sirsak (*Annona muricata L.*) dan daun sirih (*Piper betle L.*)

Ekstrak etanol 70% daun sirsak dan daun sirih dibuat dengan menggunakan metode maserasi. Pembuatan ekstrak etanol 70% daun sirsak dan daun sirih dilakukan dengan menimbang serbuk daun sirsak dan daun sirih masing-masing sebanyak 600 gram, kemudian dimasukkan kedalam botol maserasi dengan pelarut etanol 70% sebanyak 4500 ml didalam bejana maserasi selama 5 hari dan sesekali digojog atau diaduk. Ekstrak yang diperoleh disaring dengan kain flannel steril, kemudian dipekatkan dengan evaporator pada suhu 40°C sampai diperoleh ekstrak yang kental. Hasil pembuatan ekstrak etanol 70% daun sirsak dan daun sirih dapat dilihat pada tabel 5.

**Tabel 5. Hasil prosentase rendemen ekstrak daun sirsak (*Annona muricata L.*) dan daun sirih (*Piper betle L.*)**

Berat serbuk (g)	Berat ekstrak (g)	Rendemen (% b/b)
Daun sirsak 600 g	153,6 g	25,6 %
Daun sirih 600 g	115,2 g	19,2 %

Hasil perhitungan dapat dilihat pada lampiran 9.

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

Identifikasi kandungan serbuk dan ekstrak daun sirsak dan daun sirih dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa kimia yang terkandung dalam daun eksrak daun sirsak dan daun sirih. Identifikasi pada senyawa saponin, tanin, flavonoid, lkaloid. Hasil pengujian identifikasi kandungan serbuk dan ekstrak daun sirsak dan daun sirih dapat dilihat pada tabel 6.

**Tabel 6. Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak daun sirsak (*Annona muricata L.*) dan daun sirih (*Piper betle L.*)**

Kandungan Senyawa Kimia	Hasil		Pustaka	Intrepetasi Data	
	Serbuk	Ekstrak		Serbuk	Ekstrak
Flavonoid	Terbentuk warna kuning jingga pada lapisan amil alcohol	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 tannin	(+) 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 table 6 menunjukkan identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak daun sirsak dan daun sirih dengan menggunakan tabung reaksi yang dapat dilihat pada lampiran 10. Hasil penelitian identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak daun sirsak dan daun sirih mengandung flavonoid, tanin, saponin yang memiliki aktivitas antibakteri.

## 7. Hasil uji bebas etanol pada ekstrak etanol 70% pada daun sirsak (*Annona muricata L.*) dan daun sirih (*Piper betle L.*)

Pengujian bebas etanol ekstrak etanol 70% daun sirsak dan daun sirih dilakukan dengan cara uji esterifikasi yaitu ekstrak etanol daun sirsak dan daun sirih masing masing tabung ditambah  $H_2SO_4$  pekat (asam sulfat) dan  $CH_3COOH$

(asam asetat) kemudian dipanaskan (Depkes 1995b). Hasil pengujian ini dapat dilihat pada tabel 7.

**Tabel 7. Hasil pengujian bebas etanol pada ekstrak etanol 70% daun sirsak (*Annona muricata L.*) dan daun sirih (*Piper betle L.*)**

Simplisia	Tes bebas etanol	Hasil uji	Pustaka
Ekstrak daun sirsak	Ekstrak + H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> pekat + CH <sub>3</sub> COOH kemudian dipanaskan	Tidak tercium bau ester yang khas	Tidak tercium bau ester yang khas (Depkes 1995b)
Ekstrak daun sirih	Ekstrak + H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> pekat + CH <sub>3</sub> COOH kemudian dipanaskan	tercium bau ester yang khas lalu dilakukan penguapan lagi di oven selama 24 jam setelah itu dilakukan kembali tes bebas etanol sehingga didapat hasil tidak tercium bau ester yang khas	Tidak tercium bau ester yang khas (Depkes 1995b)

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

#### 1. Hasil pengujian mutu fisik sediaan krim kombinasi daun sirsak (*Annona muricata L.*) daun sirih (*Piper betle L.*)

Uji mutu fisik sediaan krim yang dilakukan adalah uji organoleptis, homogenitas, uji pH, viskositas, daya sebar, dan daya lekat

**1.1 Uji organoleptis krim.** Pengujian organoleptis krim kombinasi ekstrak etanol 70% daun sirsak dan daun sirih yang diamati adalah warna, bau dan konsistensi. Sediaan yang dihasilkan sebaiknya memiliki warna yang menarik, bau yang menyenangkan dan konsistensi yang bagus. Hasil yang diperoleh terhadap pengamatan organoleptis krim kombinasi ekstrak etanol 70% daun sirsak dan sirih dapat dilihat pada tabel 8.

**Tabel 8. Hasil pengujian organoleptis formula krim ekstrak etanol 70% daun sirsak (*Annona muricata L.*) dan daun sirih (*Piper betle L.*)**

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 : KC=kuning kecoklatan, PH=putih kehijauan, TB=tidak berbau, SP=semi padat

Hasil pengujian krim kombinasi ekstrak dan sirsak dan daun sirih menunjukkan warna, bau dan konsistensi yang sama dari hari ke-2 setelah pembuatan hingga minggu ke-3, yaitu berwarna kuning kecoklatan. Berbau khas dan konsistensi semi padat. sedangkan pada formula 1 (basis) warna bau dan konsentrasi tetap stabil tidak ada perubahan. Kesimpulan dari hasil pengamatan adalah warna, bau, dan konsistensi stabil selama penyimpanan.

**1.2. Uji homogenitas krim.** Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui homogenitas dari formula krim yang diteliti, penting untuk dilakukan karena homogenitas berpengaruh terhadap efektivitas dari sediaan tersebut. Hasil uji homogenitas dari ke enam formula krim dapat dilihat pada tabel 9.

**Tabel 9. Hasil Uji Homogenitas Krim Ekstrak Etanol Daun Sirsak Dan Daun Sirih**

Formula	Hari ke-2	Hari ke-7	Hari ke-14	Hari ke-21
Formula I	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
Formula II	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
Formula III	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
Formula IV	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
Formula V	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
Formula VI	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen

**Keterangan :** Formula I = basis krim

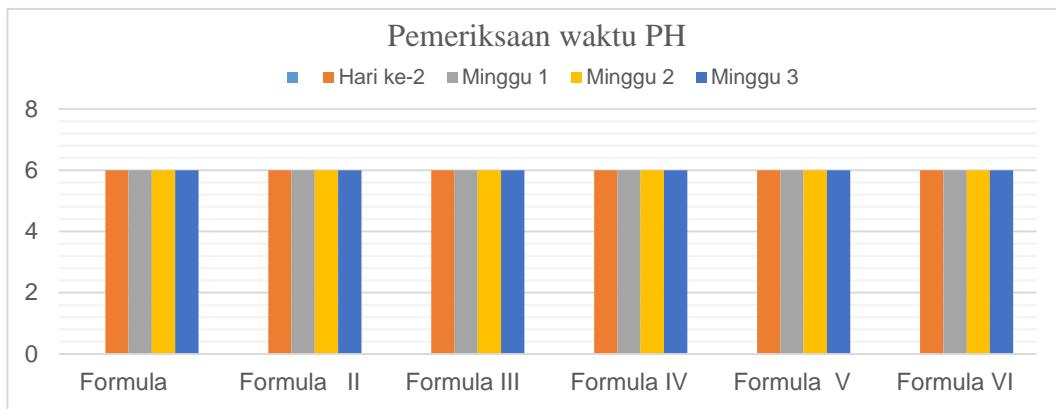
- Formula II = sirsak (25 %)
- Formula III = sirih (10 %)
- Formula IV = sirsak (25 %) dan sirih (10 %)
- Formula V = sirsak (12,5 %) dan sirih (10 %)
- Formula VI = sirsak (25 %) dan sirih (5 %)

Hasil pengujian menunjukkan bahwa masing-masing formula krim yang dioleskan pada sekeping kaca menunjukkan susunan yang homogen dari hari ke-2 setelah pembuatan sampai minggu ke-3, sesuai dengan pustaka (Farmakope Indonesia 1997). Sediaan krim yang homogen mengindikasikan bahwa ketercampuran dari bahan krim dengan kombinasi ekstrak daun sirsak dan daun sirih, tidak didapat gumpalan atau butiran kasar pada sediaan.

**1.3. Uji pH krim.** Pengujian pH dilakukan dengan menggunakan pH stik yang dimasukkan kedalam sediaan krim kombinasi ekstrak etanol 70% daun sirsak dan daun sirih, didiamkan 1 menit, perubahan warna yang terjadi pada pH stik menunjukkan nilai pH dari krim, yang dicocokkan dengan pH indikator. Hasil uji pH dari ke enam formula krim dapat dilihat pada tabel 10.

**Tabel 10. Uji pH krim ekstrak etanol 70% daun sirsak dan daun sirih.**

Pemeriksaan waktu PH	Formula I	Formula II	Formula III	Formula IV	Formula V	Formula VI
Hari ke-2	6	6	6	6	6	6
Minggu 1	6	6	6	6	6	6
Minggu 2	6	6	6	6	6	6
Minggu 3	6	6	6	6	6	6

**Gambar 6. Histogram hasil uji pH krim kombinasi ekstrak daun sirsak dan daun sirih.**

Uji pH pada tabel 10 dan gambar 6, menunjukkan hasil yang sama antara formula I, sampai VI dari hari ke-2 setelah pembuatan krim kombinasi ekstrak daun sirsak dan daun sirih sampai minggu ke-3 penyimpanan. Hasil krim kombinasi ekstrak daun sirsak dan daun sirih memiliki pH 6 stabil tidak ada perubahan sesuai dengan kriteria pH kulit yaitu 4,5-6,5 sehingga aman untuk digunakan, karena pH yang terlalu asam dapat mengiritasi kulit sedangkan pH yang terlalu basa dapat membuat kulit bersisik.

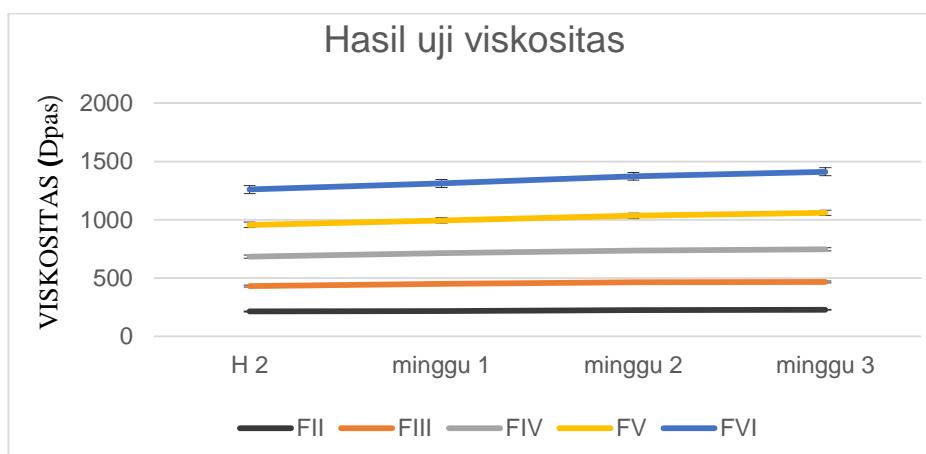
**1.4. Uji viskositas krim.** Krim kombinasi ekstrak daun sirsak dan daun sirih diuji viskositasnya dengan alat viskometer. Tujuan dilakukannya pengujian ini adalah untuk mengetahui viskositas (kekentalan) krim yang digunakan dalam penelitian ini. Viskositas sangat berpengaruh terhadap efektifitas terapi yang diinginkan serta kenyamanan penggunaan sehingga tidak boleh terlalu keras dan terlalu encer. Viskositas krim yang terlalu encer akan menyebabkan waktu lekat dari basis sebentar sehingga efektifitas penghantaran zat aktif menjadi rendah, jika viskositas sediaan terlalu kental dapat memberikan ketidak nyamanan saat sediaan digunakan. Keenam formula krim yang diteliti mempunyai viskositas yang

berbeda dengan enam kali replikasi. Hasil pengamatan uji viskositas dapat dilihat pada tabel 11. dibawah ini.

**Tabel 11. Hasil Uji Viskositas Krim Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Sirsak Dan Daun Sirih**

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

Dari tabel 11. Data viskositas menunjukkan bahwa krim kombinasi ekstrak daun sirsak dan ekstrak daun sirih dari lima formula tersebut selanjutnya dilakukan uji ANOVA dua jalan untuk mengetahui adanya perbedaan viskositas diantara kelima formula. Berdasarkan hasil uji levene's test data viskositas dinyatakan homogen dengan dengan nilai sig  $0,52 > 0,05$ . 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  $0,00 < 0,05$ , lebih jelasnya dapat dilihat pada lampiran. Jika dilihat dari hasil plot, dapat disimpulkan FVI menunjukkan hasil viskositas yang lebih stabil dibandingan FII, FIII, FIV dan FV.



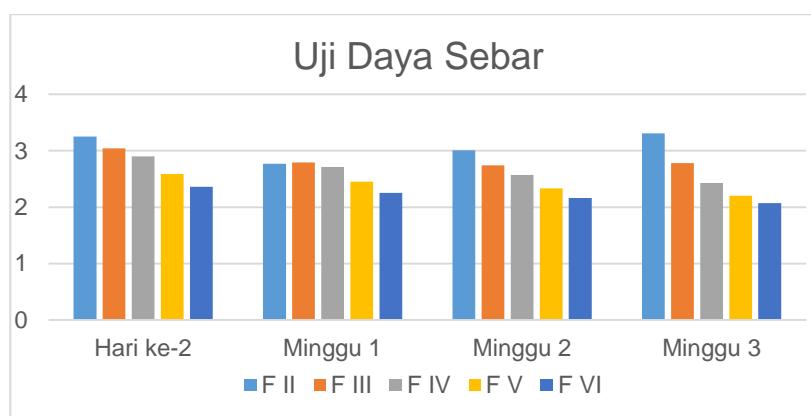
**Gambar 7. Kurva hasil uji viskositas krim kombinasi ekstrak daun sirsak dan daun sirih.**

**1.5. Uji daya sebar krim.** Uji daya sebar krim kombinasi ekstrak daun sirsak dan daun sirih dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui luas penyebaran krim pada permukaan kulit yang akan diobati. Krim kombinasi ekstrak daun sirsak dan daun sirih diuji pada kaca bulat berdiameter 15 cm, kaca lainnya

diletakkan diatasnya dan dibiarkan selama 1 menit. Diameter sebar krim diukur, selanjutnya ditambahkan 100 gram beban tambahan dan didiamkan selama 1 menit lalu diukur diameter yang menyebar. Hasil pengamatan uji daya sebar krim dapat dilihat pada tabel 12.

**Tabel 12. Hasil 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 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



**Gambar 8. Histogram hasil uji daya sebar krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun sirih.**

Dari data tabel 12 dan gambar histogram menunjukkan hasil uji daya sebar dari kelima formula tersebut terdistribusi normal, 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  $0,00 < 0,05$ , lebih jelasnya dapat dilihat pada lampiran

**1.6. Uji daya lekat krim.** Uji daya lekat krim merupakan salah satu pengujian untuk mengetahui kekuatan krim melekat pada kulit. Hasil pengamatan uji daya lekat krim selama satu bulan dapat dilihat pada tabel 13.

**Tabel 13. Hasil uji daya lekat krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun sirih**

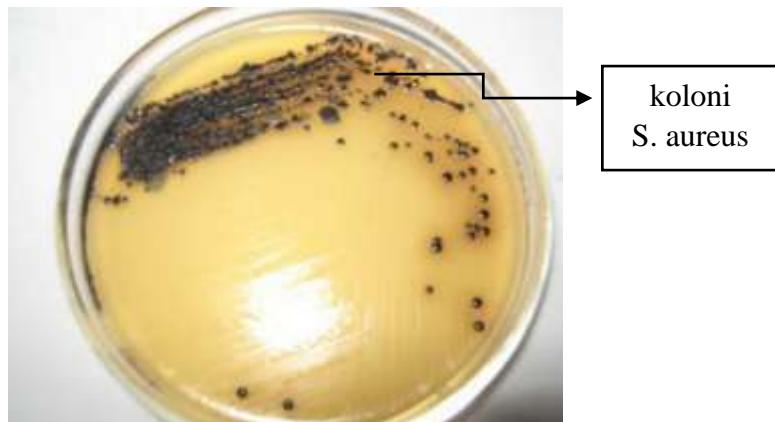
Hari ke	Rata-rata $\pm$ SD dari uji daya lekat (detik)				
	formula II	formula III	formula IV	formula V	formula VI
2	106,67 $\pm$ 2,88	116,67 $\pm$ 2,88	125,67 $\pm$ 1,15	153,33 $\pm$ 2,88	184,33 $\pm$ 0,57
7	188,33 $\pm$ 2,51	128,00 $\pm$ 3,46	136,67 $\pm$ 1,52	169,33 $\pm$ 1,15	184,67 $\pm$ 0,57
14	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

Tabel 13. menunjukkan bahwa formula VI memiliki daya lekat paling lama dibandingkan dengan formula lainnya dengan urutan formula III, IV dan V. Perbedaan lama daya lekat dapat dipengaruhi karena penggunaan konsentrasi yang berbeda. Formula VI mengandung konsentrasi ekstrak terbesar sehingga daya lekatnya juga semakin lama. sehingga krim ini menunjukkan kemampuannya melekat pada kulit yang baik. 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.

## D. Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri

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

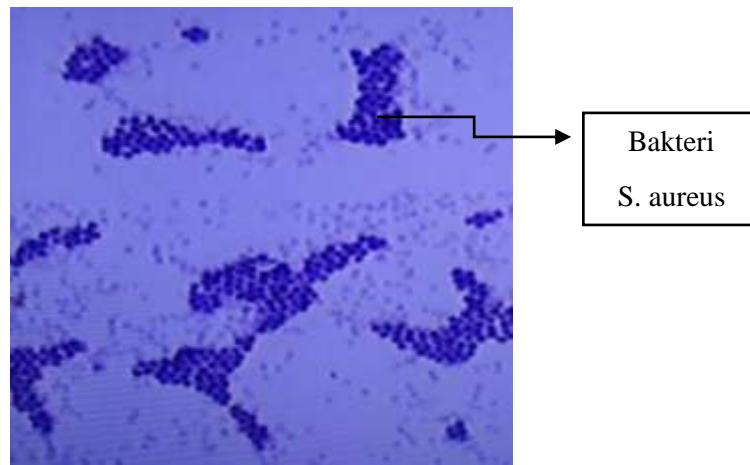
**1.1. Identifikasi bakteri dengan cawan gores.** Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* yang diinokulasi pada media VJA (*Vogel Johnson Agar*) dan ditambahkan kalium tellulit 1%, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Berdasarkan pengamatan koloni yang dihasilkan berwarna hitam, warna media di sekitar koloni berwarna kuning.



**Gambar 9. Hasil identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* dalam media VJA.**

Hasil ini dikarenakan bakteri *Staphylococcus aureus* dapat memfermentasi manitol menjadi suasana asam dan mereduksi tellulit sehingga membentuk koloni warna hitam. Phenol red terbentuk maka medium di sekitar koloni berwarna kuning karena *Staphylococcus aureus* mereduksi manitol. Hasil pengamatan bakteri *Staphylococcus aureus* pada mikroskop yaitu koloni berwarna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol seperti buah anggur.

**1.2. Hasil pengecatan.** Pewarnaan bakteri Gram Positif *Staphylococcus aureus* menggunakan Gram A, Gram B, Gram C, dan Gram D. Bakteri *Staphylococcus aureus* dinyatakan positif apabila berwarna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol seperti buah anggur ketika diamati di bawah mikroskop.



**Gambar 10. Hasil pengecatan bakteri *Staphylococcus aureus***

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

Hewan uji kelinci yang sudah diaklimatisasi dicukur bulu didaerah punggung sebelah kanan, sebelah kiri dan pada bagian punggung belakang sampai licin, kemudian dipilih 6 lokasi (a, b, c, d, e, f) penyuntikan jarak masing-masing  $\pm 5$  cm dengan luas daerah penyuntikan  $10 \text{ cm}^2$ . Suspensi *Staphylococcus aureus* diinfeksikan secara subkutan sebanyak 0,2 ml pada masing-masing lokasi pada kulit punggung kelinci yang telah disiapkan selama 24-48 jam untuk melihat terjadinya luka. Selanjutnya setelah nanah 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 25%, daerah c dioleskan krim formula 3 yaitu krim dengan dosis tunggal daun sirih dengan konsentrasi sebesar 10%, daerah d diolesi krim formula 4 dengan perbandingan ekstrak daun sirsak dan daun sirih sebesar 12,5% : 5%, daerah e dioleskan krim formula 5 dengan perbandingan konsentrasi antara ekstrak daun sirsak dan daun sirih sebesar 25% : 5%, daerah f dioleskan krim formula 6 dengan perbandingan konsentrasi antara ekstrak daun sirsak dan daun sirih sebesar 12,5% : 10%, lalu kulit punggung kelinci tersebut dibalut dengan perban steril untuk mencegah kontaminasi. Pengolesan krim dilakukan selama 2 kali sehari (pagi dan sore) selama 15 hari. Efek antibakteri dapat dilihat dari cepat sembahunya infeksi yang dapat diamati dengan hilangnya nanah dan keringnya luka dalam ukuran hari. Hasil pengukuran rata-rata diameter infeksi terhadap proses penyembuhan luka pada punggung kelinci selama 22 hari dapat dilihat pada tabel lampiran. Efek antibakteri dapat dilihat dari cepat sembahunya infeksi yang dapat diamati dengan hilangnya nanah dan keringnya luka dalam ukuran hari. Hasil pengukuran rata-rata diameter infeksi terhadap proses penyembuhan luka pada punggung kelinci selama 22 hari dapat dilihat pada tabel 14 di bawah ini,

**Tabel 14. Rata-rata pengukuran luka pada punggung kelinci dari hari ke-0 sampai hari-20.**

Perlakuan	Diameter infeksi (cm)									
	H <sub>2</sub>	H <sub>4</sub>	H <sub>6</sub>	H <sub>8</sub>	H <sub>10</sub>	H <sub>12</sub>	H <sub>14</sub>	H <sub>16</sub>	H <sub>18</sub>	H <sub>20</sub>
formula 1 (basis)	1,2	1,13	0,97	0,83	0,68	0,57	0,45	0,27	0,13	0
Formula II	1,25	1,17	0,97	0,83	0,67	0,55	0,41	0,21	0	0
Formula III	1,03	0,83	0,62	0,43	0,23	0	0	0	0	0
Formula IV	0,97	0,73	0,47	0,25	0,05	0	0	0	0	0
Formula V	1,02	0,8	0,51	0,27	0,03	0	0	0	0	0
Formula VI	0,92	0,67	0,23	0,02	0	0	0	0	0	0

**Keterangan:** FI (basis), FII (sirsak 25%), FIII (sirih 10%), FIV (kombinasi sirsak 12,5% sirih 5%), FV (kombinasi sirsak 25% sirih 5%) dan FVI (kombinasi sirsak 12,5% sirih 10%) dengan jumlah 0-20 hari.

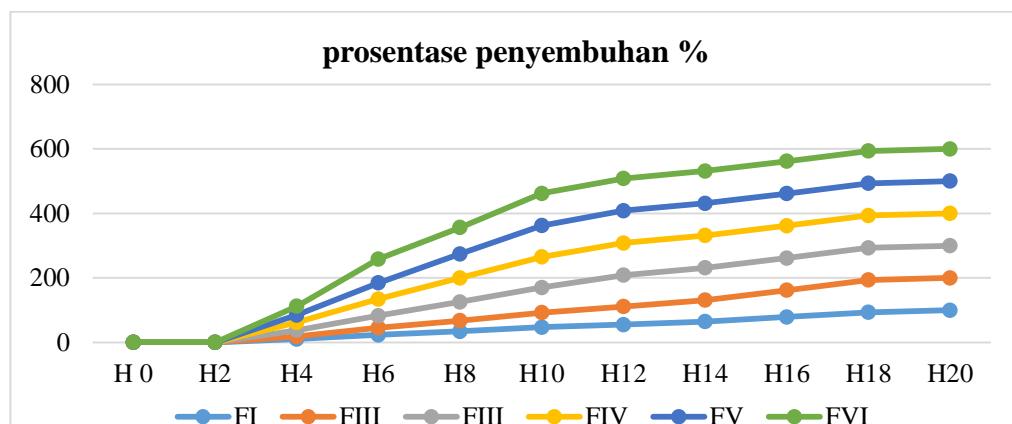
Tabel 14, menunjukkan perubahan diameter infeksi untuk semua perlakuan dari hari ke-0 sampai hari ke 20. Infeksi pada kelinci dinyatakan sembuh ditandai dengan perubahan diameter infeksi yang semakin mengecil atau prosentase penyembuhan infeksi yang semakin meningkat. Hasil pengamatan menunjukkan diameter infeksi untuk krim kombinasi dengan masing masing konsentrasi FII (sirsak 25%), FIII (sirih 10%), FIV (kombinasi sirsak 12,5% sirih 5%), FV (kombinasi sirsak 25% sirih 5%) dan FVI (kombinasi sirsak 12,5% sirih 10%) mengalami penyembuhan total pada hari ke-18, krim FI basis penyembuhan total pada hari ke-18, krim FII sirsak penyembuhan total pada hari ke-16, krim FIII sirih penyembuhan total pada hari ke 10, krim kombinasi FIV penyembuhan total pada hari ke 10, krim kombinasi FV penyembuhan total pada hari ke 10, dan krim kombinasi FVI penyembuhan total pada hari ke 8. Penyembuhan infeksi ditandai dengan terbentuknya keropeng pada kulit. Infeksi yang diberikan perlakuan basis krim mengalami lama penyembuhan karena basis krim tidak mengandung zat aktif untuk antibakteri, walaupun diameter infeksi mengecil tetapi masih terdapat nanah dibagian tengah infeksi. Pada perlakuan basis krim, mengecilnya infeksi pada punggung kelinci dapat disebabkan karena tubuh kelinci yang sehat mempunyai kemampuan untuk memulihkan tubuh. Berdasarkan hasil pengamatan, krim kombinasi ekstrak daun sirsak dan daun sirih lebih cepat menyembuhkan infeksi dan mengandung zat aktif yang mampu menyembuhkan infeksi yang disebabkan *Staphylococcus aureus*.

Hasil pengamatan makroskopis krim kombinasi ekstrak daun sirsak dengan konsentrasi FII (sirsak 25%), FIII (sirih 10%), FIV (kombinasi sirsak 12,5% sirih 5%), FV (kombinasi sirsak 25% sirih 5%) dan FVI (kombinasi sirsak 12,5% sirih 10%) mengalami penyembuhan total pada hari ke-18, krim FI basis penyembuhan total pada hari ke-18, krim FII sirsak penyembuhan total pada hari ke-16, krim FIII sirih penyembuhan total pada hari ke 10, krim kombinasi FIV penyembuhan total pada hari ke 10, krim kombinasi FV penyembuhan total pada hari ke 10, dan krim kombinasi FVI penyembuhan total pada hari ke 8, Kontrol sakit dapat menyembuhkan dalam waktu 18-20 hari. Berdasarkan pengamatan tersebut perlakuan FVI menunjukkan penyembuhan selama 8 hari lebih cepat dibandingkan perlakuan F1, F2, F3, F4 dan F5. Hasil prosentase penyembuhan infeksi pada punggung kelinci dapat dilihat pada tabel 15.

**Tabel 15. Rata-rata penyembuhan infeksi pada punggung kelinci dari hari ke-0 sampai hari 20.**

Perlakuan	Prosentase Penyembuhan %										
	H-0	H <sub>2</sub>	H <sub>4</sub>	H <sub>6</sub>	H <sub>8</sub>	H <sub>10</sub>	H <sub>12</sub>	H <sub>14</sub>	H <sub>16</sub>	H <sub>18</sub>	H <sub>20</sub>
formula 1 (basis)	0,00	0,00	10,56	23,60	34,18	47,32	55,33	64,52	78,95	93,37	100
Formula II	0,00	0,00	8,01	22,00	33,32	45,18	56,08	66,76	82,80	100	100
Formula III	0,00	0,00	19,39	37,42	58,18	77,57	96,96	100	100	100	100
Formula IV	0,00	0,00	23,90	51,51	74,16	95,11	100	100	100	100	100
Formula V	0,00	0,00	23,13	49,93	74,39	96,96	100	100	100	100	100
Formula VI	0,00	0,00	27,03	74,11	82,13	100	100	100	100	100	100

**Keterangan:** FI (basis), FII (sirsak 25%), FIII (sirih 10%), FIV (kombinasi sirsak 12,5% (sirih 5%), FV (kombinasi sirsak 25% sirih 5%) dan FVI (kombinasi sirsak 12,5% sirih 10%) dengan jumlah 0-20 hari.



**Gambar 11. kurva prosentase penyembuhan infeksi.**

Hasil pengamatan prosentase penyembuhan infeksi dianalisis dengan menggunakan uji statistik Kolmogorov-Smirnov data terdistribusi normal dengan nilai  $\text{sig} 0,33 > 0,05$ , sehingga dapat dilanjutkan dengan uji ANOVA satu jalan untuk melihat apakah ada perbedaan prosentase penyembuhan diantara kelompok perlakuan. Hasil uji ANOVA satu jalan menunjukkan nilai  $\text{sig} 0,00 (<0,05)$ , sehingga dapat dinyatakan diantara ke enam perlakuan terdapat perbedaan yang bermakna. Kemudian dilanjutkan dengan pengujian *Tukey* untuk menganalisis apakah ada perbedaan prosentase penyembuhan infeksi dari setiap kelompok perlakuan. Hasil uji menunjukkan perlakuan Formula VI (kombinasi sirsak 12,5% dan sirih 10 %) memiliki aktifitas yang paling efektif dari pada formula II, Formula III, Formula IV dan Formula V.

Proses penyembuhan infeksi pada kulit punggung kelinci karena terdapat kandungan senyawa kimia yang bersifat sebagai antibakteri dalam daun sirsak dan daun sirih, yaitu flavonoid, alkaloid, saponin dan tanin. Proses penyembuhan infeksi pada kulit punggung kelinci juga dipengaruhi oleh keadaan fisiologis hewan uji, yang dapat mempertahankan tubuh dari benda asing atau agen patogen. Cepatnya waktu penyembuhan infeksi dapat ditentukan dengan besarnya konsentrasi ekstrak pada masing-masing formula krim. Penyembuhan ditunjukkan dengan mengecil edema, hilangnya eritema dan nanah serta keringnya luka infeksi pada kulit punggung kelinci.

### 3. Hasil perhitungan jumlah bakteri *Staphylococcus aureus* dari nanah

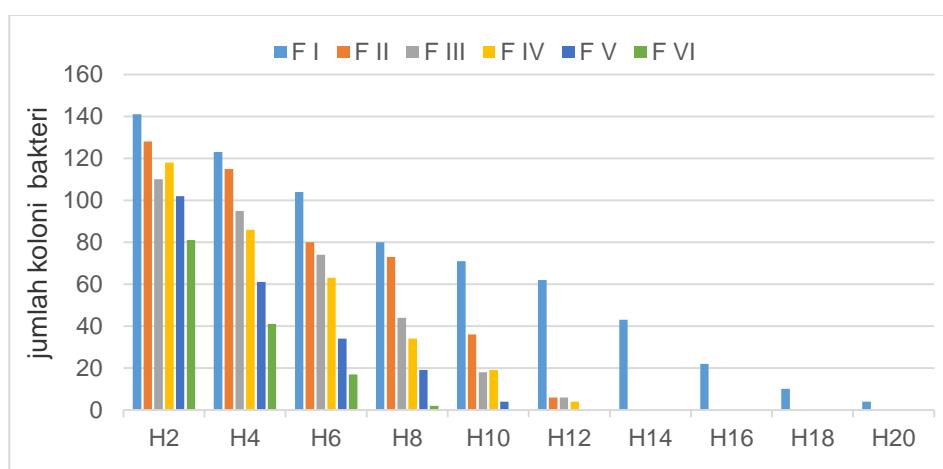
Bakteri *Staphylococcus aureus* yang berasal dari nanah pada kulit punggung kelinci diinokulasi pada media *Vogel Johnson Agar* (VJA), terbentuk koloni bulat, halus, menonjol dan berkilauan dengan membentuk pigmen berwarna kuning emas (Anonim 1994).

Perhitungan bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan metode Plate Count, dengan cara menghitung jumlah pertumbuhan bakteri menggunakan *Colony Counter* agar mengetahui jumlah koloni bakteri pada kulit punggung kelinci setelah pengobatan. Cara kerja untuk menghitung angka koloni bakteri adalah membuat larutan sampel dari  $10^{-1} - 10^{-3}$ , pada tabung reaksi pertama diisi NaCl 0,9% sebanyak 10 ml kemudian ditambahkan nanah pada punggung kelinci

yang diambil dengan kapas lidi steril sehingga didapatkan pengenceran  $10^{-1}$ , dari tabung pertama diambil 1 ml dan dimasukkan pada tabung yang berisi 9 ml NaCl 0,9% maka didapatkan pengenceran  $10^{-2}$ , demikian seterusnya sampai mendapat pengenceran  $10^{-3}$ . Pengenceran terakhir  $10^{-3}$  diambil 1 ml dan dimasukkan pada cawan petri steril secara aseptis. Kemudian pada cawan petri diambil ditambah kalium telulit 1% dan media *Vogel Johnson Agar* (VJA), setelah memadat masing-masing cawan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24-48 jam, kemudian menghitung banyaknya koloni menggunakan alat *Colony Counter*. Hasil pengamatan perhitungan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* selama pengobatan yang dilihat setiap 2 hari sekali hasil perhitungan dapat dilihat pada tabel 16.

**Tabel 16. Hasil pengamatan perhitungan jumlah koloni**

Sampel	Jumlah koloni bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> selama pengobatan									
	H2	H4	H6	H8	H10	H12	H14	H16	H18	H20
formula 1 (basis)	141	123	104	80	71	62	43	22	10	4
Formula II	128	115	80	73	36	6	-	-	-	-
Formula III	110	95	74	44	18	6	-	-	-	-
Formula IV	118	86	63	39	14	2	-	-	-	-
Formula V	102	61	34	19	4	-	-	-	-	-
Formula VI	81	41	17	2	-	-	-	-	-	-



**Gambar 12. Grafik hasil pengamatan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* dari nanah.**

Kemampuan krim kombinasi ekstrak daun sirsak dan daun sirih dalam pengobatan infeksi pada kulit punggung kelinci dapat diamati juga dari perhitungan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* yang diinokulasi pada media VJA. Jumlah koloni bakteri yang dilihat setiap 2 hari sekali hasilnya disamakan dengan jumlah koloni pada kontrol normal bakteri pada punggung kelinci. Tabel diatas, menunjukkan hasil pengamatan perhitungan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* yang mengalami penurunan tercepat pada pengobatan menggunakan krim kombinasi ekstrak daun sirsak dan sirih pada (FVI) dengan perbandingan konsentrasi 12.5 % : 10 % kemudian diikuti FV, FIV, FIII, F II dan kontrol sakit (basis krim) karena mengandung zat aktif lebih banyak dan zat yang terkandung di dalamnya berupa minyak asitri, saponin, tanin, flavonoid dan steroid.

Mekanisme kerja dari masing-masing kandungan zat tersebut adalah minyak asitri, yang sebagian besar dari cavicol yang bersifat desinfektan dan antijamur yang digunakan untuk mengurangi rasa sakit, flavonoid membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler bakteri yang dapat merusak membran sel sehingga terjadi pengeluaran intrasel, tanin antibakteri yang membentuk senyawa kompleks dengan protein bakteri, dengan ikatan hidrogen, inaktivasi enzim-enzim esensial destruksi fungsi dan materi genetik sehingga dapat dikatakan bersifat bakterisid, saponin dapat merusak membrane sitoplasma bakteri, steroid memiliki mekanisme penghambatan bakteri dengan merusak membran sel bakteri dengan meningkatkan permeabilitas sel, sehingga terjadi kebocoran sel yang diikuti keluarnya material interaseluler Perlakuan dengan krim kombinasi membeikan hasil berupa berkurangnya koloni yang terbentuk dari nanah punggung kelinci oleh sebab itu dapat dikatakan bahwa krim kombinasi ini memiliki aktivitas antibakteri dengan efek farmakologi sinergisme.

## **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 anti bakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang diinduksikan pada hewan uji (secara *in vivo*).

Kedua, pemberian krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona Muricata L.*) dan ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle L.*) yang paling efektif pada Formula VI dengan konsentrasi sirsak 12,5% dan sirih 10% menunjukkan penyembuhan infeksi *Staphylococcus aureus* lebih cepat yaitu 8 hari dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya.

Ketiga, sedian krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan ekstrak etanol daun sirih memiliki efek sinergis terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Keempat, sediaan krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan ekstrak etanol daun sirih memiliki perbedaan pada viskositas, sehingga stabilitas sediaan krim tidak bisa dikatakan stabil dalam penelitian ini.

#### **B. Saran**

Berdasarkan dari hasil penelitian dan kesimpulan, dapat disarankan bagi peneliti selanjutnya, yaitu:

1. Perlu dilakukan pengujian aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol 70% daun sirsak dan daun sirih terhadap bakteri patogen lain.
2. diharapkan pada peneliti selanjutnya untuk membuat sediaan krim dengan menggunakan etanol 96% agar tidak terlalu lama pada saat di evaporasi
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pengaruh pemberian ekstrak etanol 70% kombinasi daun sirsak dan daun sirih dengan bentuk sediaan yang lain.
4. Perlu dilakukan kombinasi dengan daun yang lainnya.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alatas, Nurhayati. *yang Perlu Diketahui Tentang Obat.* Jakarta : Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia;2006:490-508.
- Anonim. 1994. *Mikrobiologi Kedokteran.* Jakarta: Penerbit Binarupa Aksara. hlm 103-104.
- Anonim, 1985, Cara Pembuatan Simplisia, 4-10, 51, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Ansel. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi.* Edisi IV. Jakarta: Universitas Indonesia Press. hlm 166-175.
- Anang Hermawan 2007. Pengaruh Ekstrak Daun Sirih (*Piper Betle L.*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli* Dengan Metode Difusi Disk, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas airlangga Surabaya.2007.
- Anief M. 1997. *Ilmu Meracik Obat.* Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. hlm 49-50.
- Anief M. 2000. *Farmasetika.* Yogyakarta: Gajah Mada University Press. hlm 111-116.
- Antibacterials in household products. 2010. A Quick Reference Sheet from the Alliance for the Prudent Use of Antibiotics. Journal : 1-2.
- Bonang G, dan Koeswandono ES. 1982. *Mikrobiologi Kedokteran untuk Laboratorium dan klinik Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Katholik Indonesia Atmajaya.* Jakarta: PT.Gramedia. hlm 77-78; 190-191.
- BSN. 2011. Cara uji mikrobiologi – bagian 9: penentuan *Staphylococcus aureus* pada produk perikanan. Jakarta: Standar Nasional Indonesia 2332.9.
- Cahyono, Hendra . 2012.//Skripsi Uji Aktivitas Antibakteri Eksrak Etilasetat Daun Sirih Terhadap *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichiacoli* Serta Identifikasi Senyawa Aktifnya. Yogyakarta: Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga.
- Cowan MM. 1999. *Plant Product as Antimicrobial Agents.* Clinical Microbiology Reviews 12 (4): 564-582.

- [Depkes]. 1979. *Farmakope Indonesia*. Edisi Ketiga. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. hlm 33.
- [Depkes]. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm 4-16; 25-26.
- [Depkes]. 1995<sup>a</sup>. *Farmakope Indonesia*. Edisi Keempat. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. hlm 18; 551.
- [Depkes]. 1995<sup>b</sup>. *Materi Medika Indonesia*. Jilid VI. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm 541-553.
- Farida, Julianitina. Manfaat Sirih Merah (*Piper Crocatum*) Sebagai Agent Antibacterial terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*.543-532-1-PB.
- Hasmila Ita, Amaliah dan Danial M. 2015. Efektivitas salep ekstrak daun sirsak (*Annona muricata L.*) pada mencit yang terinfeksi bakteri *Staphylococcus aureus*. Makasar: Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Negeri Makasar. 29 Januari 2015.
- Hasyim *et al.* 2012. Formulasi dan uji efektivitas gel luka bakar ekstrak daun cocor bebek (*Kalanchoe Pinnata L.*) pada kelinci (*Oryctolagus cuniculus*). Majalah Farmasi dan Farmakologi. 16(2): 89-94.
- Hustamin, R. 2006. *Panduan Memelihara Kelinci Hias*. Jakarta : Agromedia Pustaka.
- Jawetz, Melnick, dan Adelberg's Medical. 2012. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi 25. Jakarta: EGC. hlm 194-200.
- Jawetz E *et al.* 1986. *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan*. Edisi XVI. Penerjemah: Bonang, G. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran. hlm 239-244.
- Jawetz *et al.* 2007. *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan, Staphylococcus aureus*. Diterjemahkan Oleh Bonang G. Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta: Onesia. hlm 571-573.
- Katzung MD. 2010. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Edisi X. Jakarta: EGC. hlm 775-777.
- Kusumaningtyas, E., Widiati, R.R., dan Gholib, D. 2008, Uji Daya Hambat Ekstrak dan Krim Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle*) Terhadap Candida albicans dan Trichophyton mentagrophytes. Seminar Nasional Tekhnologi Peternakan dan Veteriner.

- Lachman, L, Lieberman, H, A, dkk. 1994. *Teori dan praktik farmasi industri, edisi III* Jakarta : Penerbit Universitas Indonesia, UI – Press.
- Maradona D. 2013. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun durian (*Durio zibethinus* L.), daun lengkeng (*Dimocarpus longan* Lour), dan daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25925 dan *Escherichia coli* ATCC 25922 [Skripsi]. Jakarta: Program Studi Farmasi, UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Melisa R.Tuna, Billy J, Kepel' Michael A. Leman. 2015. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Sirsak (*Annona Muricata* L.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus Aureus* Secara In Vitro, fakultas pendidikan dokter gigi, fakultas kedokteran unsrat. 4november 2015.
- Murini, T. 2003. *Obat Jerawat Topikal Dan Bentuk Sediaannya Yang Beredar Di Indonesia. Jurnal Kedokteran Yarsi.* 11 (2), 104-110.
- Priyatna Nuning. 2011. *Beternak dan Bisnis Kelinci Pedagang.* Jakarta: PT. Agro Medika Pustaka. hlm: 20-22.
- Rahayu SS. 2009. Ekstraksi. [www.chem-is-try.org/materi\\_kimia/kimia-industri/teknologi-proses/ekstraksi/](http://www.chem-is-try.org/materi_kimia/kimia-industri/teknologi-proses/ekstraksi/) [1 September 2015].
- Rahmawati M. Hambali, Dirayah R. Husain, Gemini Alam. 2014. Bioaktivitas Ekstrak Metanol Daun Tua Sirsak *Annona muricata* L. Sebagai Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acnes*. Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar, Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin, Makassar. 2014
- Saifullah TN, dan Kuswahyuning R. 2008. *Teknologi dan Formulasi Sediaan Semi padat.* hlm 59-64.
- Shulmat *et al.* 1994. *Dasar Biologis dan Klinis Penyakit Infeksi.* Edisi IV. hlm 550-557.
- Simanjuntak M. Skripsi "Ekstraksi Fraksinasi Komponen Ekstrak Daun Tumbuhan Senduduk (*Melastoma malabathricum*. L.) serta Pengujian Efek Sediaan Krim terhadap Penyembuhan Luka Bakar". Medan : Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara 2008.
- Soedibyo Moeryati. 1998. *Alam Sumber Kesehatan Manfaat dan Kegunaan.* Jakarta: Balai Pustaka. hlm 271-272.
- Sousa OV, Vieira GD, Jesus RG, Pinho J, Yamamoto CH, Alves MS. Antinociceptive and AntiInflammatory Activities of the Ethanol Extract

- of *Annonamuricata* L. leaves in Animal Models. *Journal Home* Vol.5, No.11; 6 78. 2010.
- Sudewo B. 2009. *Buku Pintar Hidup Sehat Cara Mas Dewo*. Jakarta: Agro Media Pustaka. hlm 119-120.
- Suliantari. Aktivitas antibakteri ekstrak sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap bakteri patogen pangan. 13 juni 2008.
- Sukriani Kursia, Julianri S. Lebang, Burhanuddin Taebe, Asril Burhan' Wa O. R. Rahim, Nursamsia. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etilasetat Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*, sekolah tinggi ilmu farmasi, makasar. 2 juni 2015.
- Sunarya Y dan Setiabudi A. 2007. *Mudah dan Aktif Belajar Kimia*. Bandung: PT. Setia Purna Inves.
- Sunarjono, H. (2005). *Sirsak dan Srikaya Cetakan pertama*. Jakarta: Penebar Swadaya. Hal.14-15,22-25.
- Supardi, Tri imam dan Sukamto. 2010. *Mikrobiologi dalam Pengolahan Pangan dan Keamanan Pangan*. Bandung: Yayasan Adikarya Ikapi.
- Suriantika Cipto *et al*. 2013. Sterilisasi dan pengenalan peralatan mikrobiologi. Surakarta: Jurusan Farmasi, Universitas Muhammadiyah Prof. dr. Hamka.
- Syamsuhidayat dan Hutapea, J.R., 1991, *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Syukur, C. dan Hermani, 2002. Budidaya Tanaman Obat Komersial, Penerbit Penebar Swadaya, Jakarta.
- Voigt R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Diterjemahkan oleh Soendani Noerono. Edisi V. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. hlm 566 – 567; 924 – 925.
- Warsa UC. 1994. *Staphylococcus* dala Warsa UC. 1994. *Staphylococcus* dalam *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi Revisi. Jakarta: Penerbit Binarupa Aksara. hlm 103-110.
- WardaniLP. Skripsi “Efek Penyembuhan Luka Bakar Gel Ekstrak Etanol Daun Sirih (*Piper betle* L.) pada Kulit Punggung Kelinci”. Surakarta : Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta 2009.

- Widodo, H. 2013. *Ilmu Meracik Obat Untuk Apoteker*. Yogyakarta: D-Medika
- Wijayakusuma H. 1992. *Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia*. Jilid II. Jakarta: Pustaka Kartini. hlm 26-28.
- Wolfensohn S dan M Lloyd. 1988. *Handbook of laboratory Animal Management and Welfare*. USA : Blackwell scince.

# LAMPIRAN

## Lampiran 1. Surat keterangan determinasi daun sirsak


  
**UPT- LABORATORIUM**

---

No : 174/DET/UPT-LAB/07/IV/2017  
 Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :

Nama : Indah Ana Resti  
 NIM : 19133952 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 :

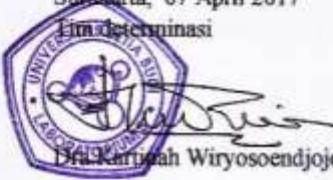
Habitus : Pohon, tinggi mencapai 8 meter.  
 Akar : Tunggang.  
 Batang : Bulat, berkayu, percabangan monopodial.  
 Daun : Tunggal, bangun bulat memanjang sampai bulat telur terbalik, ujung meruncing pendek, pangkal tumpul, tepi rata, tulang daun menyirip, seperti kulit, panjang 12,3 – 13,2 cm, permukaan 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

  
 Dr. Ir. Kartini Wiryosoehdjojo, SU.

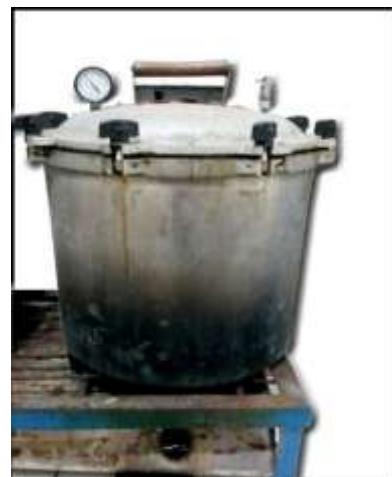
Jl. Let.jen Sutoyo, Mojosongo-Solo 57127 Telp.0271-852518, Fax.0271-853275  
 Homepage : [www.setiabudi.ac.id](http://www.setiabudi.ac.id), e-mail : [info@setiabudi.ac.id](mailto:info@setiabudi.ac.id)

**Lampiran 2. Surat keterangan determinasi daun sirih.**

 <b>UPT - LABORATORIUM</b>
<p>No : 174/DET/UPT-LAB/07/IV/2017        Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan</p> <p>Menerangkan bahwa :</p> <p>Nama : Indah Ana Resti        NIM : 19133952 A        Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi</p> <p>Telah mendeterminasikan tumbuhan : <b>Sirih (<i>Piper betle</i> L.)</b></p> <p>Hasil determinasi berdasarkan : Steenis : FLORA</p> <p>1a – 2b – 3b – 4b – 6b – 7b – 9a, golongan 4. 41b – 42b – 43b – 54b – 59b – 61b – 62b – 63a – 64a. familia 37. 1a. <b><i>Piper betle</i> L.</b></p> <p>Deskripsi :</p> <p>Habitus : Herba, tumbuh memanjang.</p> <p>Akar : Serabut.</p> <p>Batang : Segitiga, beralur.</p> <p>Daun : Tunggal, duduk daun berseling atau tersebar, herbaceus, 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.</p> <p>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.</p> <p>Buah : Buni dengan ujung bebas dan membulat.</p> <p>Pustaka : Steenis C.G.G.J., Bloembergen S. Eyma P.J. (1978): <i>FLORA</i>, PT Pradnya Paramita. Jl. Kebon Sirih 46. Jakarta Pusat, 1978.</p> <p style="text-align: right;">Surakarta, 07 April 2017        Lim determinasi          Dr. Kartuah Wiryosoendjojo, SU.</p> <p>Jl. Let.jen Sutoyo, Mojosongo-Solo 57127 Telp.0271-852518, Fax.0271-853275        Homepage :<a href="http://www.setiabudi.ac.id">www.setiabudi.ac.id</a> e-mail :<a href="mailto:info@setiabudi.ac.id">info@setiabudi.ac.id</a></p>

**Lampiran 3. Foto daun sirsak dan daun sirih dan proses maserasi****Serbuk daun sirsak****Serbuk daun sirih****Ekstrak etanol daun sirsak dan sirih**

**Lampiran 4. Foto alat****Oven****Alat penggiling****Timbangan analitis****Moisture balance****Evaporator****Water bath**

**Inkubator****Autoclave****Inkas****Autovortex****Pengenceran  
dari nanah kelinci****Vogel Johnson Agar**

**Kalium telulit****Anak timbang****Suspensi bakteri****Coloni counter****Uji bebas etanol****Kapas lidi steril**

**Lampiran 5. Gambar hasil krim dan alat uji krim****Krim kombinasi formula 1, 2, dan 3****Krim kombinasi formula 4, 5, dan 6****.Alat uji viskositas****kapas lidi steril**

**Alat uji daya lekat**



**Alat uji PH**



**Alat uji daya sebar**



**Hasil uji homogenitas**



**Lampiran 6. Perhitungan prosentase rendemen bobot kering terhadap bobot basah daun sirsak dan daun sirih**

Hasil perhitungan prosentase rendemen bobot kering terhadap bobot basah 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>Bobot Basah (gram)</b>	<b>Bobot Kering (gram)</b>	<b>Rendemen (%b/b)</b>
5000	1500	30
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 7. Perhitungan 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%

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

Kesimpulan :

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

**Lampiran 8. Identifikasi organoleptis serbuk daun sirsak dan daun sirih**

Hasil identifikasi organoleptis serbuk daun sirsak dan daun sirih

<b>Keterangan</b>	<b>Organoleptis</b>
Bentuk	Serbuk
Bau	Khas
Rasa	Pahit
Warna	Hijau tua

Kesimpulan :

Serbuk daun sirsak dan daun sirih berbentuk serbuk, berbau khas, rasanya pahit dan berwarna hijau tua.

**Lampiran 9. Perhitungan prosentase rendemen ekstrak daun sirsak dan daun sirih.**

Daun	Berat serbuk (gram)	Berat ekstrak (gram)	Rendemen (%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%.

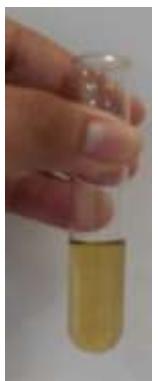
**Lampiran 10. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak etanol 70% daun sirsak dan sirih**

**Hasil identifikasi kandungan 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 11. Perhitungan penimbangan bahan krim

Formula 1 (basis) :

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 2 (ekstrak sisak = 25mg/ml) :

Ekstrak Sirsak	=	$25 mg/ml \times 100$	=	2,5
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 3 (ekstrak sirih = 10mg/ml) :

Ekstrak Sirih	=	$10 mg/ml \times 100 -$	=	1,0
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 4 (ekstrak sirsak 25mg/ml dan ekstrak sirih 10mg/ml) :

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

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

Ekstrak Sirsak	=	$12,5 \text{ mg/ml} \times 100$	=	1,25
Ekstrak Sirih	=	$10 \text{ mg/ml} \times 100$	=	1,0
Acid stearin	=	$(\frac{142}{750} \times 100) + 10\%$	=	20,83
Glycerin	=	$(\frac{100g}{750} \times 100) + 10\%$	=	14,67
Na. Biborat	=	$(\frac{2,5g}{750 \text{ ml}} \times 100) + 10\%$	=	0,37
TEA	=	$(\frac{10g}{750 \text{ ml}} \times 100) + 10\%$	=	1,47
Nipagin	=	$(\frac{0,1g}{750 \text{ ml}} \times 100) + 10\%$	=	0,13
Aq. dest	=	$(\frac{750 \text{ ml}}{1004,5g} \times 100) + 10\%$	=	74,66

**Lampiran 12.** Gambar uji aktivitas antibakteri krim kombinasi ekstrak etanol 70% daun sirsak dan daun sirih dengan 5 konsentrasi krim pada punggung kelinci yang dibuat infeksi bakteri *Staphylococcus aureus*.



**Penyuntikan bakteri**



**Setelah penyuntikan**



**Munculnya nanah**



**Dikasih krim**



**Setelah diberi krim selama 8 hari**



setelah dioles krm F1



setelah Dioles krim F2



setelah di oles krim F3



setelah di oles krim F4



setelah di oles krim F5



setelah di oles sirsak dan sirih



Hari ke 16 pemberian krim



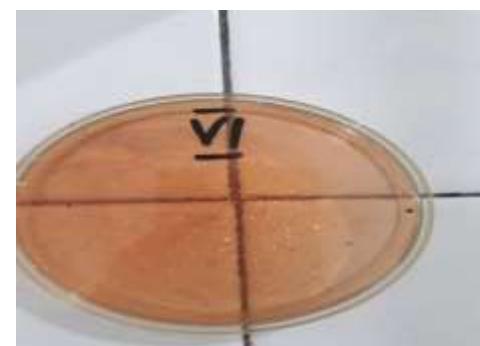
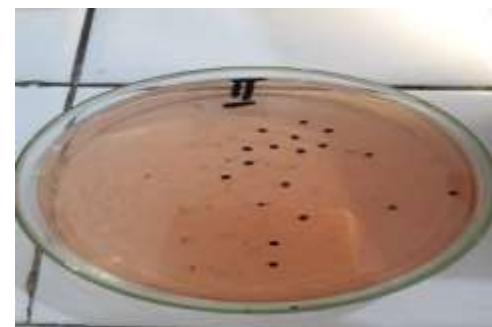
setelah sembuh

**Lampiran 13. Hasil pengamatan inokulasi bakteri *Staphylococcus aureus* pada nanah punggung kelinci setelah pemberian krim kombinasi ekstrak etanol 70% daun sirsak dan sirih.**

**1. Bakteri sebelum pengenceran**



**2. Gambar inokulasi tiap formula.**



**Lampiran 14. Uji viskositas ekstrak etanol 70% daun sirsak dan daun sirih.**

waktu	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
<b>Hari ke-2</b>	210	210	220	215	215	220	250	250	260	270	270	280	300	310	300
<b>Minggu 1</b>	215	215	220	235	230	235	260	270	260	280	280	285	310	320	320
<b>Minggu 2</b>	220	225	230	240	235	240	270	270	280	290	300	305	340	340	335
<b>Minggu 3</b>	220	230	230	240	235	245	270	290	280	310	310	315	350	360	350

Rata-rata ± SD dari uji viskositas krim kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dan daun sirih

waktu	Rata rata ± SD				
	formula II (Dpas)	formula III (Dpas)	formula IV (Dpas)	formula V (Dpas)	formula VI (Dpas)
<b>Hari ke-2</b>	213,33±5,77	216,67±2,89	253,33±5,77	273,33±5,77	303,33±5,77
<b>Minggu 1</b>	216,67±2,89	233,33±2,89	263,33±5,77	281,67±2,88	316,67±5,77
<b>Minggu 2</b>	225,00±5,00	238,33±2,89	273,33±5,77	298,33±7,63	338,33±2,88
<b>Minggu 3</b>	226,67±5,77	240,00±5,00	280,00±10,00	311,67±2,88	353,33±5,77

**Uji statistik Kolmogorov-Smirnov dan analisis anava dua jalan viskositas krim kombinasi ekstrak etanol 70% daun sirsak dan daun sirih.**

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 2	12
	3	F 3	12
	4	F 4	12
	5	F 5	12
	6	F 6	12
	1	Hari ke-2	15
Waktu	2	Minggu 1	15
	3	Minggu 2	15
	4	Minggu 3	15

### Descriptive Statistics

Dependent Variable: Viskositas

formula	Waktu	Mean	Std. Deviation	N
F 2	Hari ke-2	215.00	5.000	3
	Minggu 1	215.00	5.000	3
	Minggu 2	225.00	5.000	3
	Minggu 3	226.67	5.774	3
	Total	220.42	7.217	12
	Hari ke-2	230.00	13.229	3
F 3	Minggu 1	228.33	12.583	3
	Minggu 2	230.00	8.660	3
	Minggu 3	240.00	5.000	3
	Total	232.08	10.104	12
	Hari ke-2	260.00	10.000	3
	Minggu 1	263.33	11.547	3
F 4	Minggu 2	273.33	15.275	3
	Minggu 3	273.33	11.547	3
	Total	267.50	12.154	12
	Hari ke-2	280.00	10.000	3
	Minggu 1	286.67	20.817	3
	Minggu 2	296.67	15.275	3
F 5	Minggu 3	301.67	15.275	3
	Total	291.25	16.114	12
	Hari ke-2	316.67	20.817	3
	Minggu 1	326.67	20.817	3
	Minggu 2	333.33	30.551	3
	Total	327.92	20.611	12
F 6	Hari ke-2	260.33	38.981	15
	Minggu 1	264.00	43.679	15
	Minggu 2	271.67	44.748	15
	Minggu 3	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****Estimates**

Dependent Variable: Viskositas

formula	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
F 3	220.417	4.167	211.996	228.838
F 4	232.083	4.167	223.662	240.504
F 5	267.500	4.167	259.079	275.921
F 6	291.250	4.167	282.829	299.671
6	327.917	4.167	319.496	336.338

**2. Waktu Penyimpanan****Estimates**

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
Minggu 1	264.000	3.727	256.468	271.532
Minggu 2	271.667	3.727	264.135	279.199
Minggu 3	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

### 1. Waktu Penyimpanan

#### Homogeneous Subsets

Viskositas

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

Waktu	N	Subset	
		1	2
Hari ke-2	15	260.33	
Minggu 1	15	264.00	264.00
Minggu 2	15	271.67	271.67
Minggu 3	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.

### 2. 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.

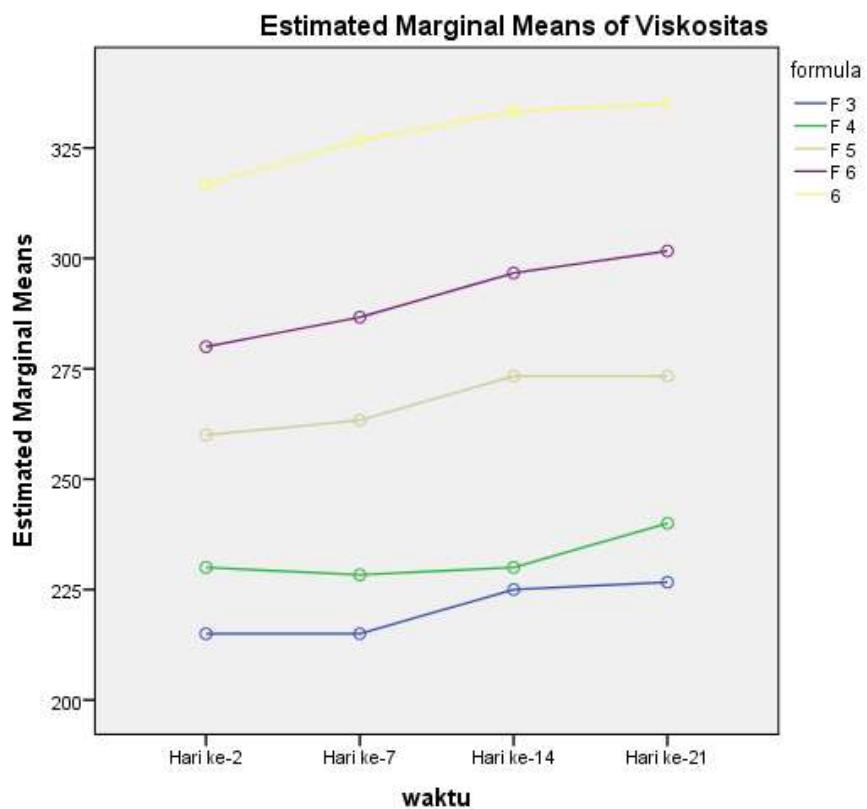
The error term is Mean Square(Error) = 208.333.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12.000.

b. Alpha = .05.

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

## Profile Plots



**Lampiran 15. Uji daya sebar krim kombinasi ekstrak etanol 70% daun sirsak dan sirih.**

<b>formula</b>	<b>berat beban gram</b>	<b>Daya sebar hari ke-2</b>		
		<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
<b>Formula II</b>	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
<b>Formula III</b>	Kaca (49,124)	2.1	2.2	2.3
	Kaca + 100	2.8	2.6	3.1
	Kaca + 200	4.2	4	3.9
<b>Formula IV</b>	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
<b>Formula V</b>	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
<b>Formula VI</b>	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

<b>formula</b>	<b>berat beban gram</b>	<b>Daya sebar minggu 1</b>		
		<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
<b>Formula II</b>	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
<b>Formula III</b>	Kaca (49,124)	2	2	2,2
	Kaca + 100	2,7	2,7	2,8
	Kaca + 200	3,5	3,6	3,6
<b>Formula IV</b>	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
<b>Formula V</b>	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
<b>Formula VI</b>	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

<b>formula</b>	<b>berat beban gram</b>	<b>Daya sebar minggu 2</b>		
		<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
<b>Formula II</b>	Kaca (49,124)	2.1	2.2	2.3
	Kaca + 100	2.8	2.6	3.1
	Kaca + 200	4.1	4	3.9
<b>Formula III</b>	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
<b>Formula IV</b>	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
<b>Formula V</b>	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
<b>Formula VI</b>	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

<b>formula</b>	<b>berat beban gram</b>	<b>Daya sebar minggu 3</b>		
		<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
<b>Formula II</b>	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
<b>Formula III</b>	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
<b>Formula IV</b>	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
<b>Formula V</b>	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
<b>Formula VI</b>	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

Rata-rata  $\pm$  SD dari uji daya sebar krim.

berat beban gram	Diameter penyebaran (cm $\pm$ SD)			
	Hari ke-2	Minggu 1	Minggu 2	Minggu 3
Kaca (49,124)	2,47 $\pm$ 0,25	2,17 $\pm$ 0,11	2,23 $\pm$ 0,06	1,83 $\pm$ 0,06
Kaca + 100	3,07 $\pm$ 0,37	2,17 $\pm$ 0,15	2,83 $\pm$ 0,25	2,61 $\pm$ 0,08
Kaca + 200	4,23 $\pm$ 0,11	3,97 $\pm$ 0,11	3,97 $\pm$ 0,06	2,48 $\pm$ 0,08
Kaca (49,124)	2,27 $\pm$ 0,15	2,07 $\pm$ 0,11	1,87 $\pm$ 0,06	1,65 $\pm$ 0,08
Kaca + 100	2,83 $\pm$ 0,25	2,73 $\pm$ 0,06	2,63 $\pm$ 0,06	2,48 $\pm$ 0,08
Kaca + 200	4,03 $\pm$ 0,15	3,57 $\pm$ 0,06	3,73 $\pm$ 0,06	3,08 $\pm$ 0,10
Kaca (49,124)	1,97 $\pm$ 0,05	1,80 $\pm$ 0,00	1,63 $\pm$ 0,05	1,43 $\pm$ 0,05
Kaca + 100	2,80 $\pm$ 0,10	2,60 $\pm$ 0,10	2,50 $\pm$ 0,10	2,33 $\pm$ 0,11
Kaca + 200	3,93 $\pm$ 0,05	3,73 $\pm$ 0,05	3,60 $\pm$ 0,10	3,53 $\pm$ 0,05
Kaca (49,124)	1,67 $\pm$ 0,05	1,53 $\pm$ 0,05	1,40 $\pm$ 0,00	1,30 $\pm$ 0,10
Kaca + 100	2,47 $\pm$ 0,05	2,40 $\pm$ 0,10	2,23 $\pm$ 0,05	2,13 $\pm$ 0,05
Kaca + 200	3,63 $\pm$ 0,05	3,43 $\pm$ 0,05	3,37 $\pm$ 0,11	3,17 $\pm$ 0,05
Kaca (49,124)	1,57 $\pm$ 0,11	1,50 $\pm$ 0,10	1,43 $\pm$ 0,05	1,33 $\pm$ 0,05
Kaca + 100	2,30 $\pm$ 0,10	2,23 $\pm$ 0,05	2,13 $\pm$ 0,05	2,00 $\pm$ 0,00
Kaca + 200	3,20 $\pm$ 0,10	3,03 $\pm$ 0,05	2,93 $\pm$ 0,05	2,87 $\pm$ 0,05

### **Uji statistik Kolmogorov-Smirnov dan analisis anava dua jalan daya sebar krim kombinasi ekstrak etanol 70% daun sirsak dan daun sirih.**

#### **NPar Tests**

##### **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 2	12
	3	F 3	12
	4	F 4	12
	5	F 5	12
	6	F 6	12
	1	H 2	15
waktu	2	minggu ke 1	15
	3	minggu ke 2	15
	4	minggu ke 3	15

**Descriptive Statistics**

Dependent Variable: dayasebar

formula	Waktu	Mean	Std. Deviation	N
F 2	H 2	3.26	.895	3
	minggu ke 1	2.77	1.039	3
	minggu ke 2	3.01	.884	3
	minggu ke 3	2.31	.418	3
	Total	2.84	.806	12
	H 2	3.04	.899	3
F 3	minggu ke 1	2.79	.752	3
	minggu ke 2	2.74	.935	3
	minggu ke 3	2.40	.718	3
	Total	2.75	.748	12
	H 2	2.90	.984	3
	minggu ke 1	2.71	.970	3
F 4	minggu ke 2	2.58	.987	3
	minggu ke 3	2.43	1.054	3
	Total	2.65	.871	12
	H 2	2.59	.985	3
	minggu ke 1	2.45	.951	3
	minggu ke 2	2.33	.989	3
F 5	minggu ke 3	2.20	.937	3
	Total	2.39	.837	12
	H 2	2.36	.816	3
	minggu ke 1	2.25	.765	3
	minggu ke 2	2.16	.751	3
	minggu ke 3	2.07	.772	3
F 6	Total	2.21	.672	12
	H 2	2.83	.844	15
	minggu ke 1	2.60	.793	15
	minggu ke 2	2.57	.831	15
	minggu ke 3	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).

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: dayasebar

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	6.073 <sup>a</sup>	19	.320	.406	.981
Intercept	395.626	1	395.626	502.801	.000
Formula	3.226	4	.807	1.025	.406
Waktu	2.268	3	.756	.961	.421
formula * waktu	.578	12	.048	.061	1.000
Error	31.474	40	.787		
Total	433.173	60			
Corrected Total	37.546	59			

a. R Squared = .162 (Adjusted R Squared = -.236)

**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
H 2	2.829	.229	2.366	3.292
minggu ke 1	2.595	.229	2.132	3.058
minggu ke 2	2.565	.229	2.102	3.028
minggu ke 3	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

### Waktu Penyimpanan

#### Homogeneous Subsets

##### Dayasebar

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

Waktu	N	Subset
		1
minggu ke 3	15	2.2813
minggu ke 2	15	2.5653
minggu ke 1	15	2.5953
H 2	15	2.8293
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.

## Formula

#### Homogeneous Subsets

##### Dayasebar

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

formula	N	Subset
		1
F 6	12	2.2100
F 5	12	2.3942
F 4	12	2.6542
F 3	12	2.7450
F 2	12	2.8358
Sig.		.429

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

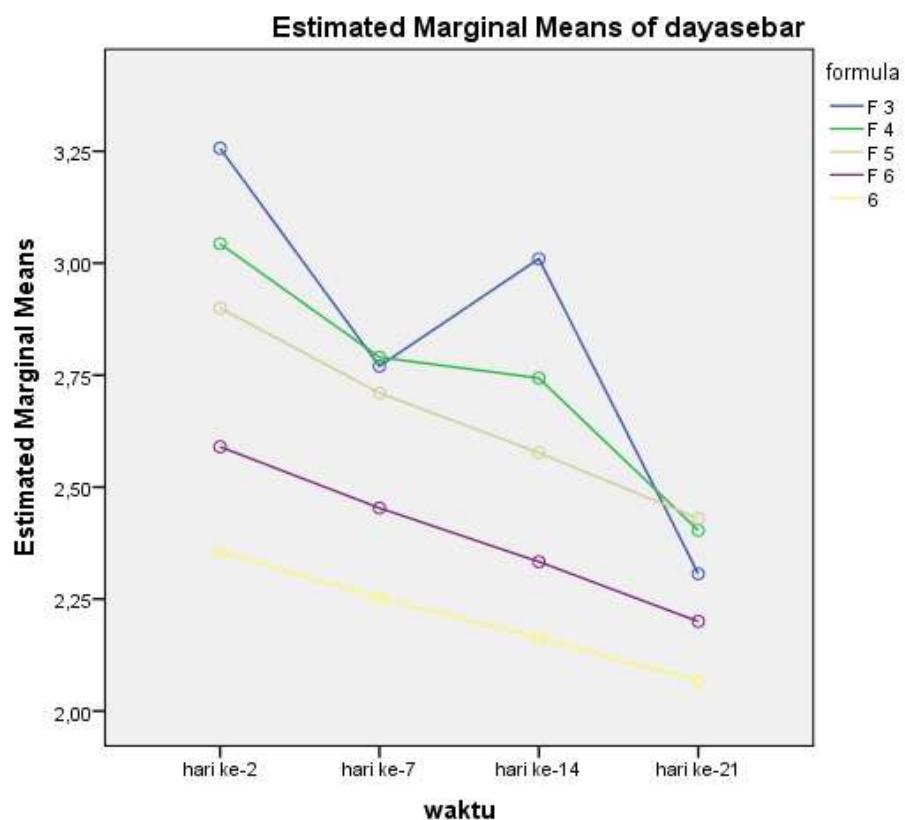
The error term is Mean Square(Error) = .787.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12.000.

b. Alpha = .05.

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

## Profile Plots



**Lampiran 16. Uji daya lekat krim kombinasi ekstrak etanol 70% daun sirsak dan daun sirih.**

waktu	daya lekat krim														
	formula II			formula III			formula IV			formula V			formula VI		
Hari	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
ke-2	105	105	110	115	115	120	125	127	125	155	150	155	184	184	185
Minggu 1	116	118	121	126	126	132	137	138	135	170	168	170	185	185	184
Minggu 2	122	128	128	132	132	138	143	144	144	174	173	172	185	185	187
Minggu 3	125	125	132	138	145	148	151	155	154	179	179	178	185	187	186

Rata-rata ± SD dari uji daya lekat krim

Rata-rata ± SD dari uji daya lekat					
waktu	formula II	formula III	formula IV	formula V	formula VI
Hari	(detik)	(detik)	(detik)	(detik)	(detik)
ke-2	106,67±2,88	116,67±2,88	125,67±1,15	153,33±2,88	184,33±0,57
Minggu 1	188,33±2,51	128,00±3,46	136,67±1,52	169,33±1,15	184,67±0,57
Minggu 2	126,00±3,47	134,00±3,46	143,67±0,57	173±1,00	185,87±1,154
Minggu 3	127,33±4,04	143,66±5,13	153,33±2,08	178,67±0,57	186±1,00

**Uji statistik Kolmogorov-Smirnov dan analisis anava dua jalan daya lekat krim ekstrak etanol 70% daun sirsak dan daun sirih**

**NPar Tests**

**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 II	12
	3	F III	12
	4	F IV	12
	5	F V	12
	6	F VI	12
	1	H 2	15
waktu	2	minggu 1	15
	3	minggu ke 2	15
	4	minggu ke 3	15

Descriptive Statistics

Dependent Variable: dayalekat

formula	Waktu	Mean	Std. Deviation	N
F II	H 2	106.67	2.887	3
	minggu 1	118.33	2.517	3
	minggu ke 2	126.00	3.464	3
	minggu ke 3	127.33	4.041	3
	Total	119.58	9.020	12
	H 2	116.67	2.887	3
F III	minggu 1	128.00	3.464	3
	minggu ke 2	134.00	3.464	3
	minggu ke 3	143.67	5.132	3
	Total	130.58	10.732	12
	H 2	125.67	1.155	3
	minggu 1	136.67	1.528	3
F IV	minggu ke 2	143.67	.577	3
	minggu ke 3	153.33	2.082	3
	Total	139.83	10.616	12
	H 2	153.33	2.887	3
	minggu 1	169.33	1.155	3
	minggu ke 2	173.00	1.000	3
F V	minggu ke 3	178.67	.577	3
	Total	168.58	9.931	12
	H 2	184.33	.577	3
	minggu 1	184.67	.577	3
	minggu ke 2	185.67	1.155	3
	minggu ke 3	186.00	1.000	3
F VI	Total	185.17	1.030	12
	H 2	137.33	29.227	15
	minggu 1	147.40	26.273	15
	minggu ke 2	152.47	23.877	15
	minggu ke 3	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).

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: dayalekat

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	40007.250 <sup>a</sup>	19	2105.645	339.620	.000
Intercept	1327593.750	1	1327593.750	214128.024	.000
Formula	35757.167	4	8939.292	1441.821	.000
Waktu	3418.183	3	1139.394	183.773	.000
formula * waktu	831.900	12	69.325	11.181	.000
Error	248.000	40	6.200		
Total	1367849.000	60			
Corrected Total	40255.250	59			

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

**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
minggu ke 1	147.400	.643	146.101	148.699
minggu ke 2	152.467	.643	151.167	153.766
minggu ke 3	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

### 1. Waktu Penyimpanan

#### Homogeneous Subsets

**Dayalekat**

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

Waktu	N	Subset			
		1	2	3	4
hari ke 2	15	137.33			
minggu ke 1	15		147.40		
minggu ke 2	15			152.47	
minggu ke 3	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.

### 2. Formula

#### Homogeneous Subsets

**Dayalekat**

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

Formula	N	Subset				
		1	2	3	4	5
F 2	12	119.58				
F 3	12		130.58			
F 4	12			139.83		
F 5	12				168.58	
F 6	12					185.17
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

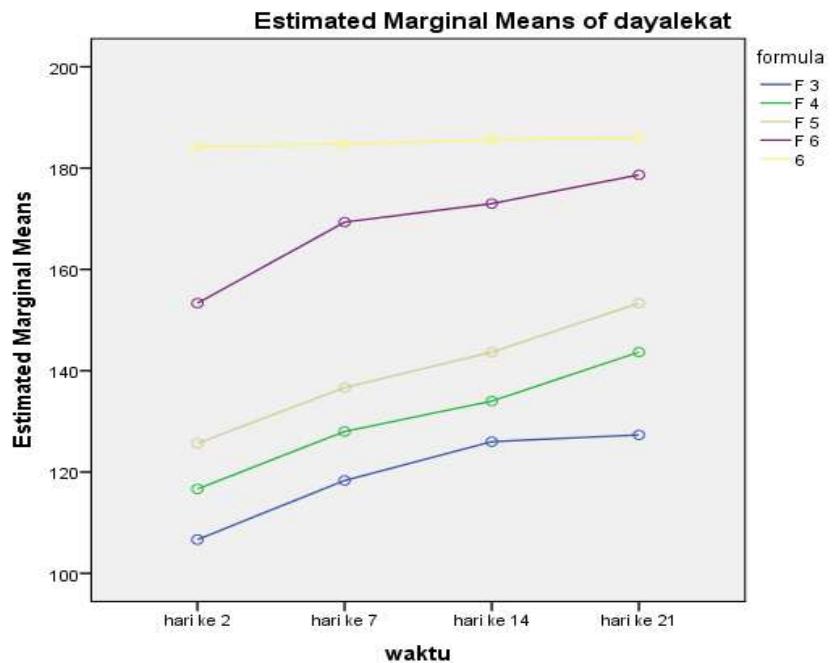
Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 6.200.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12.000.

b. Alpha = .05.

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

**Profil plots.**

**Lampiran 17. Diameter infeksi pada punggung kelinci hari ke-0 sampai dengan hari ke-22.**

krim	kelinci	engamatkan panjang luka infeksi bakteri S.aureus selama pengobatan (cm)									
		H <sub>2</sub>	H <sub>4</sub>	H <sub>6</sub>	H <sub>8</sub>	H <sub>10</sub>	H <sub>12</sub>	H <sub>14</sub>	H <sub>16</sub>	H <sub>18</sub>	H <sub>20</sub>
formula I	I	1.2	1.1	1	0.8	0.6	0.5	0.4	0.3	0.2	0
	II	1.3	1.2	1	0.9	0.7	0.6	0.5	0.3	0.1	0
	III	1.3	1.1	1	0.8	0.7	0.6	0.4	0.3	0.1	0
	IV	1.3	1.2	1	0.9	0.7	0.6	0.5	0.3	0.1	0
	V	1.2	1.1	0.9	0.8	0.7	0.5	0.4	0.2	0	0
	VI	1.3	1.1	0.9	0.8	0.7	0.6	0.5	0.2	0	0
rata-rata		1.27	1.13	0.97	0.83	0.68	0.57	0.45	0.27	0.08	0
formula II	kelinci	engamatkan panjang luka infeksi bakteri S.aureus selama pengobatan (cm)									
		H <sub>2</sub>	H <sub>4</sub>	H <sub>6</sub>	H <sub>8</sub>	H <sub>10</sub>	H <sub>12</sub>	H <sub>14</sub>	H <sub>16</sub>	H <sub>18</sub>	H <sub>20</sub>
	I	1.3	1.2	1	0.8	0.6	0.6	0.4	0.3	0.2	0
	II	1.3	1.2	1	0.9	0.7	0.6	0.5	0.3	0.1	0
	III	1.2	1.1	1	0.8	0.7	0.6	0.4	0.3	0.1	0
	IV	1.3	1.2	1	0.9	0.7	0.6	0.5	0.2	0	0
rata-rata		1.25	1.18	0.97	0.83	0.67	0.55	0.42	0.22	0.07	
formula III	kelinci	engamatkan panjang luka infeksi bakteri S.aureus selama pengobatan (cm)									
		H <sub>2</sub>	H <sub>4</sub>	H <sub>6</sub>	H <sub>8</sub>	H <sub>10</sub>	H <sub>12</sub>	H <sub>14</sub>	H <sub>16</sub>	H <sub>18</sub>	H <sub>20</sub>
	I	1	0.8	0.6	0.4	0.2	0	0	0	0	0
	II	1	0.8	0.5	0.5	0.2	0	0	0	0	0
	III	1.1	0.9	0.7	0.5	0.2	0	0	0	0	0
	IV	1	0.8	0.6	0.3	0.2	0	0	0	0	0
rata-rata		1.03	0.83	0.62	0.43	0.23	0	0	0	0	0
formula IV	kelinci	engamatkan panjang luka infeksi bakteri S.aureus selama pengobatan (cm)									
		H <sub>2</sub>	H <sub>4</sub>	H <sub>6</sub>	H <sub>8</sub>	H <sub>10</sub>	H <sub>12</sub>	H <sub>14</sub>	H <sub>16</sub>	H <sub>18</sub>	H <sub>20</sub>
	I	1.1	0.8	0.5	0.3	0.1	0	0	0	0	0
	II	0.9	0.7	0.5	0.2	0.1	0	0	0	0	0
	III	0.9	0.7	0.4	0.2	0	0	0	0	0	0
	IV	0.9	0.7	0.5	0.3	0	0	0	0	0	0
rata-rata		0.97	0.73	0.47	0.25	0.05	0	0	0	0	0
formula V	kelinci	engamatkan panjang luka infeksi bakteri S.aureus selama pengobatan (cm)									
		H <sub>2</sub>	H <sub>4</sub>	H <sub>6</sub>	H <sub>8</sub>	H <sub>10</sub>	H <sub>12</sub>	H <sub>14</sub>	H <sub>16</sub>	H <sub>18</sub>	H <sub>20</sub>
	I	1	0.8	0.6	0.3	0	0	0	0	0	0
	II	1	0.8	0.4	0.3	0	0	0	0	0	0
	III	1.1	0.8	0.6	0.3	0	0	0	0	0	0
	IV	0.9	0.6	0.2	0	0	0	0	0	0	0
rata-rata		1.02	0.78	0.52	0.27	0.03	0	0	0	0	0
formula VI	kelinci	engamatkan panjang luka infeksi bakteri S.aureus selama pengobatan (cm)									
		H <sub>2</sub>	H <sub>4</sub>	H <sub>6</sub>	H <sub>8</sub>	H <sub>10</sub>	H <sub>12</sub>	H <sub>14</sub>	H <sub>16</sub>	H <sub>18</sub>	H <sub>20</sub>
	I	1	0.8	0.2	0	0	0	0	0	0	0
	II	0.9	0.6	0.2	0	0	0	0	0	0	0
	III	0.9	0.6	0.2	0	0	0	0	0	0	0
	IV	0.8	0.6	0.3	0	0	0	0	0	0	0
rata-rata		0.92	0.67	0.23	0.02	0	0	0	0	0	0



## Hasil SPSS Prosentase Penyembuhan Infeksi.

### NPar test.

#### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		prosentase penyembuhan kelinci
N		36
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	73.0661
	Std. Deviation	14.66160
	Absolute	.238
Most Extreme Differences	Positive	.166
	Negative	-.238
Kolmogorov-Smirnov Z		1.430
Asymp. Sig. (2-tailed)		.033

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Kesimpulan : data terdistribusi normal dengan nilai sig 0,33 (>0,05)

### ONEWAY.

#### ANOVA

prosentase penyembuhan kelinci

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7336.364	5	1467.273	234.98	.000
Within Groups	187.323	30	6.244		
Total	7523.687	35			

#### Multiple Comparisons

Dependent Variable: prosentase penyembuhan kelinci

Tukey HSD

(I) formula	(J) formula	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
F I (basis)	F II (sirsak)	-5.76000*	1.44270	.005	-10.1481	-1.3719
	F III (sirih)	-25.82333*	1.44270	.000	-30.2114	-21.4352
	F IV (kombinasi)	-31.95167*	1.44270	.000	-36.3398	-27.5636
	F V (kombinasi)	-31.92500*	1.44270	.000	-36.3131	-27.5369
	F VI (koombinasi)	-38.22667*	1.44270	.000	-42.6148	-33.8386
	F I (basis)	5.76000*	1.44270	.005	1.3719	10.1481
F II (sirsak)	F III (sirih)	-20.06333*	1.44270	.000	-24.4514	-15.6752
	F IV (kombinasi)	-26.19167*	1.44270	.000	-30.5798	-21.8036
	F V (kombinasi)	-26.16500*	1.44270	.000	-30.5531	-21.7769
	F VI (koombinasi)	-32.46667*	1.44270	.000	-36.8548	-28.0786
	F I (basis)	25.82333*	1.44270	.000	21.4352	30.2114
	F II (sirsak)	20.06333*	1.44270	.000	15.6752	24.4514
F III (sirih)	F IV (kombinasi)	-6.12833*	1.44270	.002	-10.5164	-1.7402
	F V (kombinasi)	-6.10167*	1.44270	.003	-10.4898	-1.7136
	F VI (koombinasi)	-12.40333*	1.44270	.000	-16.7914	-8.0152
	F I (basis)	31.95167*	1.44270	.000	27.5636	36.3398
	F II (sirsak)	26.19167*	1.44270	.000	21.8036	30.5798
	F III (sirih)	6.12833*	1.44270	.002	1.7402	10.5164
F IV (kombinasi)	F V (kombinasi)	.02667	1.44270	1.000	-4.3614	4.4148
	F VI (koombinasi)	-6.27500*	1.44270	.002	-10.6631	-1.8869

F V (kombinasi)	F I (basis) F II (sirsak) F III (sirih) F IV (kombinasi) F VI (koombinasi) F I (basis) F II (sirsak) F III (sirih) F IV (kombinasi) F V (kombinasi)	31.92500 <sup>*</sup> 26.16500 <sup>*</sup> 6.10167 <sup>*</sup> .02667 -6.30167 <sup>*</sup> 38.22667 <sup>*</sup> 32.46667 <sup>*</sup> 12.40333 <sup>*</sup> 6.27500 <sup>*</sup> 6.30167 <sup>*</sup>	1.44270 1.44270 1.44270 1.44270 1.44270 1.44270 1.44270 1.44270 1.44270 1.44270	.000 .000 .003 1.000 .002 .000 .000 .000 .002 .002	27.5369 21.7769 1.7136 -4.4148 -10.6898 33.8386 28.0786 8.0152 1.8869 1.9136	36.3131 30.5531 10.4898 4.3614 -1.9136 42.6148 36.8548 16.7914 10.6631 10.6898
--------------------	--	--	--	---	---	---

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

## Homogeneous Subsets

### prosentase penyembuhan kelinci

Tukey HSD<sup>a</sup>

Formula	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
F I (basis)	6	50.7850				
F II (sirsak)	6		56.5450			
F III (sirih)	6			76.6083		
F IV (kombinasi)	6				82.7100	
F V (kombinasi)	6					82.7367
F VI (koombinasi)	6					89.0117
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

Kesimpulan : pada uji tukey dapat dilihat memiliki perbedan tiap formula, Hasil uji menunjukkan FVI (kombinasi sirsak 12,5% dan sirih 10 %) memiliki aktifitas yang paling efektif dibandingkan F II (sirsak 25%), FIII (sirih 10%) , FIV (kombinasi sirsak 12,5% (sirih 5%), dan FV (kombinasi sirsak 25% sirih 5%)

### Lampiran 19. Formula dan 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°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°C) selama 15 menit. dan dituangkan dalam cawan petri + kalium telurit 1% 3-5 tetes pH 7,4.

#### Penimbangan bahan :

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

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