

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Determinasi tanaman trembesi

Determinasi tanaman pada penelitian ini dilakukan di B2P2TOOT (Balai Besar Penelitian Dan Pengembangan Tanaman Obat Tradisional) Tawangmangu. Determinasi tanaman dilakukan untuk mengetahui kebenaran sampel tanaman, menghindari terjadinya kesalahan dalam pengambilan bahan, serta menghindari kemungkinan bercampurnya bahan dengan tanaman lain. Berdasarkan hasil determinasi dapat dipastikan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman trembesi (*Samanea saman* (Jacq.) Merr). Hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Pengambilan bahan

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun trembesi yang diperoleh dari Desa Jati Grombok, Jambangan, Mondokan, Sragen, Jawa Tengah pada Februari 2019. Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta.

3. Pemilihan dan pengeringan daun trembesi

Daun trembesi yang dipilih yaitu daun trembesi yang berwarna hijau, segar, tidak rusak, terbebas dari hama. Daun trembesi yang telah dipilih kemudian dicuci bersih pada air mengalir untuk menghilangkan kotoran atau zat lain yang tidak dibutuhkan. Bobot daun segar yang digunakan dalam penelitian ini 7300 gram. Bobot kering yang diperoleh setelah dioven pada suhu 50⁰C selama kurang lebih 1 hari adalah 1200 gram. Hasil rendemen yang diperoleh adalah 16 %.

Tabel 3. Hasil rendemen simplisia kering daun trembesi

Berat basah (gram)	Berat kering (gram)	Persentase rendemen %
7300	1200	16

4. Pembuatan serbuk daun trembesi

Daun trembesi yang sudah kering kemudian diserbuk dengan

menggunakan mesin penggiling. Serbuk daun trembesi kemudian diayak dengan ayakan no. 40. Tujuan dilakukan penyerbukan yaitu untuk memperluas permukaan simplisia sehingga memudahkan simplisia untuk larut dalam zat penyari. Hasil dari penyerbukan simplisia sebanyak 910 gram. Tujuan dilakukan pengayakan agar didapatkan ukuran serbuk yang seragam sehingga pelepasan zat aktifnya merata.

Tabel 4. Hasil rendemen serbuk terhadap berat daun kering

Berat kering (gram)	Berat serbuk (gram)	Persentase rendemen (%)
1200	910	75

5. Hasil identifikasi serbuk daun trembesi

5.1 Hasil pemeriksaan organoleptis serbuk. Pemeriksaan organoleptis serbuk berupa pemeriksaan bentuk, warna, bau dan rasa dari serbuk daun trembesi. Hasil organoleptis daun pacar kuku dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil pemeriksaan organoleptis serbuk daun trembesi

Jenis pemeriksaan	Hasil
Bentuk	Serbuk
Warna	Hijau
Bau	Khas
Rasa	Pahit

5.2 Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun trembesi.

Penetapan susut pengeringan serbuk daun trembesi menggunakan alat *moisture balance*. Hasil susut pengeringan mengukur kadar bahan yang menguap suatu zat yaitu bahan volatil dan air. Kadar air yang tinggi dapat menyebabkan tumbuhnya jamur dan organisme lain. Nilai untuk susut pengeringan jika tidak dinyatakan lain adalah kurang dari 10%. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun trembesi dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun trembesi

Serbuk	Penimbangan (gram)	Susut pengeringan %
1	2,0	5,5
2	2,0	5,5
3	2,0	6,0
Rata-rata		5,67

6. Pembuatan ekstrak etanol daun trembesi

Pembuatan ekstrak etanol daun trembesi menggunakan metode maserasi. Merasasi dipilih karena metodenya cukup sederhana dan cocok digunakan untuk menarik zat aktif yang tidak tahan pemanasan. Pelarut yang digunakan adalah etanol 96%. Serbuk daun trembesi dimasukan dalam botol maserasi sebanyak 500 gram ditambah 500ml etanol 96% rendam pada 6 jam pertama dengan sesekali dilakukan penggojokan setelah itu diamkan selama 18 jam dan disaring. Saring hasil maserat menggunakan kain flannel. Ampas dari hasil penyaringan dimasukan dalam botol maserasi kembali dengan ditambah setengah bagian pelarut yang pertama dan dilakukan hal yang sama. Hasil maserasi yang sudah didapat kemudian diuapkan dengan alat *rotary evaporator* dengan suhu 50°C sampai diperoleh ekstrak kental. Ekstrak yang diperoleh sebanyak 60,32 gram.

Tabel 7. Rendemen ekstrak etanol daun trembesi

Serbuk daun trembesi (gram)	Ekstrak kental (gram)	Rendemen (%)
500	60,32	12,06

7. Penetapan susut pengeringan ekstrak etanol daun trembesi.

Penetapan susut pengeringan ekstrak etanol daun trembesi dilakukan menggunakan alat *moisture balance*. Nilai untuk susut pengeringan jika tidak dinyatakan lain adalah kurang dari 10% hal tersebut bertujuan untuk mengurangi kemungkinan kerusakan esktrak akibat kelembapan yang tinggi dapat memicu timbulnya mikroba. Hasil susut pengeringan mengukur kadar bahan yang menguap suatu zat yaitu bahan volatil dan air. Data hasil penetapan susut pengeringan ekstrak etanol daun trembesi dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Hasil penetapan susut pengeringan ekstrak etanol daun trembesi

Ekstrak	Penimbangan (gram)	Susut pengeringan %
1	2,0	3,4
2	2,0	3,4
3	2,0	3,5
Rata-rata		3,43

8. Identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol daun trembesi

Kandungan kimia yang diidentifikasi pada penelitian ini adalah alkaloid, flavonoid, saponin, fenol, dan terpenoid. Berdasarkan hasil uji reaksi tabung,

ekstrak etanol daun trembesi positif mengandung alkaloid, flavonoid, saponin fenol, dan terpenoid. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol daun trembesi dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 9. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol daun pacar kuku

NO.	Identifikasi	Hasil Pustaka (Depkes RI 1995)	Hasil Uji
1.	Alkaloid Ekstrak kental + HCl 2N + 9 ml aquadest + reagen Mayer	Endapan putih atau kuning	Endapan kuning
2.	Flavonoid Ekstrak kental + air panas 10ml saring ambil 5ml + 0,1 gr Mg + 5 tetes HCl pekat	Berubah warna merah atau jingga	Berubah warna jingga
3.	Saponin Ekstrak kental + 10 ml air panas saring 5ml , didinginkan lalu di kocok kuat + 1 tetes HCl 2N	Adanya busa setinggi 1 cm yang stabil	Adanya busa setinggi 1 cm yang stabil
4.	Fenol Ekstrak kental + FeCl ₃	Terbentuk warna ungu kehitaman	Terbentuk warna kehitaman
5.	Terpenoid 5ml ekstrak yg sudah disaring + Liebermann Burcahrd	Terbentuk warna merah	Terbentuk warna merah

9. Hasil pengujian sifat fisik sediaan gel ekstrak etanol daun trembesi

9.1 Hasil uji organoleptis. Uji sediaan organoleptis dilakukan untuk mendeskripsikan warna, bau, serta konsistensi dari sediaan gel. Sediaan gel ekstrak etanol daun trembesi berwarna hijau pekat. Sediaan gel yang tidak ditambahkan ekstrak terlihat bening untuk sediaan yang digunakan sebagai kontrol negatif sedangkan sediaan untuk kontrol positif terlihat warnanya sedikit keruh. Bau yang ditimbulkan pada sediaan gel yang bercampur ekstrak berbau khas ekstrak daun trembesi, sedangkan sediaan yang tidak bercampur ekstrak tidak berbau. Konsistensi pada gel yang bercampur ekstrak lebih kental

dibandingkan dengan gel yang tidak bercampur dengan ekstrak. Gel yang sebagai kontrol negatif dan positif tidak mengandung ekstrak konsistensinya sedikit encer. Semakin banyak esktrak yang dicampurkan maka sediaan gel akan semakin kental.

Tabel 10. Hasil uji organolpetis

Pengamatan organoleptis	Formula	Hari ke-	
		1	21
Konsistensi	I	Sedikit encer	Sedikit encer
	II	Sedikit encer	Sedikit encer
	III	Kental	Kental
	IV	Kental	Kental
	V	Kental	Kental
Warna	I	Bening	Bening
	II	Sedikit keruh	Sedikit keruh
	III	Hijau pekat	Hijau pekat
	IV	Hijau pekat	Hijau pekat
	V	Hijau pekat	Hijau pekat
Bau	I	Tidak berbau	Tidak berbau
	II	Tidak berbau	Tidak berbau
	III	Bau khas daun trembesi	Bau khas daun trembesi
	IV	Bau khas daun trembesi	Bau khas daun trembesi
	V	Bau khas daun trembesi	Bau khas daun trembesi

Keterangan :

- Formula I : gel basis HPMC
- Formula II : gel dengan gentamisin
- Formula III : gel dengan ekstrak daun trembesi 2 gram
- Formula IV : gel dengan ekstrak daun trembesi 4 gram
- Formula V : gel dengan ekstrak daun trembesi 6 gram

Pengamatan organoleptis sediaan gel ekstrak etanol daun trembesi dilihat pada hari ke 1 sampai 21 tidak terdapat perubahan bau, warna, dan konsistensi. Sediaan gel ekstrak etanol menunjukkan hasil yang cukup stabil jika dinilai dari segi fisik. Formula I dan II sedikit encer dikarenakan tidak adanya penambahan ekstrak pada sediaan tersebut, semakin banyak ekstrak yang ditambahkan maka sediaan gel akan semakin kental.

9.2 Hasil uji homogenitas. Uji Homogenitas dilakukan untuk mengetahui sediaan gel dengan ekstrak etanol daun trembesi dapat bercampur

secara homogen agar dapat memberikan efek yang maksimal sebagai antibakteri. Uji homogenitas dilakukan pada seluruh sediaan dari formula I sampai V dengan cara mengoleskan sediaan pada objek glass. Formula I sampai V dikatakan homogen jika tidak terdapat partikel-partikel yang menggumpal serta memiliki warna yang merata pada seluruh bagian gel saat diamati pada objek glass. Pengujian ini dilakukan pada hari pertama dan hari ke 21.

Tabel 11. Hasil uji homogenitas

Formula	Hari ke 1	Hari ke 21
I	Homogen	Homogen
II	Homogen	Homogen
III	Homogen	Homogen
IV	Homogen	Homogen
V	Homogen	Homogen

Keterangan :

Formula I : kontrol negatif

Formula II : kontrol positif (gentamisin)

Formula III : gel dengan ekstrak daun trembesi 2 gram

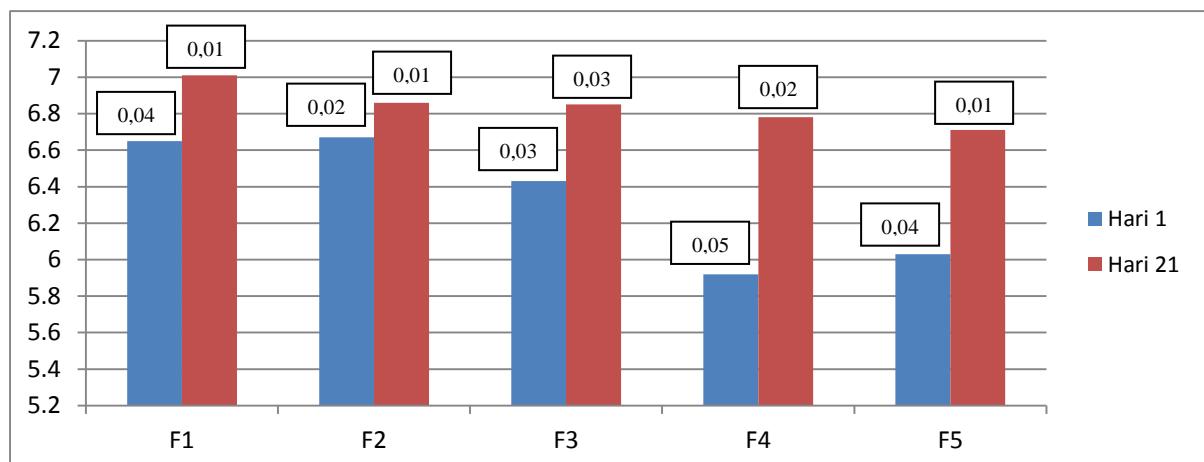
Formula IV : gel dengan ekstrak daun trembesi 4 gram

Formula V : gel dengan ekstrak daun trembesi 6 gram

9.3 Hasil uji pH. Uji pH dilakukan untuk mengetahui kadar pH sediaan gel aman atau tidak dipakai pada kulit. Range pH untuk kulit 4,5-7,0 (Novi 2013). Uji pH sediaan gel dilakukan dengan pH meter pada hari ke 1 dan ke 21.

Tabel 12. Hasil uji pH

Waktu	pH				
	Formula I	Formula II	Formula III	Formula IV	Formula V
Hari 1	6,95±0,04	6,67±0,02	6,43±0,03	5,92±0,05	6,03±0,04
Hari 21	7,01±0,01	6,86±0,01	6,85±0,03	6,78±0,02	6,71±0,01



Keterangan :

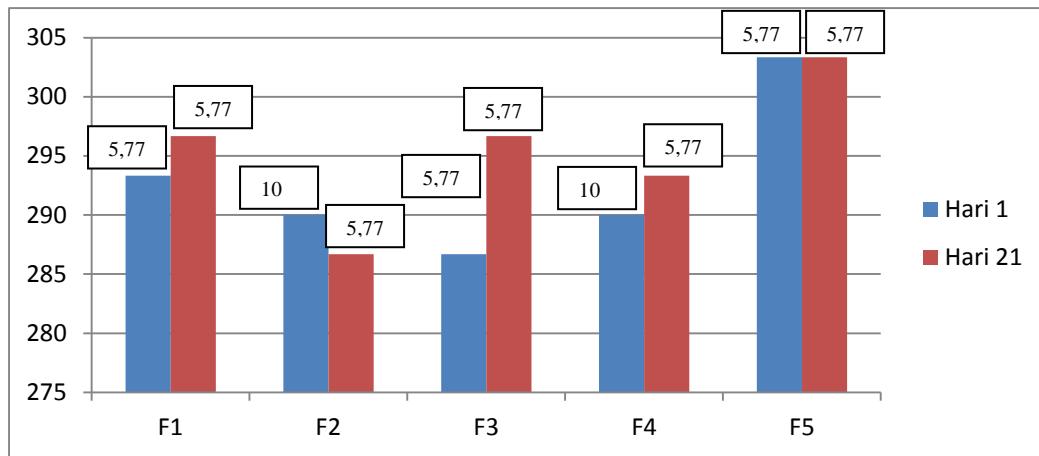
- Formula I : kontrol negatif
 Formula II : kontrol positif (gentamisin)
 Formula III : gel dengan ekstrak daun trembesi 2 gram
 Formula IV : gel dengan ekstrak daun trembesi 4 gram
 Formula V : gel dengan ekstrak daun trembesi 6 gram

Hasil uji pH pada hari ke 21 menunjukkan adanya kenaikan pH dari hari ke 1. Faktor yang mempengaruhi kenaikan pH pada sediaan gel berupa faktor suhu dan penyimpanan. Hasil penelitian ini masih memenuhi persyaratan pH pada kulit. Data yang diperoleh dianalisis dengan SPSS. Pada tes *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh nilai sig $0,81 > 0,05$ dan *Levene's test* sebesar $0,62 > 0,05$ sehingga dihasilkan data terdistribusi normal dan homogen. Hasil menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada formula 1, 2, dan 3 namun tidak terdapat perbedaan signifikan pada formula 4 dan 5.

9.4 Hasil uji viskositas. Viskositas harus dapat membuat sediaan mudah untuk dioleskan dan dapat menempel pada kulit. Viskositas gel yang terlalu encer akan menurunkan daya lekat gel pada kulit sehingga efektivitas penghantaran zat aktif akan berkurang, sedangkan viskositas gel yang terlalu kental akan memberikan rasa ketidak nyamanan saat dioleskan pada kulit. Hasil uji viskositas sediaan gel dapat dilihat pada tabel 13.

Tabel 13. Hasil uji viskositas

Pemeriksaan Waktu	Viskositas (d Pas) ± SD				
	Formula I	Formula II	Formula III	Formula IV	Formula V
Hari ke 1	293,33± 5,77	290 ± 10	286,67 ± 5,77	290 ± 10	303,33 ± 5,77
Hari ke 21	296,67± 5,77	293,33± 5,77	296,67± 5,77	293,33± 5,77	296,67 ± 5,77



Keterangan :

- Formula I : kontrol negatif
- Formula II : kontrol positif (gentamisin)
- Formula III : gel dengan ekstrak daun trembesi 2 gram
- Formula IV : gel dengan ekstrak daun trembesi 4 gram
- Formula V : gel dengan ekstrak daun trembesi 6 gram

Viskositas pada sediaan gel berbeda-beda. Hasil viskositas menunjukkan adanya kenaikan pada hari ke 21. Viskositas sediaan dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya adalah faktor pencampuran atau pengadukan saat proses pembuatan (Ansel 1989). Adanya perubahan nilai viskositas yang terjadi pada seluruh formula diakibatkan oleh adanya gelembung udara yang terdapat pada sediaan. Keberadaan gelembung udara yang semakin banyak dapat meningkatkan nilai viskositas. Pengaruh suhu di tempat penyimpanan yang dapat berubah-ubah dapat mengakibatkan menurunnya viskositas dikarenakan gelembung udara dapat pecah (Rust 2002). Viskositas suatu sediaan berpengaruh pada penyebarannya. Semakin rendah viskositas maka penyebarannya semakin meningkat sehingga kontak antara obat dengan kulit semakin luas dan semakin tinggi viskositasnya penyebarannya akan semakin menurun.

Data yang diperoleh dianalisis dengan SPSS. Pada tes *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh nilai *sig* $0,81 > 0,05$ dan *Levene's test* sebesar $0,975 > 0,05$ sehingga dihasilkan data terdistribusi normal dan homogen. Hasil menunjukkan tidak terdapat perbedaan signifikan pada seluruh formula. Maka dapat

disimpulkan data terdistribusi normal, kemudian dilanjutkan dengan analisis uji anova dua jalan.

9.5 Hasil uji daya sebar. Uji daya sebar dilakukan untuk mengetahui kemampuan sediaan gel menyebar pada permukaan kulit. Sediaan gel yang baik adalah sediaan gel yang memiliki daya sebar yang luas, mudah dicuci, tidak lengket, dan dapat diabsorbsi oleh kulit. Hasil uji daya sebar dapat dilihat pada tabel 14.

Tabel 14. Hasil uji daya sebar

Formula	Beban (gram)	Diameter penyebaran (cm)	
		Hari 1	Hari 21
Formula I	49,3192	3,27 ± 0,19	2,95 ± 0,03
	99,3192	3,73 ± 0,21	3,36 ± 0,02
	149,3192	4,01 ± 0,16	3,55 ± 0,15
	199,3192	4,24 ± 0,18	4,01 ± 0,12
Formula II	49,3192	3,42 ± 0,23	3,18 ± 0,09
	99,3192	3,80 ± 0,28	3,56 ± 0,12
	149,3192	4,13 ± 0,28	3,76 ± 0,12
	199,3192	4,38 ± 0,26	4,06 ± 0,12
Formula III	49,3192	3,33 ± 0,18	3,16 ± 0,14
	99,3192	3,75 ± 0,23	3,57 ± 0,05
	149,3192	4,05 ± 0,18	3,95 ± 0,09
	199,3192	4,29 ± 0,22	4,06 ± 0,02
Formula IV	49,3192	3,25 ± 0,04	3,14 ± 0,09
	99,3192	3,89 ± 0,05	3,57 ± 0,05
	149,3192	4,12 ± 0,08	3,74 ± 0,01
	199,3192	4,40 ± 0,08	3,95 ± 0,03
Formula V	49,3192	3,64 ± 0,18	3,18 ± 0,10
	99,3192	4,11 ± 0,21	3,60 ± 0,03
	149,3192	4,48 ± 0,21	3,98 ± 0,07
	199,3192	4,80 ± 0,18	4,2 ± 0,1

Keterangan :

Formula I : kontrol negatif

Formula II : kontrol positif (gentamisin)

Formula III : gel dengan ekstrak daun trembesi 2 gram

Formula IV : gel dengan ekstrak daun trembesi 4 gram

Formula V : gel dengan ekstrak daun trembesi 6 gram

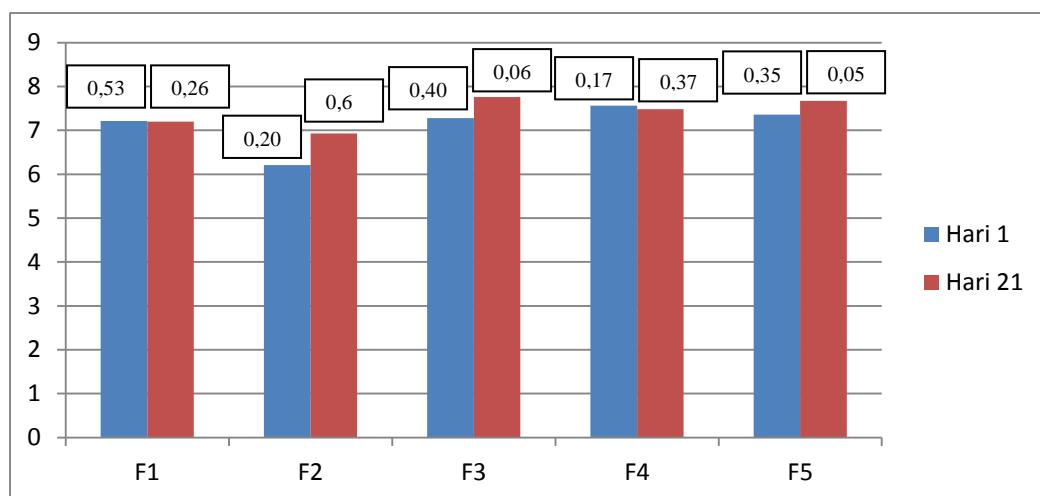
Hasil uji daya sebar pada sediaan gel dengan atau tanpa ekstrak hasilnya bervariasi. Daya sebar berbanding terbalik dengan viskositas, semakin rendah nilai daya sebar maka viskositasnya semakin tinggi begitu pula sebaliknya, semakin tinggi nilai daya sebar maka viskositasnya semakin rendah. Data yang diperoleh dianalisis dengan SPSS. Pada tes *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh nilai

sig $0,871 > 0,05$ dan *Levene's test* sebesar $0,999 > 0,05$ sehingga dihasilkan data terdistribusi normal dan homogen. Hasil menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan pada formula sediaan gel.

9.6 Uji daya lekat. Uji daya lekat pada sediaan gel dilakukan untuk mengetahui kemampuan sediaan melekat pada permukaan kulit. Gel yang memiliki daya lekat yang tinggi akan melekat lama pada kulit. Hasil uji daya lekat dapat dilihat pada tabel 15.

Tabel 15. Hasil uji daya lekat

Waktu pengujian	Daya lekat (detik)				
	Formula I	Formula II	Formula III	Formula IV	Formula V
Hari ke 1	$7,21 \pm 0,53$	$6,21 \pm 0,20$	$7,28 \pm 0,40$	$7,56 \pm 0,17$	$7,36 \pm 0,35$
Hari ke 21	$7,2 \pm 0,26$	$6,93 \pm 0,6$	$7,76 \pm 0,06$	$7,48 \pm 0,37$	$7,67 \pm 0,05$



Keterangan :

- Formula I : kontrol negatif
- Formula II : kontrol positif (gentamisin)
- Formula III : gel dengan ekstrak daun trembesi 2 gram
- Formula IV : gel dengan ekstrak daun trembesi 4 gram
- Formula V : gel dengan ekstrak daun trembesi 6 gram

Hasil uji daya lekat pada hari ke 1 dan ke 21 menunjukkan adanya beberapa kenaikan daya lekat pada hari ke 21. Nilai uji viskositas berbanding lurus dengan uji daya lekat. Hasil uji daya lekat yang diperoleh dipengaruhi dari viskositasnya. Jika viskositas tinggi maka daya lekat juga akan tinggi namun jika viskositasnya rendah daya lekat juga rendah. Proses pembuatan juga dapat mempengaruhi hasil daya lekat dikarenakan banyak atau sedikitnya gelembung

udara yang ada. Data yang diperoleh dianalisis dengan SPSS. Pada tes *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh nilai sig $0,693 > 0,05$ dan *Levene's test* sebesar $0,012 > 0,05$ sehingga dihasilkan data terdistribusi normal dan homogen. Hasil menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan pada formula sediaan gel.

10. Hasil pengujian stabilitas gel

Uji stabilitas gel dilakukan untuk mengetahui stabilitas sedian gel yang diberikan perlakuan dengan suhu yang berbeda-beda. Metode pengujian yang digunakan adalah metode *freeze thaw*, yaitu dengan menyimpan sediaan pada suhu 4°C selama 48 jam kemudian dipindahkan pada suhu 40°C selama 48 jam. Perpindahan dari suhu 4°C menuju 40°C dihitung satu siklus. Uji stabilitas ini dilakukan sebanyak 5 siklus ; setelah itu dilakukan kembali uji organoleptis, pH, dan viskositas gel.

10.1 Hasil uji organoleptis. Pengujian organoleptis dilakukan dengan cara pengamatan secara visual. Pengamatan dilakukan ada tidaknya perubahan dan pemisahan fase yang terjadi pada sediaan gel setelah dilakukan uji *freeze thaw*. Hasil uji stabilitas pada organoleptis sediaan gel dapat dilihat pada tabel 16.

Tabel 16. Hasil uji organoleptis stabilitas gel

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

Keterangan :

- Formula I : kontrol negatif
- Formula II : kontrol positif
- Formula III : gel dengan ekstrak daun trembesi 2 gram
- Formula IV : gel dengan ekstrak daun trembesi 4 gram
- Formula V : gel dengan ekstrak daun trembesi 6 gram

Hasil pengamatan visual yang dilakukan menunjukkan sediaan gel formula 1, 2, 3, 4, dan 5 tidak terjadi pemisahan fase dan dapat dikatakan bahwa sediaan gel tersebut stabil.

10.2 Hasil uji pH. Uji stabilitas selanjutnya dilakukan pada pengujian pH. Uji pH dilakukan untuk mengetahui adanya perubahan pH pada sediaan gel

saat sebelum dan sesudah dilakukan metode *freeze thaw*. Hasil uji stabilitas pada bagian pH sediaan gel dapat dilihat pada tabel 17.

Tabel 17. Hasil uji stabilitas pada pH sediaan gel

Pemeriksaan Waku	pH				
	Formula I	Formula II	Formula III	Formula IV	Formula V
Sebelum <i>freeze thaw</i>	6.95	6.67	6.43	5.92	6.03
Sesudah <i>freeze thaw</i>	7.03	6.73	6.97	6.79	6.72

Keterangan :

- Formula I : kontrol negatif
- Formula II : kontrol positif
- Formula III : gel dengan ekstrak daun trembesi 2 gram
- Formula IV : gel dengan ekstrak daun trembesi 4 gram
- Formula V : gel dengan ekstrak daun trembesi 6 gram

Hasil pengujian pH pada uji stabilitas sediaan gel dengan *freeze thaw* terlihat adanya kenaikan. Kenaikan yang terjadi tidak begitu signifikan maka dapat dikatakan sediaan gel masih tergolong stabil.

10.3 Hasil uji viskositas. Uji stabilitas selanjutnya yaitu pengujian viskositas terhadap sediaan gel dengan metode *freeze thaw*. Uji viskositas dilakukan untuk mengetahui tingkat kestabilan viskositas gel. Hasil pengujian viskositas gel dapat dilihat pada tabel 18.

Tabel 18. Hasil uji stabilitas pada viskositas sediaan gel

Pemeriksaan Waku	Viskositas				
	Formula I	Formula II	Formula III	Formula IV	Formula V
Sebelum <i>freeze thaw</i>	293.33	290	286.67	290	303.33
Sesudah <i>freeze thaw</i>	283.33	290	296.67	293.33	293.33

Keterangan :

- Formula I : kontrol negatif
- Formula II : kontrol positif
- Formula III : gel dengan ekstrak daun trembesi 2 gram
- Formula IV : gel dengan ekstrak daun trembesi 4 gram
- Formula V : gel dengan ekstrak daun trembesi 6 gram

Hasil pengamatan uji stabilitas pada viskositas sediaan gel sesudah dilakukan *freeze thaw* rata-rata mengalami kenaikan. Kenaikan viskositas tidak terlalu jauh dari sebelum dilakukan *freeze thaw*, maka dapat dikatakan sediaan gel tergolong stabil pada uji viskositas.

11. Hasil pembuatan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus*

Biakan murni bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 diambil 2 ose kemudian dimasukkan ke tabung reaksi steril yang berisi media *Brain Heart Infusion* (BHI) dan diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37⁰C. Kekeruhan hasil suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 disesuaikan dengan kekeruhan standar *Mc Farland* 0,5 (1,5x10⁸cfu/mL). Tujuan di sesuaikannya suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan standar Mc Farland 0,5 yaitu agar jumlah bakteri yang digunakan sama selama penelitian. Gambar hasil suspensi bakteri dapat dilihat pada lampiran 7.

12. Hasil identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

12.1 Hasil identifikasi bakteri dengan media VJA. Identifikasi bakteri dilakukan untuk memastikan bahwa bakteri yang digunakan selama penelitian adalah benar. Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang ditumbuhkan pada media *Vogel Johnson Agar* (VJA) yang berisi kalium telurit 1% sebanyak 3 tetes pada cawan petri diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37⁰C. Hasil pengujian menunjukkan koloni berwarna hitam dan medium disekitar koloni berwarna kuning. Kemampuan *Staphylococcus aureus* mereduksi kalium tellurit menjadi metalik tellurium menyebabkan koloni berwarna hitam. *Staphylococcus aureus* juga dapat memfermentasi manitol menjadi suasana asam dan indikator fenol red sehingga medium disekitar koloni berwarna kuning. (Jawetz *et al* 2007). Gambar hasilidentifikasi bakteri dengan media VJA dapat dilihat pada lampiran 7.

12.2 Hasil identifikasi morfologi secara pewarnaan Gram.

Pewarnaan Gram bertujuan untuk melihat bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 termasuk bakteri Gram positif atau Gram negatif dan mengetahui kebenaran bakteri yang digunakan. Hasil pewarnaan Gram berwarna ungu menunjukkan bahwa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 termasuk bakteri Gram positif. Bakteri Gram positif memiliki peptidoglikan yang lebih tebal dari pada Gram negatif, sehingga pada pengecatan Gram *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat mempertahankan warna violet dari Gram A (Kristal violet). Pengamatan morfologi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dilakukan

dengan mikroskop. Hasil yang terlihat pada mikroskop menunjukkan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 berbentuk bulat menggerombol seperti anggur dan berwarna ungu. Gambar bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada pewarnaan Gram dapat dilihat pada lampiran 7.

12.3 Hasil identifikasi fisiologi secara biokimia. Identifikasi fisiologi secara biokimia ada dua yaitu menggunakan uji katalase dan uji koagulase. Hasil positif uji katalase ditandai dengan adanya gelembung udara yang terlihat pada tabung reaksi. *Staphylococcus aureus* mempunyai enzim katalase, pada penambahan H₂O₂ akan terurai menjadi H₂O dan O₂, hal ini yang menyebabkan adanya gelembung udara. Katalase merupakan enzim yang mengkatalisa penguraian hidrogen peroksida menjadi H₂O dan O₂. Hidrogen peroksida bersifat toksik terhadap sel karena bahan ini menginaktifkan enzim dalam sel. Hidrogen peroksida terbentuk sewaktu metabolisme aerob, sehingga mikroorganisme yang tumbuh dalam lingkungan aerob pasti menguraikan bahan tersebut (Lay 1994). Hasil uji katalase dapat dilihat pada lampiran 7.

Uji koagulase dilakukan dengan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Uji koagulase dilakukan menggunakan tabung steril yang sudah diisi suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 sebanyak 5 ml dan ditambahkan plasma darah kelinci sebanyak 0,5 ml. Inkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Hal ini dimaksudkan untuk melihat koagulan yang terbentuk secara padat atau solid serta tidak jatuh apabila tabung dibalik dan dinyatakan positif bahwa bakteri tersebut adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Hasil uji koagulase dapat dilihat pada lampiran 7.

13. Hasil pengujian secara *in vivo* dan pengamatan kesembuhan

Pengujian secara *in vivo* dilakukan pada kelinci *New Zealand* berkelamin jantan dengan usia ± 3 bulan, dan berat 2 kg sebanyak 5 ekor. Kelinci jantan dibandingkan dengan kelinci betina memiliki daya tahan tubuh yang lebih kuat. Kelinci berjenis *New Zealand* lebih sensitif dan bagus untuk pengobatan dermal. Kelinci dengan usia 3 bulan masih tergolong muda dan mampu meregenerasi sel lebih cepat sehingga dapat berpengaruh pada penyembuhan yang lebih baik. Penggunaan kelinci sebanyak 5 ekor bertujuan untuk membuktikan efektivitas

sediaan gel ekstrak etanol daun trembesi memang efektif dapat menyembuhkan punggung kelinci yang terinfeksi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada lokasi yang berbeda. Kelinci diaklimatisasi dengan lingkungan tempat penelitian selama 5 hari supaya terbiasa dengan lingkungan dan perlakuan baru. Setelah diaklimatisasi bulu punggung kelinci dicukur dan dibagi 5 lokasi. Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* diinjeksikan secara subkutan sebanyak 0,2 ml (0,3 x 10⁸ cfu/0,2 ml) pada punggung kelinci. Kelinci diamati setelah diinjeksi bakteri selama 48 jam untuk melihat adanya eritema, edema atau bahkan pus. Hasil yang diperoleh setelah 48 jam didapati tidak ada eritema dan edema pada punggung kelinci, namun terdapat pus pada setiap punggung yang telah diinjeksikan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Setelah dilakukan injeksi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara sub kutan seharusnya ditutup dengan kassa steril selama 48 jam supaya terhindar dari bakteri lain yang dapat mengontaminasi punggung kelinci yang diinjeksi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Sediaan gel diberikan setelah muncul pus pada daerah infeksi dan dioleskan sehari 2x sebanyak 0,35 gram sampai sembuh. Ada 5 sediaan gel yang digunakan sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Formula 1 sebagai kontrol negatif yang mengandung basis gel yaitu HPMC. Formula 2 sebagai kontrol positif berupa sediaan gel yang ditambahkan zat aktif gentamisin 0,1%. Formula 3 yaitu gel dengan ekstrak etanol daun trembesi konsentrasi 2%. Formula 4 sediaan gel dengan ekstrak etanol daun trembesi konsentrasi 4%. Formula 5 yaitu sediaan gel dengan ekstrak etanol daun trembesi dengan konsentrasi 6%. Kelima formula sedian gel tersebut yang paling efektif sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 adalah sediaan gel ke 5 yang mengandung ekstrak etanol paling tinggi. Hasil uji aktifitas antibakteri gel ekstrak etanol daun trembesi dapat dilihat pada tabel 19.

Tabel 19. Hasil uji aktivitas antibakteri

Kelinci	Lama penyembuhan kelinci (hari)				
	Formula I	Formula II	Formula III	Formula IV	Formula V
1	25	16	20	18	15
2	23	17	20	18	16
3	25	17	19	18	16
4	24	17	21	19	15
5	23	17	20	18	15
Rata-rata	24	17	20	18	15

Keterangan :

Formula I : kontrol negatif

Formula II : kontrol positif (gentamisin)

Formula III : gel dengan ekstrak daun trembesi 2 gram

Formula IV : gel dengan ekstrak daun trembesi 4 gram

Formula V : gel dengan ekstrak daun trembesi 6 gram

Hasil pengujian aktifitas antibakteri secara jelas dapat dilihat pada lampiran 9 dan 10. Gel ekstrak etanol daun trembesi diaplikasikan pada punggung kelinci yang terinfeksi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menghasilkan efek yang baik. Terbukti ketiga konsentrasi sediaan gel ekstrak etanol daun trembesi dapat menyembuhkan infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan menggunakan konsentrasi yang kecil. Konsentrasi terkecil dalam sediaan gel ekstrak etanol daun trembesi memiliki waktu penyembuhan yang paling lama. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak semakin tinggi efektivitasnya dalam membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Pengamatan kesembuhan dilihat dari munculnya pus sampai hilang dan dikatakan sembuh dengan hilangnya bakteri dengan pengujian pada media VJA. Ketiga gel yang mengandung ekstrak etanol daun trembesi menunjukkan hasil penyembuhan tercepat pada konsentrasi 6% yaitu pada formula ke 5. Sediaan formula ke 5 dengan konsentrasi 6% memiliki kandungan flavonoid yang lebih besar sehingga terbukti memberikan efek antibakteri yang paling baik. Penyembuhan dapat dilihat pada uji dengan media VJA (*Vogel Johnson Agar*) yang terlihat tidak adanya bakteri *Staphylococcus aureus* yang tumbuh dan disertai hilangnya nanah pada punggung kelinci. Lama waktu penyembuhan dianalisis menggunakan SPSS dengan metode *Kolmogorov-Smirnov* menunjukkan hasil sig $0,452 > 0,05$ dan *Levene statistic* menunjukkan sig $0,237 > 0,05$ yang berarti terditribusi normal dan homogen. Lima formula yang dibuat dalam bentuk

sediaan gel menunjukan adanya perbedaan yang signifikan. Data statistic dapat dilihat pada lampiran 19.

Kemampuan penyembuhan formula ke 5 dengan konsentrasi ekstrak 6% dengan formula ke 2 sebagai kontrol positif berisi gentamisin tidak jauh berbeda. Gentamisin adalah antibiotik golongan aminoglikosida yang mekanismenya menghambat sintesis protein yang menyebabkan kesalahan translokasi kode genetik gentamisin. Gentamisin bersifat bakterisida yang efektif terhadap Gram positif dan Gram negatif. Gentamisin juga dapat sebagai lini pertama untuk pengobatan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 biasanya untuk pengobatan infeksi pada kulit. Kontrol negatif pada formula 1 juga dapat menunjukan penyembuhan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* namun dengan waktu yang lebih lama. Basis gel juga dapat berfungsi untuk memberikan bantuan dalam pemakaian ekstrak sehingga lebih efektif dan mudah dalam penggunaanya. Hasil pengamatan pada penyembuhan kelinci menggunakan basis gel sudah dapat menyembuhkan dari infeksi bakteri yang ditandai dengan hilangnya nanah. Kesembuhan pada kelinci juga dibantu dengan kondisi kelinci yang sehat dan memiliki daya imun yang baik sehingga dapat menyebuhkan dirinya sendiri.