

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

1. Hasil determinasi dan identifikasi tanaman pisang ambon

Determinasi tanaman dalam penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Sebelas Maret Surakarta. Determinasi tanaman bertujuan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang digunakan, menghindari kesalahan dalam pengambilan bahan yang digunakan dalam penelitian serta mencocokkan ciri morfologi yang terdapat pada tanaman yang diteliti dengan pustaka. Berdasarkan hasil determinasi dapat dipastikan bahwa tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah tanaman pisang ambon (*Musa acuminata* Colla). Hasil determinasi tanaman dapat dilihat pada kunci determinasi dibawah ini :

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24a____205.Musaceae

I_____1. Musa

1b-5b-8b-4b-12b-13b_____*Musa acuminata* Colla (AAA Group) ‘pisang ambon’

2. Hasil pengambilan dan pengeringan batang pisang ambon

Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini yaitu batang pisang ambon yang diperoleh dari Desa Gandu, Kecamatan Mlarak, Kabupaten Ponorogo Provinsi Jawa Timur pada bulan Februari 2019. Batang pisang yang digunakan dalam penelitian ini yakni berwarna putih kekuningan, segar, dan bebas penyakit. Batang pisang ambon yang diperoleh sebanyak 6 kg. Pengeringan batang pisang berlangsung selama 7 hari. Pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air pada batang pisang ambon sehingga dapat mencegah pembusukan yang dilakukan oleh mikroorganisme. Proses selanjutnya yaitu sortir kering yang berguna untuk menghilangkan kotoran dari pengaruh angin (udara) dan bagian yang tidak diperlukan.

3. Hasil pembuatan serbuk batang pisang ambon

Batang pisang ambon yang telah kering diserbuk menggunakan alat penyerbuk (penggiling). Pembuatan serbuk bertujuan untuk memperluas permukaan agar kontak antara cairan penyari dan serbuk, sehingga difusi zat aktif semakin besar. Berat serbuk batang pisang ambon yang didapat yaitu sebanyak

1250 gram. Presentase rendemen serbuk batang pisang ambon yang diperoleh sebesar 22,72%. Hasil presentase rendemen serbuk batang pisang ambon terhadap bobot basah dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil presentase rendemen bobot kering terhadap bobot basah

Bobot Basah (g)	Bobot kering (g)	Rendemen (%)
5500	1250	22,72%

Presentase rendemen serbuk batang pisang ambon terhadap bobot basah adalah 22,72%. Rendemen batang pisang ambon termasuk tinggi karena batang pisang ambon mengandung air yang cukup banyak sehingga setelah proses pengeringan, penyusutan bobotnya juga lebih besar. Hasil perhitungan rendemen dapat dilihat pada lampiran 4.

4. Hasil identifikasi serbuk batang pisang ambon

Identifikasi serbuk batang pisang ambon meliputi pemeriksaan organoleptis serbuk dan penetapan susut pengeringan.

4.1. Hasil pemeriksaan organoleptis serbuk. Hasil yang diperoleh dari pemeriksaan organoleptis serbuk batang pisang ambon dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil pemeriksaan organoleptis serbuk batang pisang ambon

Pemeriksaan Organoleptis	Hasil
Warna	Coklat muda
Bau	Khas batang pisang ambon
Rasa	Getir dan khas batang pisang ambon

4.2. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk. Penetapan susut pengeringan serbuk digunakan untuk mengetahui kandungan senyawa yang mudah menguap. Nilai susut pengeringan yang besar berarti banyak senyawa volatil yang terkandung dalam serbuk. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk batang pisang ambon dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk batang pisang ambon

No	Berat serbuk (gram)	Susut Pengeringan (%)
1	2	8,9
2	2	8,4
3	2	7,9
Rata-rata±SD		8,4±0,5

Presentase rata-rata susut pengeringan serbuk batang pisang ambon yaitu 8,4% dan memenuhi syarat dimana tidak lebih dari 10%. Susut pengeringan

kurang dari 10% berarti enzim tidak aktif, bakteri dan jamur tidak bisa tumbuh sehingga serbuk bisa awet (Katno *et al.*2008).

5. Hasil pembuatan ekstrak etanol batang pisang ambon

Hasil ekstrak etanol 96% batang pisang ambon menghasilkan nilai rendemen yang dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil rendemen ekstrak terhadap serbuk batang pisang ambon

Berat serbuk (g)	Berat ekstrak (g)	Rendemen (% b/b)
1000	18,9621	1,89%

Batang pisang ambon dengan berat serbuk 1000 gram diremaserasi dengan pelarut 96% diperoleh berat ekstrak kental sebanyak 18,9621 gram. Hasil rendemen ekstrak batang pisang ambon adalah 1,89%. Hasil perhitungan rendemen ekstrak batang pisang ambon dapat dilihat pada lampiran 3.

6. Hasil penetapan susut pengeringan ekstrak batang pisang ambon

Hasil penetapan susut pengeringan ekstrak dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil penetapan susut pengeringan ekstrak batang pisang ambon

No	Berat ekstrak (gram)	Susut Pengeringan (%)
1	2	3,0
2	2	3,0
3	2	3,2
Rata-rata±SD		3,066± 0,115

Presentase rata-rata susut pengeringan ekstrak batang pisang ambon yaitu 3,06%. Hasil susut pengeringan ekstrak batang pisang ambon yakni kurang dari 10% sehingga hasil telah memenuhi syarat (Depkes RI 1995).

7. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak batang pisang ambon

Identifikasi kandungan ekstrak dilakukan untuk mengetahui senyawa kimia yang terkandung dalam batang pisang ambon dan berkhasiat sebagai antibakteri dalam penyembuhan luka akibat infeksi bakteri *S.aureus* pada kulit punggung kelinci. Identifikasi senyawa pada ekstrak batang pisang ambon yaitu meliputi senyawa flavonoid, tanin dan saponin. Hasil identifikasi kandungan senyawa ekstrak batang pisang ambon dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Hasil identifikasi kandungan senyawa ekstrak batang pisang ambon

Kandungan senyawa kimia	Hasil ekstrak	Pustaka (Depkes 1995)	Interpretasi data ekstrak
Flavonoid	Terbentuk warna jingga pada lapisan ambil alkohol	Terbentuk warna merah, kuning atau jingga pada lapisan ambil alkohol	+
Tanin	Terbentuk warna hijau kehitaman	Terbentuk warna hijau kehitaman	+
Saponin	Terbentuk buih yang menetap setelah ditetesi HCL 2 N (buih tidak hilang)	Terbentuk buih yang stabil walaupun ditambahkan HCL 2 N (buih tidak hilang)	+

Tabel 7 menunjukkan hasil identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak batang pisang ambon dengan menggunakan tabung reaksi yang dapat dilihat pada lampiran 7. Hasil penelitian ekstrak batang pisang ambon terbukti positif mengandung senyawa flavonoid, tanin dan saponin yang berperan sebagai antibakteri. Menurut Salau *et al* (2010) menyatakan bahwa batang pisang ambon mengandung flavonoid, tanin dan saponin.

8. Hasil uji bebas etanol pada ekstrak batang pisang ambon

Uji bebas etanol ekstrak batang pisang ambon dilakukan dengan uji esterifikasi. Ekstrak yang sudah bebas etanol ditandai dengan tidak adanya bau ester yang khas dari etanol. Hasil uji bebas etanol dapat dilihat pada tabel 8 dan lampiran 8.

Tabel 8. Hasil uji bebas etanol pada ekstrak batang pisang ambon

Ekstrak	Tes bebas etanol	Hasil uji	Pustaka
Ekstrak etanol batang pisang ambon	Ekstrak+ CH_3COOH + H_2SO_4 kemudian dipanaskan	Tidak tercium bau ester	Tidak tercium ester yang khas (Depkes 1995)

9. Hasil pembuatan salep ekstrak batang pisang ambon

Pembuatan salep dibagi menjadi 4 formula dengan variasi basis dan konsentrasi zat aktif ekstrak yang berbeda. Satu formula sebagai kontrol negatif dengan tidak ada penambahan zat aktif ekstrak sedangkan empat formula dengan

penambahan zat aktif ekstrak 15%, 30%, dan 45%. Setiap formula salep dilakukan replikasi uji mutu fisik sebanyak 3 kali.

10. Hasil pengujian mutu fisik sediaan salep ekstrak batang pisang ambon

Uji mutu fisik sediaan salep yang dilakukan dalam pengujian meliputi uji organoleptis, uji pH, uji viskositas, uji daya sebar, uji daya lekat, dan uji daya proteksi.

10.1. Hasil uji organoleptis. Hasil yang diperoleh terhadap pemeriksaan organoleptis salep dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 9. Hasil uji organoleptis salep batang pisang ambon

Pemeriksaan	Waktu	Formula I	Formula II	Formula III	Formula IV
Warna	Hari 1	Coklat	Coklat tua	Coklat pekat	Kuning
	Hari 21	Coklat	Coklat tua	Coklat pekat	Kuning
Bau	Hari 1	**	***	***	*
	Hari 21	**	***	***	*
Konsistensi	Hari 1	+++	++	+	++++
	Hari 21	+++	++	+	++++

Keterangan

Formula I	: Salep ekstrak batang pisang konsentrasi 15%
Formula II	: Salep ekstrak batang pisang konsentrasi 30%
Formula III	: Salep ekstrak batang pisang konsentrasi 45%
Formula IV	: Basis salep (kontrol negatif)
***	: menunjukkan bau salep ekstrak batang pisang yang lebih intensif
**	: menunjukkan bau salep ekstrak batang pisang yang kurang intensif
*	: Menunjukkan bau khas dari basis
+	: menunjukkan konsistensi salep ekstrak batang pisang yang sedikit kental
++	: menunjukkan konsistensi salep ekstrak batang pisang yang agak kental
+++	: menunjukkan konsistensi salep ekstrak batang pisang yang kental
++++	: menunjukkan konsistensi salep ekstrak batang pisang yang sangat kental

Hasil pengujian organoleptis sediaan salep berdasarkan hasil pengamatan terhadap formula 1 sampai 4 pada hari ke 1 sampai hari ke 21 menunjukkan bahwa warna, bau, dan konsistensi bentuk sediaan salep tidak mengalami perubahan. Formula 4 berwarna kuning karena didalamnya terdapat basis adeps lanae yang berwarna kuning tua dan vaselin album yang berwarna putih, sehingga ketika dicampur warna kuning masih mendominasi dalam campuran kedua basis tersebut. Formula 3 berwarna coklat pekat dibanding dengan formula 2 dan 1 karena jumlah ekstrak batang pisang ambon yang ditambahkan semakin banyak. Pengujian organoleptis bau pada formula 1, 2, 3 secara berturut-turut yakni menunjukkan bau khas ekstrak yang semakin intensif hal ini karena ekstrak yang

ditambahkan juga semakin banyak. Pengujian organoleptis konsistensi salep pada formula 4 menunjukkan hasil yang sangat kental karena hanya berisi basis salep adeps lanae dan vaselin album. Konsistensi salep formula 1, 2 dan 3 jika dibandingkan dengan formula 4 yakni lebih encer karena adanya pengaruh dengan pemberian ekstrak.

10.2. Hasil uji homogenitas. Uji homogenitas salep bertujuan untuk mengetahui apakah ekstrak batang pisang ambon yang terkandung dalam sediaan salep sudah homogen atau belum. Uji homogenitas penting dilakukan karena sangat berpengaruh terhadap efektivitas terapi dari sediaan salep. Sediaan yang homogen akan memiliki kadar zat aktif yang sama pada setiap kali pengambilan dan pemakaian. Sediaan salep yang homogen dapat diketahui dari warna yang seragam, tekstur halus dan tidak ada gumpalan saat sediaan diratakan pada *object glass*. Data hasil uji homogenitas dapat dilihat pada tabel 10 dan gambar hasil uji homogenitas dapat dilihat pada lampiran 9.

Tabel 10. Hasil uji homogenitas salep batang pisang ambon

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

Keterangan

Formula I : Salep ekstrak etanol batang pisang ambon 15%
 Formula II : Salep ekstrak etanol batang pisang ambon 30%
 Formula III : Salep ekstrak etanol batang pisang ambon 45%
 Formula IV : Basis gel (kontrol negatif)

Hasil pengujian homogenitas salep ekstrak etanol batang pisang ambon dari 4 formula menunjukkan hasil yang homogen. Formula I hingga formula III memiliki warna yang merata pada basis gel, formula IV sebagai kontrol negatif menunjukkan basis salep yang homogen dan tidak ada gumpalan atau tidak tercampurkan. Homogenitas salep dapat tercapai jika pencampuran bahan dilakukan dengan tepat.

10.3. Hasil uji pH. Uji pH terhadap sediaan dilakukan untuk mengetahui apakah salep bersifat asam, basa atau netral. Selain itu, uji pH penting dilakukan untuk mengetahui keamanan sediaan terhadap kulit sehingga dapat terhindar dari

iritasi. Sediaan salep yang terlalu asam dapat menimbulkan iritasi sedangkan pH yang terlalu basa dapat menimbulkan kulit menjadi kering dan bersisik. Hasil pengujian pH sediaan salep menggunakan alat pH meter dapat dilihat pada tabel 11. Gambar hasil uji homogenitas dapat dilihat pada lampiran 9.

Tabel 11. Hasil uji pH salep batang pisang ambon

Waktu Pemeriksaan	Formula I	Formula II	Formula III	Formula IV
Hari ke-1	5,44±0,011	5,52±0,02	5,56±0,005	5,41±0,011
Hari ke-21	5,43±0,05	5,50±0,011	5,54±0,017	5,44±0,011

Keterangan

Formula I : Salep ekstrak etanol batang pisang ambon konsentrasi 15%
 Formula II : Salep ekstrak etanol batang pisang ambon konsentrasi 30%
 Formula III : Salep ekstrak etanol batang pisang ambon konsentrasi 45%
 Formula IV : Basis salep (kontrol negatif)

Hasil pengujian pH dari 4 formula sediaan salep ekstrak etanol batang pisang ambon pada tabel 10 dapat diketahui bahwa pH sediaan masih dalam rentang pH kulit normal yaitu 4,5-6,5. Namun, dalam penyimpanan dalam kurun waktu 21 hari terjadi penurunan pH yang kemungkinan disebabkan karena pengaruh udara lingkungan yang bersifat asam yang masuk dalam sediaan salep (Vasadevan *et al* 2011). Penurunan pH salep pada setiap formula tidak signifikan dan dapat dikatakan sediaan relatif stabil, hal ini dibuktikan dengan uji SPSS pada tes Kolmogrof-Smirnov menyatakan signifikasinya (sig) 0,281 > 0,05 maka data terdistribusi normal.

10.4. Hasil uji viskositas. Uji viskositas sediaan dilakukan untuk mengetahui kekentalan sediaan karena berpengaruh terhadap efektivitas terapi yang diinginkan serta kenyamanan dalam penggunaan. Viskositas sediaan yang rendah akan menyebabkan daya sebar menjadi besar namun daya lekat semakin kecil pada kulit sehingga efektivitas pengantaran zat aktif semakin kecil. Hasil uji viskositas sediaan salep ekstrak etanol batang pisang ambon dapat dilihat pada tabel 12. Gambar uji viskositas dapat dilihat pada gambar 11.

Tabel 12. Hasil uji viskosita salep batang pisang ambon

Waktu Pemeriksaan	Formula I	Formula II	Formula III	Formula IV
Hari ke-1	116,66±2,88	106,66±5,77	96,66±2,88	118,66±2,88
Hari ke-21	111,66±2,88	101,66±7,63	95±5	116,66±2,88
Keterangan				
Formula I	: Salep ekstrak etanol batang pisang ambon konsentrasi 15%			
Formula II	: Salep ekstrak etanol batang pisang ambon konsentrasi 30%			
Formula III	: Salep ekstrak etanol batang pisang ambon konsentrasi 45%			
Formula IV	: Basis salep (kontrol negatif)			

Data diatas menunjukkan bahwa formula IV memiliki viskositas yang lebih besar dibandingkan dari ketiga formula lainnya. Formula I mempunyai nilai viskositas lebih besar dibandingkan formula 2 dan 3. Formula 1 memiliki nilai viskositas mendekati formula 4, hal ini terbukti pada uji SPSS *two way* ANOVA bahwa formula 1 dan 4 tidak terdapat perbedaan yang signifikan.

Hasil pengamatan visksositas sediaan salep selama 21 hari, keempat formula menunjukkan hasil yang cenderung menurun. Sediaan salep walaupun mengalami penurunan setelah penyimpanan namun data yang diperoleh menunjukkan terdistribusi normal, hal ini dibuktikan dengan SPSS tes Kolmogrof-Smirnov dengan nilai (sig) $0,266 > 0,05$. Penurunan nilai viskositas terjadi seiring dengan lama waktu penyimpanan. Waktu penyimpanan yang lama dapat mempengaruhi perubahan struktur polimer basis salep menjadi renggang sehingga nilai viskositas mudah menurun bila ada perubahan suhu (Mardhiani *et al* 2017). Hasil viskositas tidak memiliki batas rentang yang baik, tergantung kenyamanan saat digunakan. Hasil data statistik dapat dilihat pada lampiran 1

10.5. Hasil uji daya sebar. Uji daya sebar sediaan salep dilakukan untuk mengetahui kemampuan salep untuk menyebar saat pengaplikasian di kulit. Sediaan salep yang baik dapat menyebar dengan mudah tanpa perlu adanya penekanan. Sediaan salep yang mudah menyebar berarti distribusi zat aktif juga akan lebih cepat merata. Pengujian daya sebar ditunjukkan dengan luas penyebaran salep saat pemberian beban 50 gram, 100 gram dan 150 gram. Hasil pengujian daya sebar sediaan salep dapat dilihat pada tabel 13.

Tabel 13. Hasil uji daya sebar sediaan salep batang pisang ambon

Waktu	Beban	Formula 1	Formula II	Formula III	Formula IV
Hari ke 1	49,3012	3,33±0,014	3,41±0,014	3,53±0,028	3±0,025
	99,3012	3,63±0,014	3,70±0,072	3,9±0,216	3,29±0,076
	149,3012	3,875±0	4,03 ±0,160	4,24±0,125	3,53±0,087
	199,3012	4,16±0,014	4,3±0,075	4,44±0,094	3,8±0,066
Hari ke 21	49,3012	3,35±0,043	3,51±0,028	3,63±0,014	3,05±0,062
	99,3012	3,71±0,052	3,78±0,014	3,94±0,094	3,4±0,139
	149,3012	3,95±0,086	4,05±0,087	4,35±0,108	3,61±0,125
	199,3012	4,28±0,038	4,35±0,028	4,5±0,114	3,825±0,1

Keterangan

Formula I : Salep ekstrak etanol batang pisang ambon konsentrasi 15%
 Formula II : Salep ekstrak etanol batang pisang ambon konsentrasi 30%
 Formula III : Salep ekstrak etanol batang pisang ambon konsentrasi 45%
 Formula IV : Basis salep (kontrol negatif)

Hasil pengujian daya sebar sediaan salep menunjukkan bahwa formula 3 memiliki daya sebar yang tinggi dibandingkan formula 1,2 dan 4. Namun, setelah dilakukan uji two-way ANOVA formula 2 tidak ada perbedaan yang signifikan dengan formula 3 dan formula 1 tidak ada perbedaan yang signifikan dengan formula 2.

Semua formula memiliki kenaikan daya sebar selama waktu 21 hari, hal ini berhubungan dengan penurunan viskositas dari salep. Semakin kecil viskositas semakin besar daya sebar. Hal ini dipengaruhi oleh ekstrak yang bersifat basa menambah sifat ionisasi basis sehingga partikel membengkak dan merubah struktur basis salep mengakibatkan konsistensi salep menjadi lebih encer. Walaupun semua formula mengalami kenaikan daya sebar dalam kurun waktu 21 hari, setelah dianalisis SPSS menggunakan uji Kolmogorof-Smirnov data terdistribusi normal dengan nilai signifikansi (sig) 0,591>0,05. Data statistik dapat dilihat pada lampiran.

10.5. Hasil uji daya lekat. Uji daya lekat bertujuan untuk mengetahui kemampuan sediaan salep untuk melekat pada permukaan kulit saat pengaplikasian. Hasil pengukuran daya lekat salep dapat dilihat pada tabel 14.

Tabel 14. Hasil uji daya sebar sediaan salep batang pisang ambon

Waktu Pemeriksaan	Formula I	Formula II	Formula III	Formula IV
Hari ke 1	1,75±0,145	1,25±0,217	0,46±0,165	1,886±0,077
Hari ke 21	1,143±0,058	1,036±0,060	0,396±0,110	1,553±0,137

Keterangan

Formula I : Salep ekstrak etanol batang pisang ambon konsentrasi 15%

Formula II : Salep ekstrak etanol batang pisang ambon konsentrasi 30%
 Formula III : Salep ekstrak etanol batang pisang ambon konsentrasi 45%
 Formula IV : Basis salep (kontrol negatif)

Hasil pengujian daya lekat sediaan salep menunjukkan bahwa semua formula dapat melekat saat pengaplikasian. Semua formula mengalami penurunan daya lekat selama kurun waktu 21 hari, hal ini dipengaruhi oleh penurunan viskositas dan kenaikan daya sebar sediaan. Semakin lama daya lekat suatu sediaan semakin baik karena zat aktif lebih lama berada dalam permukaan kulit sehingga proses penghantaran obat semakin baik. Selain itu, data yang diperoleh juga terdistribusi normal hal ini dibuktikan menggunakan SPSS pada tes Kolmogorof Smirnov menyatakan data terdistribusi normal dengan signifikasi (sig) $0,947 > 0,05$. Semua formula memiliki kemampuan daya lekat yang berbeda-beda, hal ini dipengaruhi dengan konsentrasi zat aktif dan basis, hal ini terbukti dengan analisis SPSS menunjukkan bahwa keempat formula terdapat perbedaan yang signifikan. Hasil uji statistik dapat dilihat pada lampiran

10.6. Hasil uji kemampuan proteksi. Uji daya proteksi bertujuan untuk mengetahui daya kemampuan proteksi atau perlindungan sediaan salep batang pisang ambon terhadap pengaruh asing dari luar yang dapat mempengaruhi efektivitas sediaan. Hasil pengujian daya proteksi sediaan salep dapat dilihat pada tabel 15.

Tabel 15. Hasil uji kemampuan proteksi sediaan salep batang pisang ambon

Waktu Pemeriksaan	Formula I	Formula II	Formula III	Formula IV
Hari ke 1	10	14	20	5
Hari ke 21	8	9	16	3

Hasil pengujian menunjukkan bahwa semua formula memiliki daya kemampuan proteksi terhadap benda asing dari luar walaupun kurang maksimal. Sediaan salep yang baik seharusnya mampu memberikan proteksi terhadap pengaruh luar yang ditandai dengan tidak munculnya noda ungu pada kertas saring yang telah ditetesi KOH 0,1 N yang bersifat basa kuat. Formula 3 memiliki kemampuan proteksi lebih tinggi dibandingkan dengan formula 1,2 dan 4. Formula 4 mempunyai daya proteksi paling rendah, hal ini dikarenakan formula 4

mengandung basis saja, basis adeps lanae bersifat absorpsi yang mudah menyerap air dari larutan KOH sehingga efek perlingkungannya rendah.

11. Hasil pembuatan suspensi bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Biakan bakteri murni *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 diambil 1 sampai 2 ose kemudian dimasukkan secara aseptis kedalam tabung reaksi yang berisi media BHI (*Brain Heart Infusion*) steril dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Suspensi bakteri dilihat kekeruhannya dan disesuaikan dengan kekeruhan pada standar Mc Farland 0,5 yang setara dengan jumlah $1,5 \times 10^8$ cfu/mL. Hasil pembuatan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat dilihat pada lampiran 10.

12. Hasil identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

12.1. Hasil identifikasi bakteri dengan media gores. Identifikasi dilakukan dengan cara menginokulasikan suspensi bakteri kedalam media VJA (*Vogel Johnson Agar*) pada cawan petri yang sebelumnya ditambahkan kalium tellurit 1% sebanyak 3 tetes kemudian diinkubasi pada suhu 37 C selama 24 jam. Hasil pengujian menunjukkan adanya koloni berwarna hitam dan disekitar media berwarna kuning, hal ini dikarenakan bakteri *Staphylococcus aureus* dapat memfermentasikan manitol menjadi suasana asam dan mereduksi asam telurit sehingga membentuk warna hitam dan *Phenol red* terbentuk maka medium disekitar koloni menjadi berwarna kuning. Hasil pengujian dapat dilihat pada lampiran 10

12.2. Hasil identifikasi Pewarnaan Gram. Tujuan pewarnaan Gram adalah melihat biakan suspensi bakteri yang digunakan termasuk kedalam bakteri Gram positif atau Gram negatif. Biakan bakteri digoreskan pada object glass kemudian dilakukan fiksasi diatas api. Proses fiksasi tidak boleh terlalu lama karena dapat merusak bakteri. Pewarnaan Gram terdiri dari 4 proses pengecatan yaitu Gram A (kristal violet) sebagai cat utama kemudian Gram B sebagai penegas warna, Gram C sebagai peluntur dan Gram D sebagai cat penutup.

Struktur dinding sel bakteri Gram positif dan negatif dapat diketahui perbedaan warnanya pada akhir pewarnaan. Gram positif memiliki lapisan

peptidoglikan yang tebal dan lipopolisakarida yang tipis, sedangkan Gram negatif memiliki lapisan lipopolisakarida yang lebih tebal daripada peptidoglikan.

Secara morfologi bakteri gram positif seperti *Staphylococcus aureus* dapat mempertahankan warna violet dari pewarnaan Gram A karena pada dinding sel bakteri gram positif memiliki lapisan peptidoglikan yang lebih tebal. Lapisan peptidoglikan yang tebal akan mampu menahan kristal violet dan tahan terhadap Gram C (etanol). Dinding sel bakteri gram positif akan terdehidrasi dengan perlakuan etanol menyebabkan pori-pori mengkerut, daya rembes dinding menurun dan pewarna Gram D (safranin) tidak bisa masuk sehingga dalam pengamatan mikroskop dapat terlihat warna ungu bentuk bulat kadang bergerombol (Gerhardt *et al* 1994). Hasil identifikasi secara mikroskopis dapat dilihat pada lampiran 10.

12.3. Hasil identifikasi biokimia. Identifikasi biokimia bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan uji katalase dan koagulase.

12.3.1. Hasil uji katalase. Uji katalase bertujuan untuk mengetahui aktivitas katalase dari suspensi bakteri uji. Aktivitas katalase dapat ditunjukkan dengan adanya gelembung oksigen. Uji katalase digunakan untuk membedakan antara bakteri *Streptococcus* dan *Staphlococcus*. Bakteri jenis *Streptococcus* tidak bisa memberikan reaksi katalase, sedangkan *Staphlococcus* memberikan reaksi yang positif.

Hasil pengujian uji katalase biakan suspensi bakteri dalam media BHI menunjukkan reaksi katalase setelah penambahan H_2O_2 3% sebanyak 3 tetes. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya gelembung udara yang konstan dan tidak cepat hilang, hal ini disebabkan bahwa biakan suspensi bakteri uji adalah jenis *Staphylococcus*, dimana *Staphylococcus* mempunyai enzim katalase yang dapat mengurai H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 (Syahrurchman *et al* 1994). Hasil uji katalase dapat dilihat pada lampiran 10.

12.3.2. Hasil uji koagulase. Uji koagulase bertujuan untuk mengetahui perbedaan antara bakteri jenis *Staphylococcus epidermidis* dan *Staphylococcus aureus*. Bakteri *Staphylococcus epidermidis* tidak mampu

menunjukkan reaksi koagulasi. Reaksi koagulasi ditandai dengan terbentuknya gumpalan putih.

Uji koagulase menggunakan plasma darah kelinci atau manusia yang ditambahkan dengan biakan suspensi bakteri uji, di inkubasi pada suhu 37°C selama 4-6 jam. Hasil uji koagulase dinyatakan positif dibuktikan dengan adanya gumpalan putih yang tidak lepas pada dinding tabung, hal ini dikarenakan *Staphylococcus aureus* mempunyai enzim koagulase yang dapat menggumpalkan plasma karena perubahan reaksi fibrinogen menjadi fibrin (Jawetz *et al* 2012). Hasil gambar uji koagulase dapat dilihat pada lampiran 10.

13. Hasil penyiapan hewan uji

Hewan uji kelinci yang digunakan dalam penelitian yakni sebanyak 3 ekor, berkelamin jantan dengan umur kurang lebih 2-3 bulan. Kelinci telah dilakukan aklimatisasi selama 5 hari dengan lingkungan barunya yakni tempat uji yang digunakan sampai akhir penelitian. Aklimatisasi bertujuan agar kelinci bisa beradaptasi pada lingkungan barunya, karena kelinci merupakan hewan uji yang mudah terserang stress.

14. Hasil pengujian aktivitas antibakteri invivo

Pengujian aktivitas antibakteri secara invivo digunakan sebagai uji lanjutan dari pengujian invitro. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan pada kulit punggung kelinci yang telah dicukur bulunya kemudian diinjeksi subkutan dengan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus*. Tujuan dilakukan injeksi subkutan adalah agar luka infeksi yang terjadi hanya di lapisan dermis. Punggung kelinci terinfeksi ditandai dengan kulit memerah, panas, membengkak dan munculnya nanah. Infeksi timbul 24 jam setelah penyuntikan. Kulit kelinci yang telah terinfeksi siap dilakukan pengolesan dengan salep ekstrak batang pisang ambon konsentrasi 15%, 30%, 45%, kontrol negatif dan kontrol positif.

15. Hasil pengamatan kesembuhan

Hasil pengujian menunjukkan bahwa ketiga formula sediaan salep ekstrak pisang ambon dapat menyembuhkan infeksi bakteri *Staphylococcus aureus*. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin tinggi aktivitas antibakteri dalam membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* sehingga waktu penyembuhan juga

semakin cepat. Waktu penyembuhan infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara *invivo* dapat dilihat pada tabel 16.

Tabel 16. Waktu penyembuhan infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* secara *invivo*

Kelinci	Formula I	Formula II	Formula III	Formula IV	Formula V
1	15	12	7	20	7
2	15	13	7	20	7
3	16	14	8	20	7
Rata-rata	15,3	13	7,3	20	7

Keterangan

Formula I : Salep ekstrak etanol batang pisang ambon konsentrasi 15%

Formula II : Salep ekstrak etanol batang pisang ambon konsentrasi 30%

Formula III : Salep ekstrak etanol batang pisang ambon konsentrasi 45%

Formula IV : Basis salep (kontrol negatif)

Formula V : Salep gentamisin (kontrol positif)

Tabel 14 menunjukkan proses penyembuhan kelinci yang terinfeksi bakteri *Staphylococcus aureus*, formula 1 (konsentrasi 15%) membutuhkan waktu 15 hari. Formula 2 (konsentrasi 30%) membutuhkan waktu 13 hari dalam penyembuhan infeksi. Konsentrasi ekstrak yang semakin tinggi maka proses penyembuhan juga semakin cepat. Formula 3 (salep ekstrak batang pisang ambon konsentrasi 45%) memiliki aktivitas antibakteri terbaik dibandingkan dengan formula 1 dan 2, dengan membutuhkan waktu 7,3 hari dalam penyembuhan infeksi *Staphylococcus aureus*. Hal ini terbukti pada analisis SPSS *one-way* ANOVA dengan uji Tukey bahwa Formula 3 tidak memiliki perbedaan yang signifikan dengan formula 5 sebagai kontrol positif dengan nilai sig 0,995. Formula 4 sebagai kontrol negatif yang hanya mengandung komponen basis salep saja. Formula 4 dapat menyembuhkan infeksi *Staphylococcus aureus* dengan waktu 20 hari, hal ini disebabkan adanya kandungan nipasol sebagai pengawet. Formula 5 sebagai kontrol positif yang berisi antibiotik gentamisin 0,1% mampu memberikan efek penyembuhan yang cepat hanya dengan waktu 7 hari. Hasil yang diperoleh dari analisis data waktu penyembuhan infeksi menunjukkan nilai sig 0,566 > 0,05 sehingga dapat disimpulkan bahwa data terdistribusi normal. Hasil uji aktivitas antibakteri salep ekstrak batang pisang ambon secara *invivo* dapat dilihat pada tabel 17.

Tabel 17. Hasil uji aktivitas antibakteri salep ekstrak batang pisang ambon secara *invivo*

Formula	Kelinci	Pengamatan Kesembuhan setelah pemberian salep										
		1	3	5	7	9	11	13	15	17	19	21
F1	1	N	K	K	K	K	K	K	S	S	S	S
	2	N	K	K	K	K	K	K	S	S	S	S
	3	N	K	K	K	K	K	K	K	S	S	S
F11	1	N	K	K	K	K	K	S	S	S	S	S
	2	N	K	K	K	K	K	S	S	S	S	S
	3	N	K	K	K	K	K	K	S	S	S	S
FIII	1	N	K	K	S	S	S	S	S	S	S	S
	2	N	K	K	S	S	S	S	S	S	S	S
	3	N	K	K	K	S	S	S	S	S	S	S
FIV	1	N	N	K	K	K	K	K	K	K	K	S
	2	N	N	K	K	K	K	K	K	K	K	S
	3	N	N	K	K	K	K	K	K	K	K	S
FV	1	N	K	K	S	S	S	S	S	S	S	S
	2	N	K	K	S	S	S	S	S	S	S	S
	3	N	K	K	S	S	S	S	S	S	S	S

Keterangan

Formula I : Salep ekstrak etanol batang pisang ambon konsentrasi 15%

Formula II : Salep ekstrak etanol batang pisang ambon konsentrasi 30%

Formula III : Salep ekstrak etanol batang pisang ambon konsentrasi 45%

Formula IV : Basis salep (kontrol negatif)

Formula V : Salep gentamisin (kontrol positif)

N : Nanah

K : Kering

S : Sembuh

Ekstrak batang pisang ambon mengandung senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalam batang pisang ambon, yaitu alkaloid, tanin dan saponin. Pertama, flavonoid merupakan senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri yang bekerja dengan cara merusak dinding sel bakteri kemudian masuk kedalam inti sel bakteri dan merusak struktur lipid DNA sehingga inti sel akan mengalami lisis. Selain itu, flavonoid juga dapat merusak nukleotida, menghambat sintesis asam nukleat, sintesis protein, menghambat jalur metabolik dan mencegah mikroba memanfaatkan nutrisi (Kotagiri *et al* 2017).

Kedua, tanin merupakan senyawa antibakteri yang bekerja dengan cara menginaktivasi adhesi mikroba, enzim dan transport protein sel (Godstime *et al* 2014). Tanin memiliki sifat astrigen yang menyebabkan pori-pori kulit menyusut, mengeraskan kulit dan mempercepat epitalisasi (Amin *et al* 2018). Tanin memiliki sifat antiseptik dan bakteriostatik yang digunakan untuk melawan infeksi pada kulit mukosa dan infeksi pada luka (Rahmawati 2008). Ketiga, saponin merupakan senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri dengan cara mengganggu membran transpeptida sel, menghambat sistem penghambat *multidrug-resistence* (MDR) pada bakteri, misalnya *5-methoxyhydnocarpin* yang menghambat pompa penghancur NorA pada *Staphylococcus aureus* (Tarh *et al* 2014). Selain itu, saponin dapat menyebabkan kebocoran pada protein dan enzim dari sel (Setyorini *et al* 2017).

Formula 3 dengan konsentrasi ekstrak batang pisang ambon 45% memiliki kemampuan penyembuhan infeksi mendekati kemampuan formula 5 yaitu kontrol positif yang berisi gentamisin 0,1%. Gentamisin merupakan antibiotik golongan aminoglikosida yang bekerja menghambat sintesis protein dengan cara menembus dinding bakteri kemudian mengikat diri pada ribosom dan menghambat biosintesis protein (Pangalila 2012). Formula 4 merupakan kontrol negatif yang mengandung basis salep dan nipasol. Basis salep digunakan untuk pembawa ekstrak yang berguna untuk memudahkan penggunaan saat pengaplikasian serta menunjang efektivitas terapi terhadap kulit yang terinfeksi bakteri *Staphylococcus aureus*. Nipasol digunakan sebagai pengawet sediaan sehingga dapat mencegah salep dari pertumbuhan mikroba. Selain itu, nipasol juga dapat membantu penyembuhan infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* pada kulit punggung kelinci walaupun penyembuhannya tergolong lama dan tidak secepat formula 3 dan formula 2. Parameter hasil penyembuhan infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* pada kulit punggung kelinci ditandai dengan hilangnya eritema, nanah, luka dan tumbuhnya bulu. Kesembuhan kelinci juga dipengaruhi oleh daya tahan tubuh yang baik, kesehatan mental (tidak stress) sehingga dapat mempercepat menyembuhkan infeksi didalam tubuhnya. Data analisis dapat dilihat pada lampiran 14. Gambar hasil pengujian dapat dilihat pada lampiran 12.